



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
INSTITUTO DE QUÍMICA – IQ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS
QUÍMICA E BIOLÓGICA – PPGTQB

FRACIONAMENTO DA BIOMASSA
LIGNOCELULÓSICA PELO PROCESSO
ORGANOSOLV

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PEDRO HENRIQUE FERNANDES SILVA

Orientador: Prof. Fabricio Machado Silva, D.Sc.

Coorientador: Dr. Rossano Gambetta, D.Sc.

Brasília, fevereiro de 2017

FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação de Mestrado do (a) aluno (a) **Pedro Henrique Fernandes Silva**, matrícula nº **15/0102623**, intitulada “***Fracionamento da biomassa lignocelulósica pelo processo organosolv***”, apresentada no (a) Auditório Lauro Morhy do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 21 de fevereiro de 2017.

Prof. Dr. Fabricio Machado Silva
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof.^a Dra. Simone Monteiro e Silva
Membro Titular (IQ/UnB)

Dra. Dasciana de Sousa Rodrigues Gambetta
Membro Titular (EMBRAPA Agroenergia)

Dra. Anna Leticia Montenegro Turtelli Pighinelli
Membro Suplente (EMBRAPA Agroenergia)

Em 21 de fevereiro de 2017.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
INSTITUTO DE QUÍMICA – IQ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS
QUÍMICA E BIOLÓGICA– PPGTQB

Fracionamento da Biomassa Lignocelulósica pelo
Processo Organosolv

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica do Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

PEDRO HENRIQUE FERNANDES SILVA

Orientador: Prof. Fabricio Machado Silva, D.Sc.

Coorientador: Dr. Rossano Gambetta, D.Sc.

Brasília, fevereiro de 2017

DEDICATÓRIA

A família, pelo apoio e amor.

A Deus, pela vida e as oportunidades.

Aos meus orientadores, respeito e gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que conquistei e pela vida.

Aos meus pais Célio André Silva Castro e Islan Maria Fernandes Dias, por sempre estarem presentes na minha vida e nunca me deixarem faltar nada. Vocês são a minha base e só estou aqui por causa de vocês.

A minha irmã Mariana e minha sobrinha Duda pelo amor que sinto por elas e por fazerem da minha vida melhor.

A minha tia Nilza Antunes, meu tio João Mariosi, meu primo Luciano e minha prima Lívia, que me acolheram em Brasília, me fizeram me sentir a vontade esses anos, me mostrando o significado de bondade e amor a cada dia. Este trabalho só foi possível por conta de vocês e serei grato eternamente.

A toda minha família e amigos pelo amor e apoio nas horas mais difíceis.

A minha namorada Luísa Gobbi pelos momentos bons, pelo amor e pelas horas que passou ao meu lado me dando força.

A meu orientador professor Fabricio Machado Silva meu eterno respeito e gratidão, pelos ensinamentos, por sempre tentar me mostrar o caminho mais certo das coisas, por me fazer crescer pessoalmente e profissionalmente, e principalmente pela paciência.

A meu coorientador pesquisador Rossano Gambetta meu eterno respeito e gratidão, pela oportunidade de trabalhar na Embrapa Agroenergia, pelos ensinamentos, pelos conselhos e por sempre estar por perto me apoiando e mostrando o melhor.

A pesquisadora Dasciana Rodrigues que sempre esteve do meu lado contribuindo de forma fundamental para meu crescimento. Obrigado pela paciência, vontade em ajudar e por sempre acreditar no meu trabalho. Sou muito grato por tudo.

A Anna Letícia Montenegro Turtelli Pighinelli pelo apoio, amizade, paciência e pelos ensinamentos no laboratório.

A professora Simone Monteiro e Silva que esteve presente em grande parte do meu mestrado, obrigado pelos ensinamentos.

A toda unidade da Embrapa Agroenergia pelo suporte a pesquisa.

Ao pessoal da planta piloto (Felipe, Diogo, Juarez, Albert e Amanda) pelo apoio, amizade e conselhos.

A todos do LPQ (Valerya, Eliane, Lorena, Larissa e Priscila) pelo apoio e amizade.

Ao CNPq (Projeto nº 406.812/2013-6) pelo apoio a pesquisa.

RESUMO

A biomassa tem ganhado destaque como matéria-prima renovável para obtenção de produtos químicos e energia, frente a uma competitiva indústria baseada em fontes fósseis. No Brasil, a biomassa florestal é largamente cultivada, seja na construção civil e fabricação de móveis, ou na produção de energia e na produção do papel. O eucalipto é a biomassa florestal de maior relevância em termos de cultivo no Brasil (38,1 m³/ha/ano no ano de 2015) e no mundo. Nas últimas décadas, têm-se buscado a desconstrução da biomassa lignocelulósica, como a madeira, em seus polímeros constituintes, a celulose, a hemicelulose e a lignina, de forma que cada uma possa ser processada de forma a gerar produtos de maior valor agregado. Neste contexto temos o processo *organosolv*, que é um pré-tratamento da biomassa lignocelulósica com a mistura de solventes orgânicos e água em elevadas temperaturas. Além de fracionar a biomassa, é possível se obter a partir do processo *organosolv*, componentes com elevado grau de pureza e mais reativos para futuras aplicações. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da temperatura (avaliada entre 180 °C e 220 °C) e relação etanol/água (avaliada entre 30% e 70% v/v) no processo *organosolv* aplicados a amostras de *Eucalyptus grandis*, sendo observado quanto de cada um dos polímeros foi removido da amostra sólida inicial. Os experimentos foram realizados segundo um planejamento experimental fatorial 2² com ponto central, com triplicata em todos os pontos. Como resultado foi obtido que o melhor ponto foi na condição experimental E_(50,200) (relativo a 50% etanol e 200 °C), com 80,36% de lignina extraída e 91,35% de rendimento da celulose.

ABSTRACT

Biomass has gained prominence as a renewable raw material for obtaining chemicals and energy, in front of a competitive industry based on fossil sources. In Brazil, forest biomass is widely cultivated, whether in the construction and manufacturing of furniture, or in energy production and paper production. *Eucalyptus* is the most important forest biomass in terms of cultivation in Brazil (38.1 m³ / ha / year in 2015) and in the world. In the last decades, we have sought to deconstruct lignocellulosic biomass, such as wood, in its constituent polymers, cellulose, hemicellulose and lignin, so that each can be processed in order to generate products with higher benefit. In this context, we have the *organosolv* process, which is a pretreatment of the lignocellulosic biomass with the mixture of organic solvents and water at high temperatures. In addition to fractionating biomass, it is possible to obtain from the *organosolv* process, components with high purity and more reactive for future applications. The objective of this work was to study the effect of temperature (evaluated between 180 °C and 220 °C) and ethanol / water ratio (evaluated between 30% and 70% v/v) in the *organosolv* process applied to samples of *Eucalyptus grandis*, being observed how much of each of the polymers was removed from the initial solid sample. The experiments were performed according to a factorial 2² experimental design with center point, with triplicate at all points. As a result it was obtained that the best point was in the experimental condition E_(50,200) (relative to 50% ethanol and 200 °C), with 80.36% lignin extracted and 91.35% cellulose yield.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVOS | 1 |
| 1.1. Introdução | 2 |
| 1.2. Objetivos..... | 4 |
| 1.2.1. Objetivo geral..... | 4 |
| 1.2.2. Objetivos específicos | 4 |
| CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 5 |
| 2.1. Biomassa..... | 6 |
| 2.2. Biomassa lignocelulósica | 8 |
| 2.3. Processos de extração da lignina..... | 12 |
| 2.3.1. Efeitos dos tratamentos químicos na estrutura da lignina..... | 12 |
| 2.3.2. Processo <i>organosolv</i> | 15 |
| 2.3.3. Variáveis de processos na extração da lignina..... | 18 |
| 2.3.4. Processos de extração combinados..... | 19 |
| CAPÍTULO 3 - MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 3.1. Material..... | 26 |
| 3.2. Métodos | 27 |
| 3.2.1. Preparo da biomassa <i>in natura</i> | 27 |
| 3.2.2. Composição elementar da biomassa <i>in natura</i> | 27 |
| 3.2.3. Extrativos da biomassa <i>in natura</i> | 28 |
| 3.2.4. Cinzas da biomassa <i>in natura</i> | 29 |
| 3.2.5. Processo <i>organosolv</i> | 30 |
| 3.2.5.1. Biomassa tratada (fração sólida)..... | 31 |
| 3.2.5.2. Caracterização dos componentes macromoleculares da biomassa tratada e <i>in natura</i> | 32 |
| 3.2.6. Análise estatística | 37 |
| CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO | 39 |
| 4.1. Preparo da biomassa..... | 40 |
| 4.2. Composição elementar, extrativos e cinzas da biomassa <i>in natura</i> | 40 |
| 4.3. Fracionamento da biomassa lignocelulósica | 43 |

| | |
|---|----|
| 4.4. Caracterização dos componentes macromoleculares da biomassa tratada e <i>in natura</i> | 46 |
| 4.4.1. Quantificação da lignina e cinzas | 47 |
| 4.4.2. Quantificação da celulose e hemicelulose | 50 |
| 4.4.3. Rendimento da extração de celulose, hemicelulose e lignina..... | 52 |
| 4.4.4. Estudo estatístico baseado no planejamento experimental | 56 |
| CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES | 62 |
| BIBLIOGRAFIA | 64 |
| Apêndice A..... | 72 |
| Apêndice B..... | 73 |
| Apêndice C..... | 80 |
| Apêndice D..... | 81 |
| Apêndice E - | 82 |
| Apêndice F - | 83 |
| Apêndice G -..... | 84 |
| Apêndice H -..... | 85 |
| Apêndice I - | 86 |
| Apêndice J - | 87 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Oferta interna de energia no Brasil em 2015 | 6 |
| Tabela 2. Teores de lignina total, extrativos solúveis em etanol/tolueno e holocelulose em diferentes tipos de biomassa | 9 |
| Tabela 3. Condições de operação de processos de extração de lignina. | 23 |
| Tabela 4. Experimentos para determinação de extrativos..... | 28 |
| Tabela 5. Experimentos do planejamento experimental fatorial 2 ² com ponto central realizados em triplicata. | 31 |
| Tabela 6. Resultados da análise em triplicata de CHN do <i>Eucalyptus grandis</i> | 40 |
| Tabela 7. Cálculo do percentual de extrativos presentes na biomassa <i>in natura</i> | 41 |
| Tabela 8. Resultado da composição elementar das cinzas..... | 42 |
| Tabela 9. Experimentos realizados e frações sólidas obtidas no processo <i>organosolv</i> (e seus respectivos códigos para acompanhamento)..... | 45 |
| Tabela 10. Matéria seca de todas as amostras analisadas. | 46 |
| Tabela 11. Análise dos cartuchos para método Soxhlet..... | 72 |
| Tabela 12. Concentrações dos açúcares presentes nas amostras analisadas. | 79 |
| Tabela 13. Resultados para quantificação da lignina solúvel..... | 80 |
| Tabela 14. Dados de cinzas e lignina insolúvel das frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin)..... | 82 |
| Tabela 15. Dados da lignina solúvel das frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin). | 83 |
| Tabela 16. Dados da lignina total presente das frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin). | 84 |
| Tabela 17. Teores de hemicelulose e celulose presentes nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin)..... | 85 |
| Tabela 18. Percentual e massa de todos os componentes presentes nas biomassas tratadas e <i>in natura</i> em todos os experimentos. | 86 |
| Tabela 19. Rendimento de extração dos componentes macromoleculares da biomassa <i>in natura</i> para cada condição do processo <i>organosolv</i> | 87 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Produtividade do eucalipto e pinus em diferentes países..... | 7 |
| Figura 2. Estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica. Adaptado de Santos <i>et al.</i> | 8 |
| Figura 3. Estrutura da celulose | 9 |
| Figura 4. Açúcares que compõe a hemicelulose..... | 9 |
| Figura 5. Estrutura da lignina. Adaptado de Watkins <i>et al.</i> | 10 |
| Figura 6. Aplicações para os componentes macromoleculares. Adaptado de Kamm <i>et al.</i> | 11 |
| Figura 7. Efeito do pré-tratamento em materiais lignocelulósicos..... | 12 |
| Figura 8. Fluxograma simplificado do processo <i>organosolv</i> e das etapas posteriores de tratamento/análise das frações obtidas..... | 25 |
| Figura 9. Rampa de aquecimento para determinação de cinzas em eucalipto <i>in natura</i> | 29 |
| Figura 10. Reator Parr 5100 com controlador Parr 4848..... | 30 |
| Figura 11. Etapa de preparação da biomassa para caracterização..... | 31 |
| Figura 12. Etapa de hidrólise ácida e separação das suas frações sólida e líquida..... | 33 |
| Figura 13. Etapa de caracterização da lignina insolúvel e as cinzas..... | 34 |
| Figura 14. Análise da fração líquida após hidrólise ácida. | 35 |
| Figura 15. Distribuição de tamanho das partículas da biomassa moída. | 40 |
| Figura 16. Percentual de extrativos presentes na biomassa <i>in natura</i> | 41 |
| Figura 17. Rampa de aquecimento no reator Parr ao longo das reações, nesse caso $E_{(50,200)(1)}$ | 43 |
| Figura 18. Frações sólidas obtidas no processo <i>organosolv</i> em função da temperatura e relação etanol:água. | 44 |
| Figura 19. Percentual médio de cinzas (A) e lignina insolúvel (B) presentes nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin)..... | 48 |
| Figura 20. Percentual médio de lignina solúvel presente nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin)..... | 49 |
| Figura 21. Percentual médio de lignina total presente nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin). | 50 |
| Figura 22. Percentual médio de hemicelulose (A) e celulose (B) presentes nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa <i>in natura</i> (Bin)..... | 52 |
| Figura 23. Massa dos constituintes macromoleculares presentes na biomassa <i>in natura</i> e frações sólidas lavadas (FSL) em todos os experimentos..... | 53 |

| | |
|--|----|
| Figura 24. Rendimento mássico de extração dos componentes macromoleculares (Lignina (A), hemicelulose (B) e celulose (C)) da biomassa <i>in natura</i> para cada condição do processo <i>organosolv</i> | 55 |
| Figura 25. (A) Valores preditos <i>versus</i> observados na extração da lignina. (B) Diagrama de Pareto para efeitos normalizados com relação à extração da lignina. (C) Superfície de resposta na qual é apresentada a massa de lignina extraída em função da temperatura e relação etanol /água. Os pontos em vermelho ('o') representam as médias dos pontos experimentais obtidos (Tabela 19)..... | 57 |
| Figura 26. (A) Valores preditos <i>versus</i> observados na extração da celulose. (B) Diagrama de Pareto para efeitos normalizados com relação à extração da celulose. (C) Superfície de resposta na qual é apresentada a massa de celulose extraída em função da temperatura e relação etanol /água. Os pontos em vermelho ('o') representam as médias dos pontos experimentais obtidos (Tabela 19). | 59 |
| Figura 27. (A) Valores preditos <i>versus</i> observados na extração da hemicelulose. (B) Diagrama de Pareto para efeitos normalizados com relação à extração da hemicelulose. (C) Superfície de resposta na qual é apresentada a massa de hemicelulose extraída em função da temperatura e relação etanol /água. Os pontos em vermelho ('o') representam as médias dos pontos experimentais obtidos (Tabela 19). | 61 |
| Figura 28. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa <i>in natura</i> .(a) $E_{(in\ natura)(1)}$, (b) $E_{(in\ natura)(2)}$ e (c) $E_{(in\ natura)(3)}$ | 73 |
| Figura 29. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (50%, 200°C). (a) $E_{(50,200)lavada(1)}$, (b) $E_{(50,200)lavada(2)}$ e (c) $E_{(50,200)lavada(3)}$ | 74 |
| Figura 30. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (30%, 180°C). (a) $E_{(30,180)lavada(1)}$, (b) $E_{(30,180)lavada(2)}$ e (c) $E_{(30,180)lavada(3)}$ | 75 |
| Figura 31. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (30%, 220°C). (a) $E_{(30,220)lavada(1)}$, (b) $E_{(30,220)lavada(2)}$ e (c) $E_{(30,220)lavada(3)}$ | 76 |
| Figura 32. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (70%, 180°C). (a) $E_{(70,180)lavada(1)}$, (b) $E_{(70,180)lavada(2)}$ e (c) $E_{(70,180)lavada(3)}$ | 77 |
| Figura 33. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada nas condições (70%, 220°C). (a) $E_{(70,220)lavada(1)}$, (b) $E_{(70,220)lavada(2)}$ e (c) $E_{(70,220)lavada(3)}$ | 78 |
| Figura 34. Curvas de calibração correlacionando a área de cada pico no cromatograma com a concentração dos açucares (g/L). (A) glicose,(B) galactose, (C) xilose, (D) arabinose e (E) manose. | 81 |

LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E ABREVIACÕES

| | |
|--------------------|---|
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry |
| CHN | Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio |
| XRF | X-Ray Fluorescence |
| EDX | Energy dispersive X |
| HPLC | High performance liquid chromatography |
| NREL | National Renewable Energy Laboratory |
| ASAM | Alkaline Sulphite Anthraquinone Methanol |
| ASALKALINE ETHANOL | Alkaline Sulphite Anthraquinone Ethanol |
| M_S | Massa seca |
| C_e | Massa do cadinho com amostra hidrolisada |
| C_m | Massa do cadinho com amostra da mufla |
| M_s | Massa inicial da amostra seca |
| \bar{Y} | Média das leituras de absorbância |
| β | Absorbância da solução de H_2SO_4 |
| V_a, V_b | Volume da amostra, volume branco |
| M_i | Massa do açúcar i |
| C_i | Concentração do açúcar i |
| V_i | Volume total do ácido mais a água ultra pura |
| $M_{corr,i}$ | Massa corrigida do açúcar i |
| $Fator_i$ | Fator de correção do açúcar i |
| M | Média dos resultados |
| S_1 | Desvio padrão |
| S_1^2 | Variância |
| N | Número de amostras |
| $M_{extraída}$ | Massa extraída de cada componente |
| $M_{início}$ | Massa inicial |
| T | Temperatura |
| EA | Relação etanol/água |
| δ_{curv} | Curvatura |

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. INTRODUÇÃO

As matérias-primas fósseis tem se destacado nas últimas décadas como fonte de energia e produtos químicos tão requisitados pela nossa sociedade moderna. As fontes fósseis são representadas majoritariamente pelo carvão, gás natural, petróleo e mais recentemente o *shale gas*, cuja principal característica é não serem renováveis, e seu uso implica necessariamente no acúmulo de gás carbônico na atmosfera, influenciando no aumento do efeito estufa. O aumento e a dependência do uso de matérias-primas fósseis não é injustificado, dado que elas tem uma grande homogeneidade de sua composição (pequenas quantidade de oxigênio e nitrogênio) e se apresentam concentradas geograficamente, o que resulta em um baixo custo de produção, reforçado pela existência de tecnologias maduras para o seu uso, quando comparadas a contraparte renovável, a biomassa.^{1,2}

Devido à redução das reservas mundiais e/ou indisponibilidade local das fontes fósseis, o uso da biomassa tem-se tornado necessário. Além disso, o uso destas matérias-primas contribui para redução do efeito estufa, uma vez que, o gás carbônico emitido na atmosfera é reutilizado no crescimento de uma nova biomassa, realizando um ciclo fechado de carbono. O lado negativo do uso da biomassa esta relacionado com a grande variabilidade na sua composição (conteúdo elevado de oxigênio e nitrogênio, além da água), o que requer processos de transformação mais complexos quando comparados com os da cadeia fóssil. Outro ponto negativo é o alto custo logístico, pois a biomassa apresenta densidade energética baixa, com isso o transporte da biomassa para a central de processamento e seu armazenamento eleva o custo da produção.^{1,2}

Uma vantagem da biomassa é sua disponibilidade na forma de resíduos da agricultura ou da própria industrialização dos produtos agrícolas, ou seja, ao utilizar essas matérias-primas promover-se-ia a correta disposição dos resíduos, reduzindo impactos ambientais, e ao mesmo tempo seriam gerados produtos de valor agregado, reforçando uma cadeia produtiva já existente.^{2,3}

Além do uso de resíduos do agronegócio, umas das formas de se buscar maior competitividade no uso da biomassa é sua utilização dentro do conceito de biorrefinaria, que é um paralelo a refinaria de petróleo, onde uma matéria-prima é processada de forma a obter vários produtos de interesse econômico, minimizando geração de resíduos no processo.⁴

As biorrefinarias são indústrias que promovem a transformação de matéria-prima de forma sustentável em produtos comercializáveis e/ou energia.⁵ Em biorrefinarias quando o objetivo é a obtenção dos monômeros presentes no material lignocelulósico é necessário realizar um encadeamento de processos de transformação que vão da biomassa aos produtos de interesse. Uma etapa importante nestes processos de transformação da biomassa é a etapa de pré-tatamento, pois ela promove a quebra das ligações entre os principais componentes da parede celular vegetal (celulose, hemicelulose e lignina).³

Durante muito tempo a lignina, componente macromolecular da parede celular, foi utilizada na indústria de papel e celulose apenas como combustível na geração de energia. Com o passar dos anos e o crescimento da produção, algumas indústrias se viam com excedentes de lignina. Com intuito de agregar valor ao processo, as indústrias resolveram diversificar a aplicação da lignina em produtos comercializáveis. Atualmente as ligninas de processos mais estabelecidos, como Kraft e lignosulfonatos, já vêm sendo comercializadas na forma de adesivos, agentes de flotação, condicionadores de solos, dispersantes, entre outros. O grande problema destas ligninas é que apresentam compostos de enxofre em suas estruturas, reduzindo seu desempenho e dificultando a síntese de subprodutos.⁶

Dessa forma, hoje se busca a produção de ligninas isentas de enxofre e o processo *organosolv* atende a esse requerimento ao obter um produto com elevado grau de pureza, livre de enxofre e mais reativa devido à presença dos grupos hidroxilas livres. No processo *organosolv* é dada importância a todas as frações, tanto a celulose, quanto a hemicelulose e lignina.⁶⁻⁸

O processo *organosolv* consiste no fracionamento da biomassa lignocelulósica, utilizando uma mistura de solventes orgânicos e água em elevadas temperaturas para separar celulose, hemicelulose e lignina. A extração direta da lignina na biomassa, ou seja, sem prévia remoção de celulose e hemicelulose, implica que mais de 60% da massa adicionada ao reator de extração sejam polissacarídeos (celulose e hemicelulose), os quais podem sofrer degradação durante o processo de extração, reduzindo o grau de pureza da lignina extraída. Geralmente, durante o processo de extração de lignina, a hemicelulose também é extraída em grandes quantidades (> 70 %).⁹ Os monômeros de hemicelulose (xilose, principalmente) e seus produtos de degradação reduzem a pureza da lignina extraída.¹⁰

Outro obstáculo encontrado no processo de extração de lignina é o fato de que ao resfriar o reator, a lignina precipita e deposita sobre as fibras de celulose. A máxima recuperação da lignina extraída pelo processo só é possível por meio de lavagem das fibras em várias etapas.¹¹

Neste trabalho foi estudado o processo *organosolv* visando o fracionamento do *Eucalyptus grandis* em suas frações macromoleculares de celulose, hemicelulose e lignina. Como variáveis de processo foi escolhido a temperatura e a relação etanol/água. Uma etapa de lavagem da biomassa tratada foi adicionada ao processo para tentar solucionar o problema da lignina que precipita no sólido residual após processo *organosolv*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GERAL

O trabalho proposto tem como principal objetivo realizar a desconstrução da biomassa lignocelulósica de *Eucalyptus grandis* utilizando o processo *organosolv*, obtendo como produto fração líquida com o máximo de lignina e hemicelulose extraídas e fração sólida com o mínimo de perda de celulose.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Avaliação do processo *organosolv* em diferentes condições de operação, tendo como variáveis de processo, a temperatura e relação de etanol/água.
- Estudo estatístico para avaliação dos resultados de extração dos componentes macromoleculares (celulose, hemicelulose e lignina).

CAPÍTULO 2
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. BIOMASSA

Biomassa pode ser definida de diferentes formas, de acordo com o campo onde é aplicada (ecologia ou energia). Na ecologia podemos definir biomassa como “Extensão de matéria viva existente em determinado ambiente, encontrado sob forma de um ou mais tipos de organismos”. Da perspectiva energética, a definição de biomassa pode ser dada como: “Todo recurso renovável de origem vegetal ou animal, que provém de matéria orgânica, podendo ser empregado na produção de energia”.¹²

Segundo a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*)¹³, biomassa pode ser definida como: “material produzido pelo crescimento de microorganismos, plantas ou animais”. Outra definição bastante usada é que a biomassa é todo tipo de matéria-prima orgânica que pode ser transformada em energia e sua origem pode ser agrícola (arroz, cana-de-açúcar, soja, etc.), florestal (madeira) ou originária de resíduos industriais ou urbanos, líquidos ou sólidos.¹⁴ O aspecto em comum entre todas as definições de biomassa, é que ela é um recurso renovável.

No Brasil, de acordo com EPE (Empresa de pesquisa energética), a biomassa é a principal fonte de energia renovável, sendo que em 2015 correspondeu, aproximadamente, a 25,1% da oferta interna de energia do país como mostra na Tabela 1, destacando-se o uso da cana-de-açúcar, da lenha e do carvão vegetal.¹⁵

Tabela 1. Oferta interna de energia no Brasil em 2015.¹⁵

| Fonte | % |
|--|------|
| Renováveis (Total) | 41,2 |
| Energia hidráulica e eletricidade | 11,3 |
| Biomassa da cana-de-açúcar e derivados | 16,9 |
| Biomassa tradicional (lenha, carvão e vegetal) | 8,2 |
| Outras renováveis (solar, eólica, biogás, etc) | 4,7 |
| Não renováveis (Total) | 58,8 |
| Petróleo | 37,3 |
| Gás natural | 13,7 |
| Carvão mineral | 5,9 |
| Urânio | 1,3 |
| Outras | 1,0 |

No cenário mundial o Brasil tem destaque como grande produtor florestal, isto é possível, devido à elevada quantidade de terra agricultável e as boas condições de clima e solo, além, do incentivo e apoio das empresas e instituições florestais no desenvolvimento técnico e científico. Dentre as biomassas florestais damos destaque

para o pinus e eucalipto devido elevada produtividade.¹⁶ O eucalipto é uma planta nativa da Austrália, que tem sua aplicação concentrada na indústria de papel e celulose. Das espécies de eucalipto existentes no Brasil, o *Eucalyptus grandis* é a mais produzida. Condições naturais favoráveis garantem ao Brasil ciclos curtos de produção quando comparado aos de outros países, sendo que as regiões sul e sudeste apresentam as maiores concentrações de eucaliptos plantados.^{17, 18}

A Figura 1 apresenta a produtividade (em m³/ha/ano) de duas espécies de biomassa florestal, o eucalipto e o pinus, no Brasil e em países onde a atividade florestal é importante.¹⁶

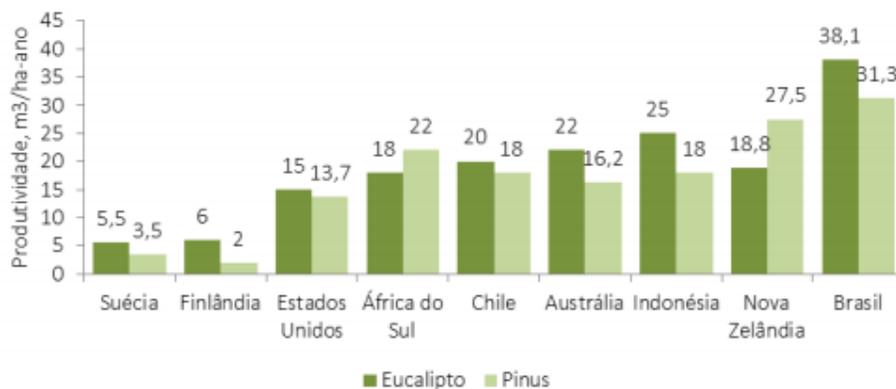


Figura 1. Produtividade do eucalipto e pinus em diferentes países.¹⁶

Estima-se que a produtividade florestal no Brasil cresça 1,5% ao ano, alcançando 63,9 m³/ha/ano em 2050. Nesse ganho de produtividade está incluído o uso de culturas de clones de eucalipto que corresponde a 30-40% do total citado.¹⁶

O eucalipto é uma biomassa lignocelulósica, nas quais predominam em sua composição a celulose, a hemicelulose e a lignina, que são polímeros constituintes das paredes celulares. Existem também em menor proporção substâncias de baixa massa molar não pertencentes às paredes celulares, tais como os extrativos e as cinzas.^{19,20}

Os produtos obtidos a partir da conversão da biomassa dependem da tecnologia de processamento adotada, das condições de operação do processo e do tipo de biomassa. A estrutura e composição da biomassa, por sua vez, variam de acordo com o tipo de biomassa, suas condições de crescimento, idade da planta e tipo de tecido celular. Desta forma, um entendimento claro da biomassa em uso é de grande importância nos processos de conversão.¹⁹

2.2. BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

Conforme foi explicado anteriormente, os principais constituintes da biomassa lignocelulósica são: celulose, hemicelulose e lignina. A Figura 2 é uma representação de um tipo de biomassa lignocelulósica (cana-de-açúcar) e como os constituintes macromoleculares da parede celular (celulose, hemicelulose e lignina) estão dispostos e se relacionam (hemicelulose e lignina entrelaçadas envolvendo a celulose), além da apresentação dos monômeros (glicose) que compõe a celulose.

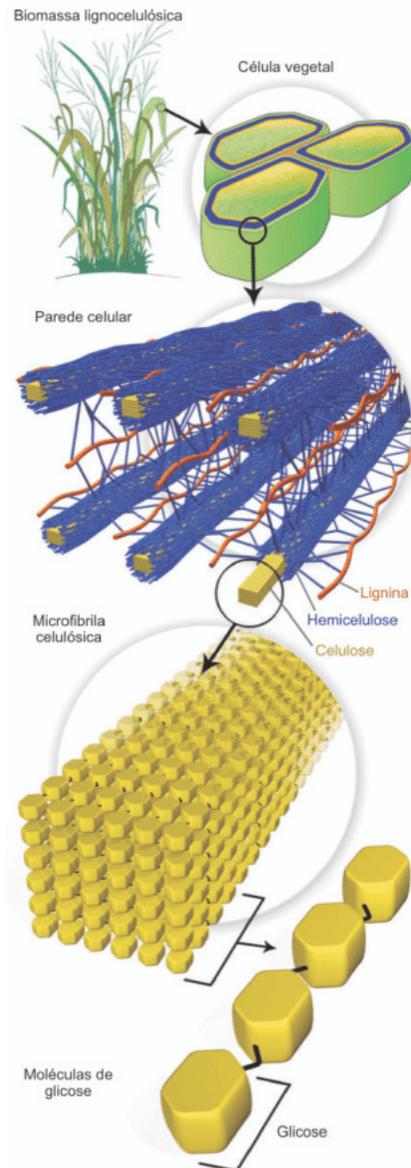


Figura 2. Estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica. Adaptado de Santos *et al.*²¹

A Tabela 2 apresenta os teores de lignina total, extrativos solúveis em etanol/tolueno e holocelulose (celulose e hemicelulose) em diferentes biomassas.

Tabela 2. Teores de lignina total, extrativos solúveis em etanol/tolueno e holocelulose em diferentes tipos de biomassa.²²

| Biomassa | Lignina total(%) | Extrativos(%) | Holocelulose(%) |
|-----------------------|------------------|---------------|-----------------|
| Eucalipto | 30,11 | 4,64 | 69,69 |
| Casca de arroz | 26,95 | 1,63 | 55,83 |
| Casca de pinhão-manso | 25,99 | 7,81 | 70,26 |
| Bambu | 25,79 | 5,46 | 73,67 |
| Bagaço de cana | 24,86 | 6,85 | 70,31 |
| Capim elefante | 23,21 | 6,15 | 74,15 |

A celulose é um polímero de fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$, formado por monômeros de D-glicose que são unidos por ligações glicosídicas (β -1,4).^{23, 24} Ela é encontrada na forma de microfibrilas, constituídas de regiões amorfas e cristalinas. Devido a sua forma e suas ligações fortes, a celulose apresenta resistência à degradação química e biológica.^{24, 25} O teor da celulose em madeira de eucalipto pode variar de 46–49 %.²⁶

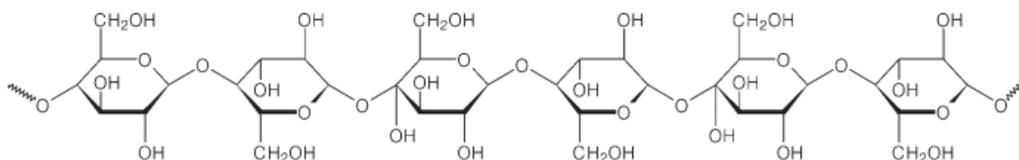


Figura 3. Estrutura da celulose.²⁷

A hemicelulose é um polímero constituído por diversos açúcares, tais como D-galactose, D-manose, D-xilose, L-arabinose. O teor da hemicelulose em madeira de eucalipto pode variar de 18–23 %.²⁶ Ela sofre ataques de produtos químicos com grande facilidade, devido à ausência de regiões cristalinas. Entre as formas anidras dos açúcares, as galactanas, xilanas, mananas e arabinanas, as xilanas são as mais importantes, pois são encontradas em maior quantidade, entre 20 – 50%, na hemicelulose.^{21, 28, 29}

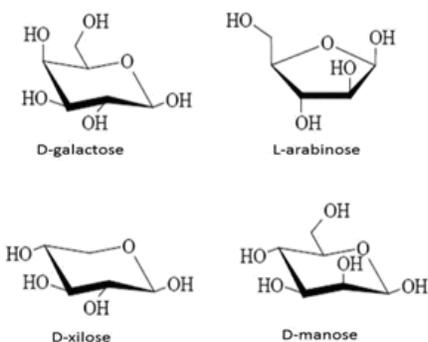


Figura 4. Açúcares que compõe a hemicelulose.³⁰

Uma definição simples para lignina é de que esta é uma macromolécula amorfa constituída de unidades de fenil-propano contendo diferentes graus de hidroxilação e metilação. Estas unidades são conectadas por ligações (C-C, carbono-carbono) e (C-O, carbono-oxigênio). As principais ligações observadas na molécula de lignina são: β -O-4', β - β' , α -O- γ' , γ -O- α' , α -O-4', α -oxidada e p-hidroxicinamil álcool.^{26, 31-34} A síntese da lignina na biomassa ocorre a partir da conversão de L-fenilalanina a monolignóis primários, álcool p-coumaril, álcool coniferil e álcool sinapil, os quais irão formar as unidades hidroxifenil (H), guaiacil (G), e siringil (S). Atualmente, onze enzimas já foram identificadas como catalisadores envolvidos nesta síntese. Entre elas podemos citar a fenilalanina amônia-liase como uma das principais na síntese.^{35, 36} O teor de lignina em madeira de eucalipto pode variar de 29–33 %.²⁶

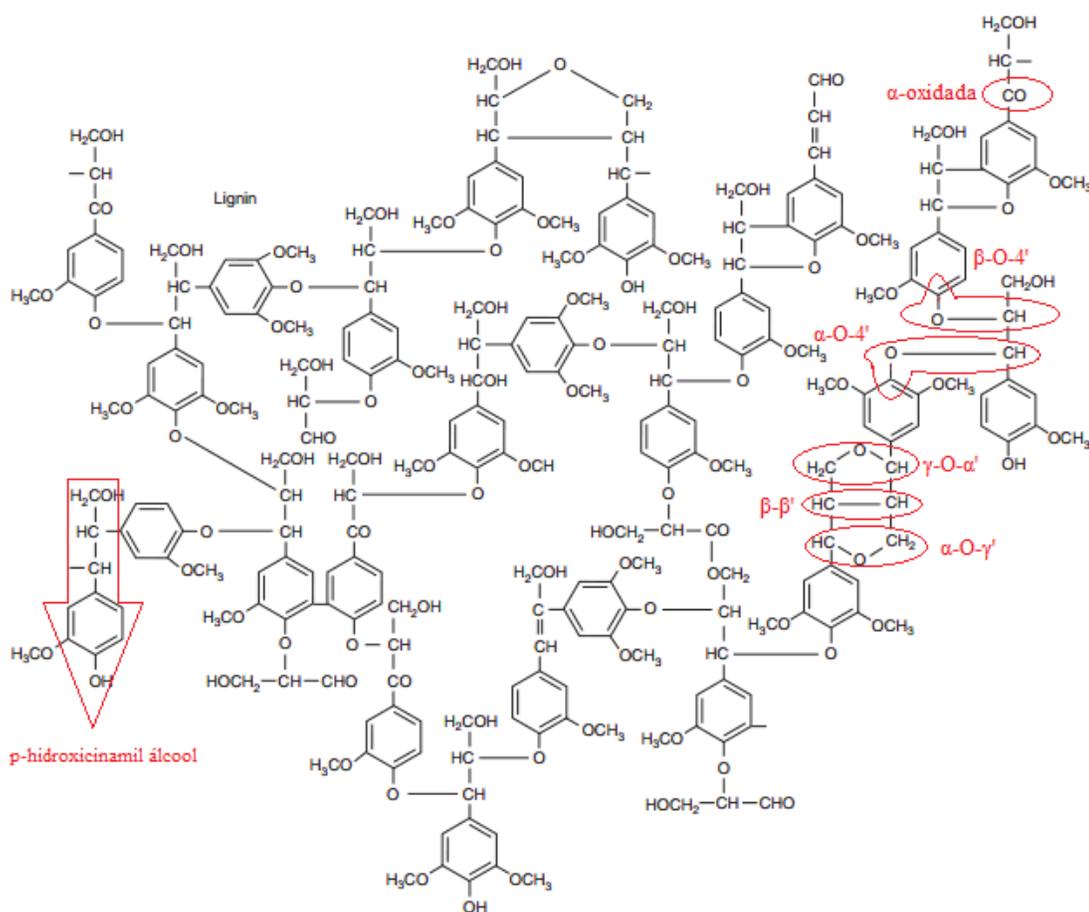


Figura 5. Estrutura da lignina. Adaptado de Watkins *et al.*³⁷

Os extrativos estão presentes no grupo das substâncias de baixa massa molar, que não pertencem à parede celular da biomassa lignocelulósica. São extraídos com facilidade pela água e por solventes orgânicos. A composição dos extrativos pode variar

entre 0 e 20% em matéria seca da biomassa lignocelulósica. Varia de acordo com a origem, plantio, transporte e estocagem da biomassa lignocelulósica.^{38, 39}

As cinzas são os resíduos inorgânicos, compostos por minerais na forma de óxidos ou metais, presentes na biomassa lignocelulósica. Os elementos químicos que compõem as cinzas de eucalipto são seguindo a ordem de maior proporção: K, Ca, Si, Al, Fe, Mg, Mn, S, P, Ti, Ni, Cr, Zn, Cu, Rb, Sr, Mo, Zr e Y. As cinzas representam entre 0,2 e 1% da biomassa lignocelulósica.^{39, 40}

A Figura 6 apresenta alguns tipos de biomassa lignocelulósica e as aplicações depois que ela é fracionada em seus polímeros constituintes.

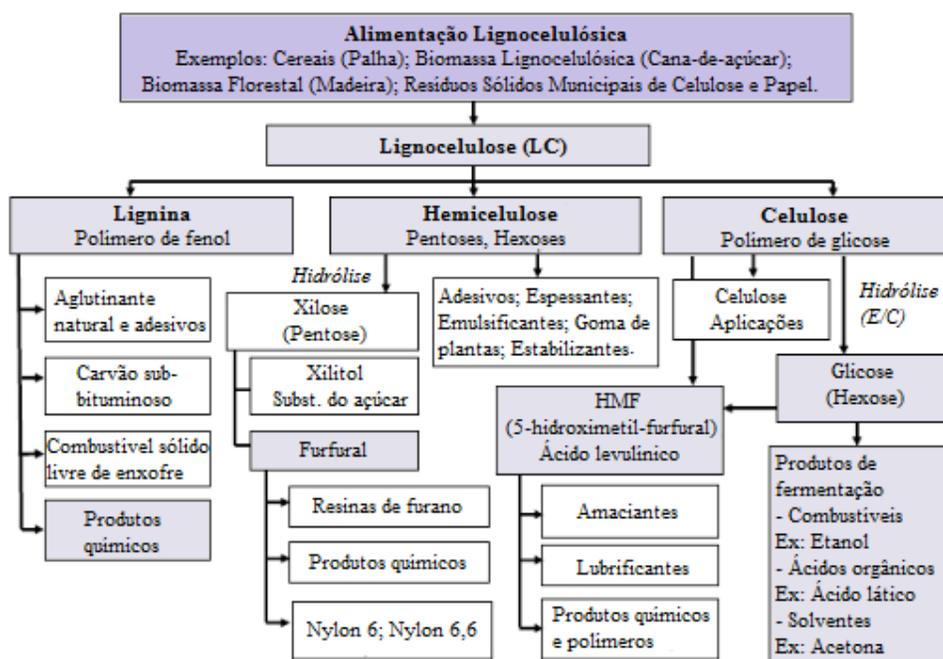


Figura 6. Aplicações para os componentes macromoleculares. Adaptado de Kamm *et al.*⁴

Em processos de conversão da biomassa lignocelulósica em produtos químicos e biocombustíveis, têm se aplicado antes do processo uma etapa de pré-tratamento. Esta etapa contribui com as outras etapas do processo, promovendo o rompimento entre as estruturas macromoleculares (celulose, hemicelulose e lignina) da parede celular, tornando a celulose mais acessível aos ataques enzimáticos e/ou químicos. A Figura 7 mostra o que acontece na etapa de pré-tratamento.⁴¹

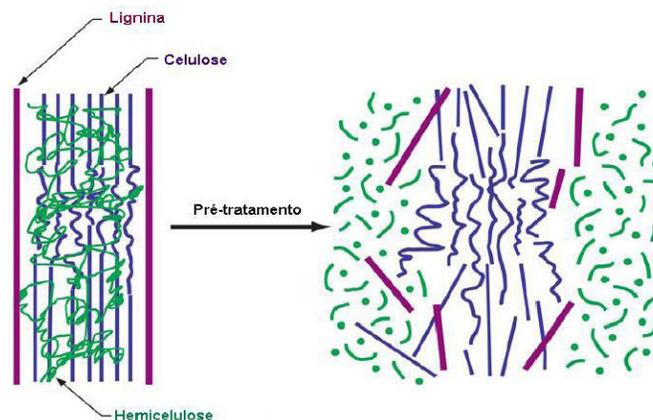


Figura 7. Efeito do pré-tratamento em materiais lignocelulósicos.⁴²

A separação dos componentes da parede celular é um dos desafios mais importantes e urgentes para que os processos realizados em biorrefinarias sejam bem sucedidos.⁴³ Atualmente, uma variedade de tecnologias de pré-tratamento vem sendo alvo de pesquisas no mundo, estes processos são divididos em processos: biológicos (*e.g.* microorganismos (fungos)), físicos (*e.g.* moagem de bola e extrusão), químicos (*e.g.* ácido, alcalino e *organosolv*) ou combinados. Os pré-tratamentos químicos são os mais utilizados na produção industrial, estes processos se aplicados em resíduos agroindustriais, colaboram para diminuição da degradação ambiental. Devido a sua eficácia em processos de transformação da biomassa, são considerados como um dos mais promissores para o desenvolvimento das biorrefinarias.⁴²

2.3. PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DA LIGNINA

2.3.1. EFEITOS DOS TRATAMENTOS QUÍMICOS NA ESTRUTURA DA LIGNINA

A extração direta da lignina na biomassa implica que mais de 60% da massa adicionada ao reator de extração sejam polissacarídeos (celulose e hemicelulose), os quais podem sofrer degradação durante o processo de extração, reduzindo o grau de pureza da lignina extraída.⁹ Para que ocorra a extração de lignina, ligações (*e.g.* β -O-4 e α -O-4) que conectam as suas unidades e as ligações químicas existentes entre a lignina e os polissacarídeos (ligações benzil-éter, benzil-éster, e fenil-glicosídica) devem ser rompidas.^{35, 44}

As propriedades físicas e químicas da lignina extraída, como a massa molar, a reatividade, o teor de contaminantes e a estabilidade térmica, são fortemente

dependentes do tipo de extração aplicado à biomassa e das condições operacionais empregadas.^{33, 35, 45, 46}

As principais modificações estruturais da lignina após a extração ocorrem devido à diminuição de grupos hidroxilas alifáticos, quebra de estruturas β e α -aril éter e aumento de grupos hidroxila fenólicos, ácidos carboxílicos e estruturas condensadas.^{47, 48} As mudanças na estrutura da lignina se dão devido à desmetoxilação, perdas de unidades siringil (mais sensível à degradação térmica) e quebra de cadeias laterais alifáticas.⁴⁹

Nas condições de processo para a obtenção da lignina, praticamente toda hemicelulose e parte da celulose são convertidas em seus açúcares constituintes (hemicelulose – xilose, galactose, manose, arabinose e celulose – glicose). Em meio aquoso, geralmente, a degradação térmica da biomassa se inicia pela liberação do ácido acético presente na hemicelulose, o qual age como um catalisador na extração de polímeros da biomassa.^{10, 49, 50}

Processos para a extração da lignina que preservam a sua estrutura química são descritos na literatura, como o método de Björkman. Entretanto, estes processos são úteis apenas para realizar estudos em pequena escala, pois apresentam pouca viabilidade econômica do ponto de vista industrial. Nestes processos, a biomassa deve ter o tamanho de sua partícula reduzida e em seguida sua extração pode ser realizada de forma branda empregando enzimas ou solventes específicos que não causam danos à estrutura da lignina.⁵¹

Atualmente, um processo industrial bem estabelecido é o Kraft, processo bastante utilizado na indústria de papel e celulose que tem como objetivo a obtenção da polpa de celulose, despolimerizando e extraindo a lignina sem que ocorra significativa degradação dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose).⁵² Neste processo, hidróxido de sódio (NaOH) e hidrossulfeto de sódio (NaHS) são utilizados para a extração de lignina em elevadas temperatura (160 – 180 °C) e pressão (Pressão_{vapor}/função da temperatura).⁵¹

As principais desvantagens deste processo, no que se refere à lignina, são: elevado teor de sólidos inorgânicos (28-44 %) e açúcares derivados da hemicelulose (4-14 %) no licor, elevado grau de condensação da lignina, presença de compostos de enxofre, baixa massa molar da lignina extraída, baixo conteúdo de grupos metoxila, uso de produtos químicos poluentes.^{51, 52} Devido a estas desvantagens desse processo a

lignina Kraft é considerada um material de baixo valor e tem sido usada em sua maior parte como combustível para alimentação de caldeiras.⁵³

Além do processo Kraft, existem outros processos de extração como: sulfito, tratamento ácido, tratamento alcalino e processo *organosolv*.

No processo sulfito as principais reações envolvidas são: sulfonação, hidrólise e condensação. Os principais reagentes utilizados são o dióxido de enxofre (SO₂), os hidróxidos de cálcio (Ca(OH)₂), sódio (NaOH), amônio (NH₄OH) ou magnésio (Mg(OH)₂). A lignina extraída pelo processo sulfito é chamada de lignosulfonato, e apresenta massa molar maior que a lignina obtida pelo processo Kraft, no entanto também sofre fortes modificações estruturais, e portanto perdendo valor como matéria-prima para outros processos de transformação.⁵¹

Atualmente, tratamento alcalino de biomassas tem sido realizado com o objetivo de facilitar a hidrólise enzimática de celulose em glicose. Este tratamento promove a remoção da lignina e a liberação da celulose, facilitando o acesso das enzimas. Além da lignina, também ocorre remoção de parte da hemicelulose, a qual está conectada à lignina por meio de ligação covalente e também fisicamente entrelaçada.^{26, 54} O meio alcalino favorece a clivagem de ligações de hidrogênio, éster e outras ligações covalentes presentes na estrutura da biomassa.⁵⁴ Reações de saponificação envolvendo ligações éster, sensíveis ao álcali, entre lignina e polissacarídeos também ocorrem em meio alcalino e isto aumenta a solubilidade de hemicelulose e lignina.⁵⁵

O tratamento ácido de biomassas utilizando como solvente a água, sob elevada temperatura e pressão, com diferentes graus de acidez promove mudanças estruturais tanto dos polissacarídeos (com dissolução da hemicelulose), quanto da lignina.²⁶ O processo ácido mais conhecido para o isolamento de lignina é o Klason, o qual emprega ácido sulfúrico para uma completa dissolução dos polissacarídeos, mantendo a lignina insolúvel. Este processo é adequado para a quantificação da lignina na biomassa, entretanto, devido ao elevado grau de condensação desta, sua aplicação para a obtenção de compostos para a indústria química ou mesmo caracterização estrutural da lignina original torna-se limitada.^{33, 51}

Outros processos de extração da lignina utilizando ácido em elevada concentração, por exemplo, ácido fórmico: água (80:20), permitem a extração de lignina com rendimento de até 84%, tendo apenas 2 % de açúcar contaminante. A lignina proveniente deste processo tem massa molar relativamente baixa (8000 g/mol) quando

comparada a ligninas extraídas por processo *organosolv* (15700 g/mol) ou sistema de solvente contendo ácido acético e fórmico combinados (12500 g/mol), mas mostra-se similar à lignina extraída em processo alcalino (7550 g/mol). Baixa massa molar significa que a lignina foi quebrada em partes menores, se tornando uma molécula mais específica, com isso, menos reativa.⁵⁶

Em escalas menores, processos empregando líquidos iônicos, fenóis, ácido acético, ácido fórmico, peróxido de hidrogênio, glicerol, acetona, acetato de etila, amônia, aminas, butanol, propanol, também vêm sendo estudados.^{34, 45, 57, 58}

Todos os processos acima citados têm como objetivo a obtenção da celulose extraindo a lignina. Um processo que vem ganhando destaque é o *organosolv*, o qual visa não somente a obtenção da polpa de celulose, mas também obter uma lignina de melhor qualidade.

2.3.2. PROCESSO ORGANOSOLV

O processo *organosolv* é um pré-tratamento da biomassa lignocelulósica com a mistura de solventes orgânicos e água em elevadas temperaturas. Existe uma variedade de solventes, porém os mais utilizados são: acetona, etanol, metanol e ácidos orgânicos (ácido acético e ácido fórmico). A escolha do solvente é definida de acordo com o processo estudado, os custos e a facilidade de aquisição do solvente.^{7, 59} O principal solvente utilizado em processo *organosolv* atualmente é o etanol devido ao seu relativo baixo custo, suas características químicas, não ser poluente, de fácil recuperação, visto que apresenta baixo ponto de ebulição e pode ser recuperado por destilação.^{45, 60, 61}

A função do solvente neste sistema consiste em promover reações de solvólise (a biomassa entra em contato com as moléculas do solvente e é decomposta) e redução da viscosidade do meio, facilitando a penetração e difusão de reagentes no interior das partículas da biomassa. O uso de solvente orgânico, em quantidades adequadas, também favorece o aumento de rendimento de extração da lignina, visto que este aumenta a solubilidade dos fragmentos extraídos e minimiza as reações de condensação, onde se formam ligações intermoleculares entre os fragmentos solubilizados da lignina.^{58, 62, 63}

O processo *organosolv* em geral é conduzido sem a adição de catalisadores, no entanto estes podem ser empregados visando acelerar as reações. Os catalisadores usualmente empregados são: ácido acético, H₂SO₄, HCl, NaOH, CaCl₂, NH₃, AlCl₃, Fe₂(SO₄)₃, Al₂(SO₄)₃, antraquinona, ácido oxálico e ácido sulfônico.^{9, 45, 46, 64-67} O uso de

catalisadores apresenta como principais desvantagens a possibilidade de corrosão de equipamentos, etapas adicionais de recuperação e reciclo dos catalisadores, contaminação da lignina extraída e consequente elevação do custo do processo.⁴⁵

A lignina extraída por processo *organosolv* sem uso de catalisador pode apresentar elevado grau de pureza (> 70 %) e reatividade química, ser livre de enxofre e não apresentar toxicidade.^{33, 35, 48, 61, 68} Alguns estudos mostram que o aumento da severidade em processos *organosolv* leva à redução na massa molar da lignina extraída de 36 a 56% em relação à lignina não tratada. Além disso, pode ser observada a redução do conteúdo de grupos hidroxila alifático, aumento de unidades fenólicas siringil e de estruturas fenólicas condensadas.⁶⁸

A massa molar de fragmentos de lignina obtidos por meio de processo *organosolv* sem uso de catalisador apresenta valores de 2410 g/mol, para *organosolv* alcalino valores de 3520 g/mol e peróxido de hidrogênio alcalino 3200 g/mol, sendo a massa molar da lignina original de eucalipto em torno de 5160 g/mol. Quanto maior a massa molar melhor é a lignina extraída, pois a torna mais reativa e menos específica.³³

A lignina extraída de eucalipto por meio de processo *organosolv*, sem uso de catalisador, apresenta redução das ligações do tipo β -O-4 (redução de aproximadamente 50 %) e S3,5 (eterificado), enquanto ligações do tipo S3,5 e G3,4 (não eterificados) aumentam. Neste processo, uma parte dos grupos OH alifáticos são oxidados, formando grupos COOH, e outra parte é modificada em reações de α -etoxilação. A solvólise de ligações do tipo β -aril éter que ocorrem na lignina durante a extração com álcool leva à formação de carbocátions, os quais reagirão com álcool em meio ácido.^{45, 69}

Também se observa o surgimento de estruturas condensadas e outros derivados de lignina após o processo de extração. Condensação são reações que os componentes da lignina podem sofrer entre si ou com outros componentes químicos. Pode levar a formação de compostos de elevado peso molecular e reverter à solubilização da lignina. Uma redução nas reações de condensação pode ser obtida pelo uso de peróxido de hidrogênio em meio alcalino.³³ Outra estratégia para minimizar a quebra de ligações éter e reações de condensação, é a adição de paládio como catalisador em processo *organosolv*, pois este favorece reações de hidrogenação.⁴⁶

Quando o processo *organosolv* ocorre em meio alcalino, também é observada uma redução no conteúdo de ligações do tipo β -O-4. Além disso, esse processo

seletivamente extrai frações de lignina ricas em ligações do tipo β -O-4 e β - β , as quais apresentam maior número de unidades siringil.³³

Após o processo de extração *organosolv* sem uso de catalisador, ocorre um aumento na razão siringil/guaiacil na lignina de eucalipto, e isto é atribuído ao fato de que os fragmentos gerados pela clivagem de ligações β -O-4 e que reações de condensação ocorrem preferencialmente em unidades guaiacil.³³

No campo dos processos *organosolv* damos destaque aos seguintes processos:

Kleinert que emprega o tratamento de cavacos de álamo com álcoois alifáticos de cadeia curta (metanol e etanol) em solução, usados separadamente, sem uso de catalisador, cozido em fluxo contra-corrente, em temperaturas entre 170 e 195°C para obtenção da polpa celulósica.

Alcell que é um pré-tratamento ou polpação celulósica de material fibroso, utilizando etanol/água como solvente (~60% etanol), em temperaturas entre 180 e 210°C, e pressões entre 2 e 3,6MPa.

MD Organocell emprega o tratamento de madeira com o uso de metanol e NaOH, além da adição de antraquinona. Trabalha com as condições entre 17-20% de NaOH, 0,1% de antraquinona, 5-30% de metanol, em temperaturas entre 150-170°C, com tempo de cozimento de 60 a 120min.

ASAM (alkaline sulphite anthraquinone methanol) é processo de polpação celulósica que combina 15-25% de soda, uma proporção alcalina (Na_2SO_3 / NaOH / Na_2CO_3) de 85: 15-70: 30, 0,05-0,1% de antraquinona, 15-30% em volume de metanol, uma razão líquido / sólido de 3: 1 a 5: 1, temperaturas de 170-180 ° C e tempos de processamento de 60-150 min.

ASALKALINE ETHANOL (alkaline sulphite anthraquinone ethanol) difere no ASAM com presença do etanol no lugar no metanol. Além destes temos também processos que usam água-etanol-bicarbonato de sódio e processos que fazem uso de álcool e oxigênio.^{47, 57, 70, 71}

Além destes, o uso de processos combinados envolvendo autohidrólise, hidrólise enzimática ou ácida e *organosolv* também vêm ganhando maior atenção com o crescente interesse no desenvolvimento de biorrefinarias.

2.3.3. VARIÁVEIS DE PROCESSOS NA EXTRAÇÃO DA LIGNINA

Diversas variáveis de processo na extração de lignina vêm sendo estudadas ao longo de décadas. A umidade inicial e o tamanho de partícula da biomassa, tipo de processo, pré-condicionamento (*e.g.* torrefação) das amostras antes da extração, tipo e quantidade de químicos e solventes utilizados, tempo, temperatura, pH, agitação, geometria dos reatores, etc, vem sendo levantados com um objetivo principal, que é o de obter o máximo rendimento de extração de lignina de alta qualidade em um processo de baixo custo.

Na literatura, a temperatura de extração de lignina varia entre 80 e 390°C, sendo que temperaturas acima de 200°C levam a degradação da celulose, e consequente redução da pureza da lignina obtida.^{54, 72}

O tempo de reação associado à temperatura também é outra variável de elevada importância em processos de extração de lignina, variando de minutos a horas. Em uma determinada temperatura, um tempo excessivo de reação pode levar à degradação dos açúcares derivados da biomassa, por exemplo, xilose pode ser convertida a furfural.⁹ Levando a perda de material que poderia ser utilizado em processos fermentativos subsequentes. Além disso, moléculas como o furfural poderiam reagir com componentes da lignina ou mesmo permanecer como um contaminante nas frações de lignina extraída.^{73, 74}

Um estudo recente revelou que a extração de lignina em baixas concentrações de etanol (35%, por exemplo), favorece a redeposição da lignina sobre as fibras de celulose, na forma de pequenas esferas, devido à interação de seus fragmentos. Com o aumento da concentração de etanol, a interação dos fragmentos de lignina leva a estruturas mais irregulares e o rendimento de extração lignina é aumentado de 25% (utilizando etanol 35%) para 56% (utilizando etanol 65%). Uma queda no rendimento foi observada em concentrações de etanol acima de 65%, isto está associado a uma redução na concentração de íons hidrônio na solução, o que reduz a despolimerização de lignina e sua solubilidade no licor.^{61, 68} Vale ressaltar que a concentração de solvente também irá interferir no pH do meio, e elevadas concentrações de etanol podem aumentar o pH desfavorecendo as reações de hidrólise, reduzindo assim os rendimentos de extração de lignina.^{48, 58}

Nos estudos realizados por Zhang *et al.*⁶¹, também foi comprovado que a concentração de etanol também influencia na massa molar dos fragmentos de lignina

obtidos. Valores de 1208 g/mol para 35% de etanol e 2146 g/mol para 65% de etanol foram observados.

A pressão é uma variável pouco estudada em processos de extração de lignina, por não ter um efeito tão pronunciado sobre a quantidade e a qualidade de lignina extraída. Dados da literatura mostram que extração de lignina foi realizada em sistema com variações de 15 a 25MPa. Sistemas contendo dióxido de carbono supercrítico como solvente e ácido acético, etanol, metanol e dioxano como co-solventes foram avaliados para a extração de lignina. O rendimento da polpa e teor de extração de lignina foram mais influenciados pela temperatura do que da pressão.⁷⁵

O tamanho de partícula da biomassa tem pouca influência no rendimento de extração de lignina (pelo menos para partículas com até 3cm³). Esta variável torna-se importante quando a viscosidade do licor é elevada, por exemplo, em baixas temperaturas e elevada concentração íons de hidrogênio, pois isto dificulta a penetração do licor na biomassa.⁷⁰

A razão entre quantidade inicial de biomassa e solvente orgânico é uma das variáveis mais importantes no processo de extração de biomassa. O volume de solvente orgânico para uma determinada quantidade de biomassa deve ser tal que permita uma impregnação uniforme e eficiente agitação da mistura. O aumento da quantidade de solvente orgânico para uma determinada quantidade de biomassa causará a diluição dos ácidos liberados pela biomassa e isto desfavorece a deslignificação. Por outro lado, as reações de condensação e a redeposição de lignina sobre as fibras são reduzidas.⁷⁰

2.3.4. PROCESSOS DE EXTRAÇÃO COMBINADOS

O isolamento de lignina a partir de uma determinada biomassa pode se dar de duas formas: 1) Extração da hemicelulose e celulose, mantendo a lignina sólida e 2) Extração da lignina.

A dissolução direta de lignina geralmente ocorre em temperaturas na faixa de 140 - 230 °C e pressões elevadas, e a separação das frações sólidas e líquidas deste processo ocorre a temperatura ambiente. Durante o resfriamento deste sistema, a lignina tende a se redepositar sobre as fibras de celulose.^{33, 61} Isto implica em menor acesso de enzimas hidrolíticas à celulose dificultando a liberação de açúcares fermentescíveis e perda da lignina extraída.

Uma estratégia que vem sendo utilizada para superar este obstáculo é a realização de pré-tratamento por autohidrólise (para remoção de hemicelulose) seguida de hidrólise enzimática (para remoção de celulose) e posterior obtenção da lignina. Considerando uma eficiente remoção dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose), o problema de redeposição de lignina sobre as fibras é reduzido ou eliminado. A principal desvantagem nesta sequência de fracionamento da biomassa é que durante a remoção de hemicelulose em processo de autohidrólise, o ácido acético liberado promove modificações químicas da lignina, incluindo reações de condensação e repolimerização e impacta negativamente no seu processo de extração.^{55, 76, 77}

Portanto a lignina remanescente de processos de autohidrólise, seguido de hidrólise enzimática é considerada de baixa qualidade para produção de produtos de alto valor agregado. Além disso, a lignina resultante deste processo encontra-se complexada a carboidratos, o que dificulta sua dissolução em solventes próprios para a dissolução de ligninas (soluções aquosas alcalinas, dioxano, etanol, dimetil-sulfóxido, piridina, cloreto de 1-alil-3-metilimidazólio).⁷⁸

Para contornar o problema de modificação química da lignina pela liberação do ácido acético durante processos de autohidrólise, Kilpeläinen *et al.*⁷⁹ sugeriram um processo de autohidrólise com pH controlado. Neste processo, o pH do meio foi ajustado utilizando tampão acetato em uma faixa de 4,2 a 4,6. Isto resultou em um menor rendimento de extração de hemicelulose, entretanto, xilooligosacarídeos com maior massa molar foram obtidos, ou seja, hemicelulose foi extraída em fragmentos maiores.

A lignina proveniente do processo de hidrólise enzimática contém, além dos polissacarídeos complexados, proteínas e sais minerais, os quais dificultam sua conversão direta em compostos de interesse para a indústria química. Entretanto, este obstáculo vem sendo superado pelo uso de N,N-dimetilformamida como solvente.³⁵

Outro exemplo de combinação de processos envolve o uso da extração estendida. Por exemplo, a extração de lignina em um processo *organosolv* sem uso de catalisador deixa cerca de 7-14 % de lignina no sólido remanescente. Essa lignina residual (quimicamente ligada e re-depositada) pode ser extraída em uma etapa complementar, usando etanol alcalino ou peróxido de hidrogênio alcalino, deixando um teor de aproximadamente 0,7% de lignina no sólido remanescente.³³

Romaní *et al.*^{80, 81} sugeriram uma combinação de autohidrólise (para solubilizar hemicelulose), seguido de tratamento *organosolv* para extração de lignina, mantendo a celulose como um sólido, para fracionamento dos componentes principais de eucalipto. Este processo acelera as reações de deslignificação e aumenta a solubilidade de lignina.

Obama *et al.*⁷⁶ avaliaram o efeito da pré-hidrólise enzimática antes de realizar o processo *organosolv*. O prévio tratamento enzimático tornou o material lignocelulósico mais susceptível à remoção de lignina durante o tratamento *organosolv*, atingindo deslignificação de 93%. O uso da pré-hidrólise enzimática, ao invés da autohidrólise, é vantajoso por ser um processo mais suave (menor severidade) e evita repolimerização da lignina, a qual dificulta a posterior extração da lignina *organosolv*.

Azellee *et al.*⁸² avaliaram a extração seletiva da lignina a partir de um processo com duas etapas de tratamento, na primeira etapa utilizou o hidróxido de cálcio para extração, na segunda etapa o ácido peracético, com isso, obtiveram um rendimento de extração de 59% da lignina, mantendo 88% de hemicelulose e 96% de celulose no resíduo sólido sem sofrer extração.

Xiao *et al.*⁵⁵ sugerem que mesmo a lignina obtida como resíduo de um processo de autohidrólise seguido de extração *organosolv* alcalino ainda pode ser aproveitada como matéria prima em uma biorrefinaria, ao invés de ser usada simplesmente como fonte de energia, pois este resíduo ainda mantém uma quantidade apreciável de grupos hidroxilas fenólicos, os quais podem ser usados para a geração de produtos de valor agregado.

Leskinen *et al.*⁷⁸ também avaliaram o isolamento de lignina como um coproduto da produção de bioetanol. O teor de lignina neste sólido remanescente é de aproximadamente 83%. Recuperação de aproximadamente 76% da lignina presente neste coproduto foi obtida usando como base catalisadores no processo de extração reativa (elevadas temperaturas). Entretanto, foi verificado que a extração em condições suaves permite a obtenção de lignina com características mais próximas às de lignina nativa.

Outro estudo de caso envolve a extração de lignina a partir de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por autohidrólise. Neste estudo, aproximadamente 87 % da lignina foi extraída utilizando etanol:água (1:1), em baixa razão líquido:sólido (3 mL/g), o que reduz o gasto de água no processo.⁷⁷

Os processos combinados em um primeiro momento parecem ser o futuro para obtenção das frações da biomassa lignocelulósica de forma que cada uma possa ser usada de forma individualizada e eficiente, no entanto, essas etapas adicionais impactam diretamente custo do processo, seja pelo maior tempo de processamento, uso de mais reatores e etapas de separação.

Muitos dos estudos de caso descritos anteriormente não utilizaram eucalipto como biomassa. Lembrando que o rendimento e qualidade da lignina extraída dependem das condições operacionais do processo, porém dependem também do tipo de biomassa utilizada. Portanto, tais estudos são úteis apenas para sondar quais tipos de processos e condições operacionais são mais adequados para a biomassa de interesse. Para uma avaliação mais rigorosa dos processos que vem sendo utilizados para a extração de lignina de eucalipto, a Tabela 3 foi construída com dados de rendimento e condições operacionais. Dentre os processos descritos na Tabela 3 que utilizam o eucalipto como biomassa, damos destaque para aqueles que utilizam *organosolv*.

Li *et al.*⁵⁴ que realizaram um processo combinado com *organosolv* (etanol 70%), seguido de NaOH (1.0-5.0%), na temperatura de 80 °C, com razão líquido:sólido de 20:1, no tempo de 120 minutos.

Yañez *et al.*⁶⁸ trabalharam com *organosolv* (etanol 50%), na temperatura de 200 °C, com razão líquido:sólido de 6:1, no tempo de 90 minutos e com isso obtiveram um rendimento de extração de lignina de 63%.

Romaní *et al.*⁸⁰ realizaram um processo combinado com autohidrólise seguida de *organosolv* (etanol 60%), com a temperatura variando entre 180-200°C, com razão líquido:sólido de 8:1, no tempo de 60 minutos e com isso obtiveram um rendimento de extração de lignina de 81%.

Levando em conta o gasto energético, utilização de etanol e rendimento de extração da lignina o trabalho realizado por Romaní *et al.*⁸⁰ tem destaque como o mais promissor dentre os apresentados, portanto, com base no que foi apresentado nesta revisão e afim de obter resultados melhores, este trabalho foi desenvolvido utilizando apenas *organosolv* (etanol 30-70%), com a temperatura variando entre 180-220°C, com razão líquido:sólido de 10:1, no tempo de 60 minutos.

Tabela 3. Condições de operação de processos de extração de lignina.

| Sistema de solvente | Temperatura (°C) | Razão líquido:sólido | Tempo de reação (min) | Rendimento de extração*(%) | Referência |
|--|------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|--|
| Alcalino (15% NaOH, base biomassa seca) | 175 | 2:1 | 105 | 40 | Carvalho <i>et al.</i> ²⁶ |
| Kraft (álcali ativo 15%) | 160 | 4:1 | 210 | 38 | Pinto <i>et al.</i> ⁵² |
| Extração sequencial com <i>organosolv</i> (etanol 70%) e NaOH (1.0-5.0%) | 80 | 20:1 | 120 | - | Li <i>et al.</i> ⁵⁴ |
| Cloreto de 1-alil-3-metilimidazol seguido de <i>organosolv</i> (etanol 70%) com NaOH 1M | 120 | 17:1 | 180 | 35 | Xu <i>et al.</i> ⁸³ |
| <i>Organosolv</i> (etanol 50%) | 200 | 6:1 | 90 | 63 | Yañez <i>et al.</i> ⁶⁸ |
| Ácido fórmico, 79-84-92% (v/v), com HCl, 0,22% (m/v) | 95 | 30:1 | 90 | 80 | Erismann <i>et al.</i> ⁶⁰ |
| Autohidrólise seguido de <i>organosolv</i> (etanol 60%) | 180-200 | 8:1 | 60 | 81 | Romaní <i>et al.</i> ⁸⁰ |
| Metil-isobutil-cetona:metanol:água (25:42:33), com H ₃ PO ₄ 5% | 180 | 6:1 | 60 | 13 | Klamrassamee <i>et al.</i> ⁷³ |
| Glicerol:água (56,2%) | 200 | 10:1 | 68,8 | 64 | Romaní <i>et al.</i> ⁸¹ |

CAPÍTULO 3
MATERIAL E MÉTODOS

Uma representação esquemática do processo *organosolv* e as etapas de separação e análise das frações líquidas e sólidas geradas são vistas no fluxograma da Figura 8, sendo que cada etapa será detalhada ao longo do presente capítulo.

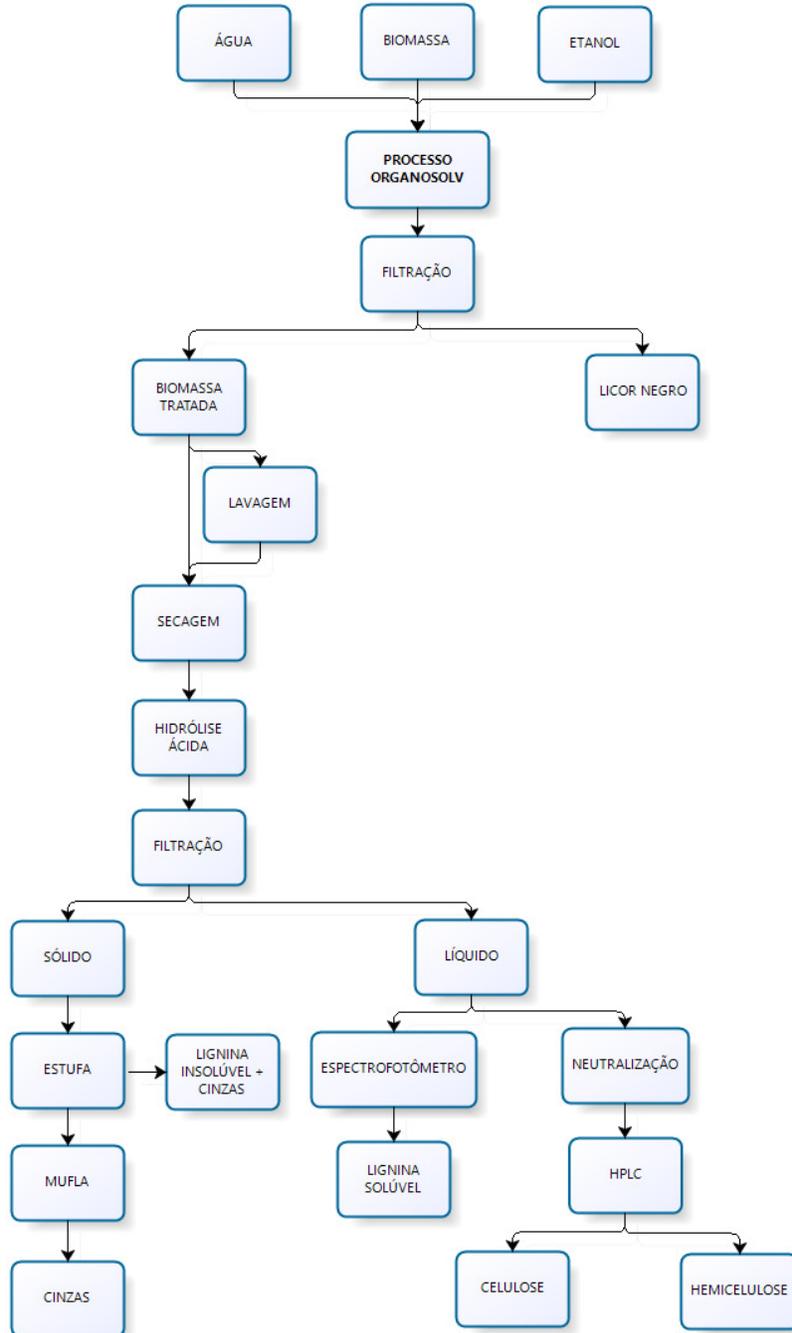


Figura 8. Fluxograma simplificado do processo *organosolv* e das etapas posteriores de tratamento/análise das frações obtidas.

3.1. MATERIAL

REAGENTES

- Eucalipto da espécie *Eucalyptus grandis* (Embrapa Florestas);
- Álcool etílico (C₂H₅OH) (Lambipex, 99,8%);
- Água ultra pura (Mili-Q);
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) (Synth, 98%);
- Carbonato de cálcio (Vetec, 98%);
- Hélio (IBG, 99,99%);
- Oxigênio (IBG, 99,99%);
- Acetanilida (LABDEL, 99%);
- Glicose (Sigma, 99,5%), galactose (Sigma, 99%), xilose (Sigma, 99%), arabinose (Sigma, 99%) e manose (Sigma, 99%).

EQUIPAMENTOS

- Reator Parr 5100 (capacidade de 1L) com controlador Parr 4848;
- Moinho triturador de madeiras com 24 Facas (LIPPEL, GXC 3280E);
- Moinho de facas tipo Willye (Macor Star FT-60);
- Moinho portátil (IKA, A141);
- Analisador CHNS/O (Perkin Elmer, modelo PE2400, Series II);
- Extrator Soxhlet (Marconi, MA-487);
- Balão de vidro (UNIGLAS, 1000 mL);
- Bandejas de plástico;
- Funil de Buchner (Unilab, Ø15 cm);
- Sistema de filtração composto de: Kitazato de vidro (2000 mL); Papel filtro qualitativo (Unifil, C41, Ø15 cm); Bomba a vácuo (Buchi, V-700);
- Béqueres de plástico e vidro (2000 mL);
- Estufa com circulação e renovação de ar (Marconi, MA035);
- Balança analítica (Shimadzu, AUW220D);
- Cadinhos *gooch* (Porosidade nº 4);

- Tubos de pressão (Ace glass incorporated, #15);
- Banho maria com circulação externa (Cienlab);
- Bastões de vidro;
- Dessecador (CHIAROTTI, 180);
- Espectrofotômetro de UV-visível (Shimadzu, UV 1800);
- Centrífuga (Herolab, R-210);
- Forno Mufla (Quimis, Q318S25T);
- HPLC (High performance liquid chromatography) (Shimadzu, DGU-20ASR);
- Autoclave vertical (Prismatec, modelo CS);
- Agitador de peneiras (Bertel, 3494).

3.2. MÉTODOS

3.2.1. PREPARO DA BIOMASSA *IN NATURA*

Amostras de madeira de eucalipto da espécie *Eucalyptus grandis*, proveniente da região entre Ponta Porã e Dourados – MS, fornecidas pela Embrapa Florestas em forma de cavaco, foram processadas em moinho triturador de facas (LIPPEL, modelo GXC 3280E) para redução de tamanho. Em seguida, utilizou-se o moinho de facas tipo Willye (Macor Star FT-60) para obtenção de partículas mais finas de madeira. A distribuição de tamanho das partículas de madeira foi avaliada em um agitador de peneiras (Bertel, modelo 3494). As peneiras utilizadas possuíam aberturas de 2; 0,85; 0,25; 0,18 e 0,11mm.

3.2.2. COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DA BIOMASSA *IN NATURA*

A composição elementar da biomassa *in natura* (Bin) foi determinada por CHN (carbono, hidrogênio e nitrogênio), as amostras foram feitas em triplicata, utilizando um analisador CHN/O (Perkin Elmer, modelo PE2400, Series II). O analisador foi operado com coluna de combustão na temperatura de 925 °C, coluna de redução em 650°C, utilizando hélio (IBG, 99,99%) como gás de arraste e como gás comburente o oxigênio (IBG, 99,99%). A calibração foi realizada com padrão de acetanilida (LABDEL, 99%). Foram utilizadas amostras de 2 a 3mg de biomassa moída, previamente seca em estufa (Marconi, MA 035) a 105 °C até massa constante.

3.2.3. EXTRATIVOS DA BIOMASSA *IN NATURA*

Os extrativos presentes na biomassa *in natura* (Bin) foram determinados empregando o método NREL (*National Renewable Energy Laboratory*)/TP-510-42619 (*Determination of Extractives in Biomass*) com adaptações via técnica Soxhlet.⁸⁴ Antes do desenvolvimento da metodologia com as amostras de biomassa *in natura*, alguns cartuchos foram testados para determinar qual se aplicava melhor à técnica de extração (Apêndice A). Os cartuchos testados foram: papel filtro, cartucho de celulose, filtro de pano e cadinhos gooch (n°4). O teste foi realizado sem presença de biomassa para comparar a massa de entrada e saída dos cartuchos, de tal forma que o cartucho ideal para os experimentos seria aquele que não apresentasse perda de massa durante o processo de extração, para que quando utilizasse a biomassa, essa perda não influenciasse no cálculo dos extrativos.

Por volta de 2,5g de biomassa foi adicionado aos cadinhos gooch (n°4) previamente pesados, em seguida foram pesados em balança analítica (Shimadzu, AUW220D) e depois adicionados ao extrator (Marconi, MA-487). Em um balão de vidro (1500 mL) em contato com a manta de aquecimento, presente na parte inferior do extrator, foi adicionado 1000 mL de água. Os seguintes experimentos foram realizados:

Tabela 4. Experimentos para determinação de extrativos.

| Experimentos | Tempo de extração (h) | Ciclos (min) |
|--------------|-----------------------|--------------|
| 1 | 23 | 15 |
| 2 | 25 | |
| 3 | 48 | |
| 4 | 96 | |
| 5 | 96 | |

Após o tempo de extração decorrido, os cadinhos contendo as amostras foram encaminhados para estufa a 40 °C, onde permaneceram até massa constante. Em seguida foram colocados no dessecador até esfriar e por fim foram pesados em balança analítica (Shimadzu, AUW220D) para obtenção da massa final. Para o cálculo dos extrativos presentes na biomassa, foi determinada a diferença entre a massa inicial e a massa final em base seca. Essa análise foi realizada apenas para a amostra de madeira *in natura* com o intuito de quantificar os extrativos para posterior utilização nos cálculos de rendimento do processo.

3.2.4. CINZAS DA BIOMASSA *IN NATURA*

O método NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*) com adaptações (adicionando a biomassa *in natura* direto ao forno mufla) foi desenvolvido para determinar o teor de cinzas da biomassa *in natura* (Bin) submetendo uma amostra de 12 g à queima em um forno mufla (Quimis, modelo Q318S25T), conforme a rampa de temperatura apresentada na Figura 10. As massas antes e após a queima foram determinadas utilizando uma balança analítica (Shimadzu, AUW220D) e a análise foi realizada em triplicata.

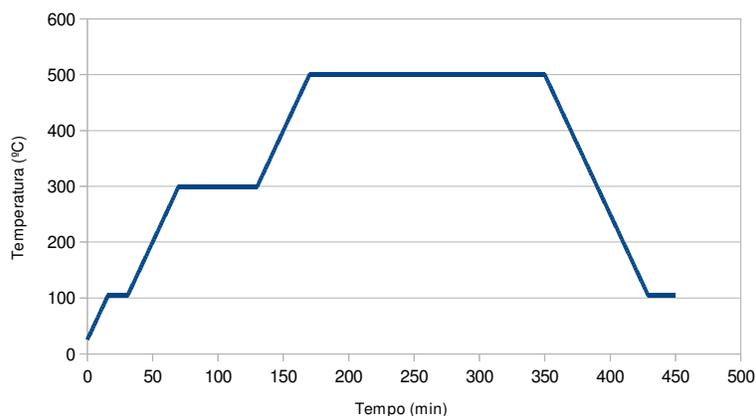


Figura 9. Rampa de aquecimento para determinação de cinzas em eucalipto *in natura*.

O forno mufla inicialmente a 25°C foi aquecido (5 °C/min) até chegar em 105°C, onde permaneceu por 15 minutos, seguido de aquecimento a uma taxa 5 °C/min até alcançar 300°C, onde ficou por 1 hora, depois aquecido (5 °C/min) até 500°C, permanecendo por 3 horas. Em seguida sua temperatura foi reduzida (5 °C/min) até 105°C e mantida até o momento de retirada das amostras para pesagem.

As três amostras de cinzas foram misturadas e sua composição foi determinada pelo método desenvolvido pela Central Analítica do Instituto de Química da UnB⁸⁵ realizado por espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (XRF/EDX) (Shimadzu, EDX 720HS) operado em medição a vácuo com canais de medição Ti-U e Na-Sc, orientação paisagem de exibição multicanal, na forma de metal e grupo de sistema de referência sysmetal, para exibição em pico. Para adição da amostra ao equipamento foi utilizado um porta amostra de 5mm coberto por filme de polipropileno.

3.2.5. PROCESSO *ORGANOSOLV*

O processo *organosolv* foi conduzido em um reator Parr modelo 5100 com vaso em aço inox (T316) de 1L. O controle da temperatura e da agitação mecânica foi feito pelo controlador Parr modelo 4848. O reator e o controlador são apresentados na Figura 10.

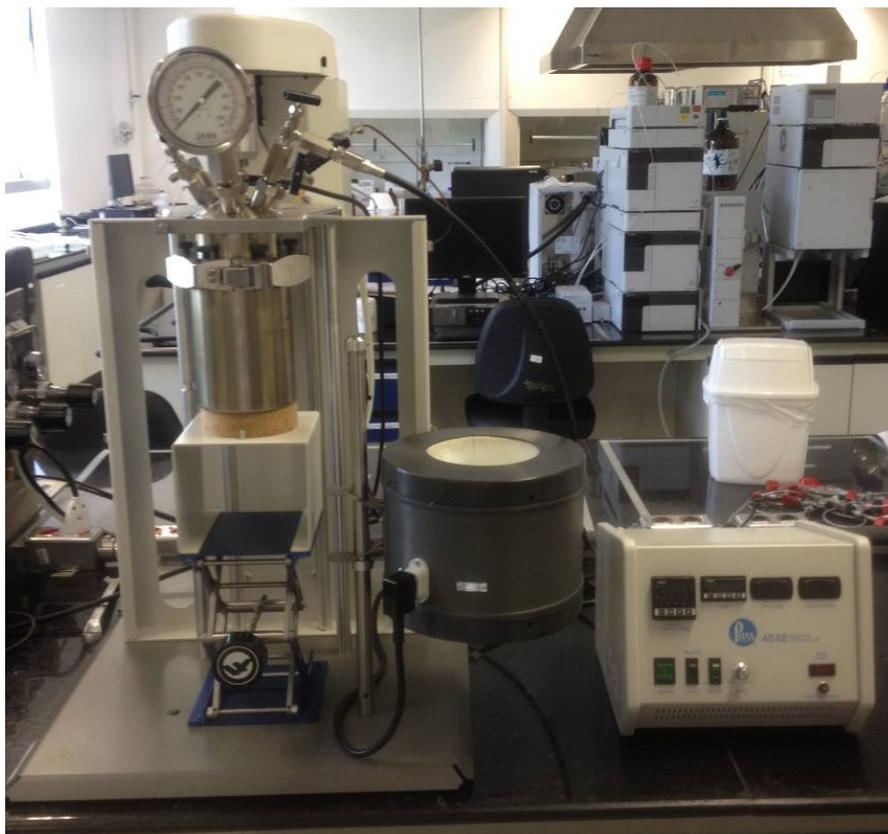


Figura 10. Reator Parr 5100 com controlador Parr 4848.

A avaliação do efeito da relação etanol/água e da temperatura sobre a obtenção de celulose extraíndo hemicelulose e lignina, foi realizada com base em um planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, totalizando 15 experimentos. As temperaturas do processo foram estudadas entre 180 e 220 °C, sendo 200 °C o ponto central. O volume (700 mL) da mistura (etanol/água) foi mantido constante em todos os experimentos, variando somente a relação etanol/água em 30, 50 e 70% (v/v). A carga de biomassa (*Eucalyptus grandis*) moída foi de 70g em todos os experimentos [1:10 (m/v) em relação a mistura]. O tempo de reação foi mantido em 1 hora. A frequência de agitação do reator foi mantida em 800 rpm, utilizando um agitador do tipo hélice de palhetas inclinadas. A pressão variou entre

1 e 4MPa. A Tabela 5 apresenta os níveis reais e os níveis codificados das condições de operação do planejamento fatorial 2^2 com ponto central em todos os experimentos.

Tabela 5. Experimentos do planejamento experimental fatorial 2^2 com ponto central realizados em triplicata.

| Experimento | Níveis codificados | | Níveis reais | |
|-------------|--------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|
| | Temperatura (°C) | Relação etanol/água (%) (v/v) | Temperatura (°C) | Relação etanol/água (%) (v/v) |
| 1 | 0 | 0 | 200 | 50 |
| 2 | -1 | -1 | 180 | 30 |
| 3 | 1 | -1 | 220 | 30 |
| 4 | -1 | 1 | 180 | 70 |
| 5 | 1 | 1 | 220 | 70 |

Terminado o tempo do processo *organosolv*, o reator foi resfriado com o auxílio de um béquer com gelo e duas frações obtidas, uma fração sólida (FS) e uma fração líquida (FL), foram recolhidas para as análises, a fração sólida foi separada da fração líquida por filtração a vácuo. Nesta etapa foi utilizado uma bomba a vácuo (Buchi, V-700), kitazato (2000 mL), funil de Buchner (Unilab, Ø15 cm) e papel de filtro qualitativo (Ø15 cm).

3.2.5.1. BIOMASSA TRATADA (FRAÇÃO SÓLIDA)

Ao final do processo *organosolv* a fração sólida (FS) obtida da filtração a vácuo foi submetida a uma etapa de lavagem resultando na fração sólida lavada (FSL). Em um experimento de cada condição de operação a massa da fração sólida foi seca e pesada antes da etapa de lavagem. Esta pesagem foi realizada a fim quantificar a diferença na massa da fração sólida sem e com etapa de lavagem.

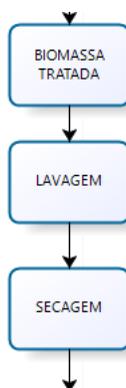


Figura 11. Etapa de preparação da biomassa para caracterização.

A etapa de lavagem foi realizada, pois a fração sólida contém muitos componentes ligados fisicamente, por exemplo, parte da lignina que é solubilizada no processo *organosolv* é precipitada na fração sólida (componentes macromoleculares que não foram solubilizados) quando a temperatura é reduzida para a abertura do reator. A fim de quantificar melhor a extração dos componentes esta etapa foi adicionada ao processo. A lavagem foi realizada com 2 litros de água e 1 litro de etanol, seguida do mesmo processo de filtração a vácuo citado anteriormente. A temperatura da mistura de água e etanol foi de 60°C.

As amostras de FSL foram secas em estufa (Marconi, MA 035) a 40°C até massa constante. Em seguida foram trituradas em moinho portátil (IKA, modelo A141), para reduzir o tamanho da partícula e garantir uma hidrólise completa.

3.2.5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPONENTES MACROMOLECULARES DA BIOMASSA TRATADA E *IN NATURA*

A caracterização dos componentes macromoleculares da biomassa tratada lavada (FSL) do planejamento experimental foi analisada. A biomassa *in natura* também foi analisada em triplicata. Um total de 18 amostras foram analisadas seguindo a metodologia da NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*) que é descrita nos itens a seguir.⁸⁶ O método recomenda que seja feito o teor de umidade das amostras para corrigir os valores para base seca.

MATÉRIA SECA DA BIOMASSA

O teor de matéria seca (% MS) foi determinado por análise gravimétrica. Cadinhos gooch (porosidade n° 4) foram secos durante 2 horas em estufa (Marconi, modelo MA 035) a 105 °C. Após isso foram resfriados até a temperatura ambiente em dessecador e pesados em balança analítica (Shimadzu, modelo AUW220D). Cerca de 0,3 g das amostras secas das FSL armazenadas após processo *organosolv* e amostras da biomassa *in natura* (Bin) foram pesadas nos cadinhos, em seguida foram colocados e deixados em estufa à 105 °C *overnight*. Depois de retirados da estufa, os cadinhos com o resíduo de matéria seca foram colocados para esfriar em dessecador até temperatura ambiente e pesados em balança analítica. A massa dos cadinhos com o resíduo de matéria seca foi então registrada.

HIDRÓLISE ÁCIDA

A hidrólise ácida foi realizada pela metodologia NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*) adaptado.⁸⁶ As amostras FSL (fração sólida lavada) e Bin (biomassa *in natura*) foram submetidas à hidrólise ácida a fim de desconstruir toda celulose e hemicelulose, e parte da lignina, ainda presentes na amostra. Após a hidrólise ácida são obtidos um líquido onde estão presentes os açúcares constituintes de celulose (glicose) e hemicelulose (xilose, galactose, manose e arabinose) e os fragmentos de lignina que foram solubilizados (lignina solúvel), e um sólido que contém a lignina insolúvel e as cinzas (Figura 12).

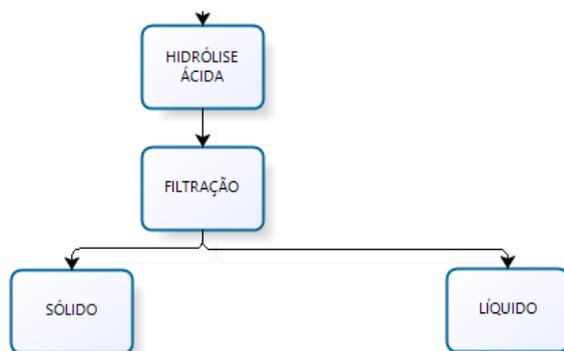


Figura 12. Etapa de hidrólise ácida e separação das suas frações sólida e líquida.

Em uma balança analítica (Shimadzu, modelo AUW220D), foram pesados 0,30 g da amostra. As amostras foram transferidas para tubos de vidro (Ace Glass Incorporated, #15) e foram adicionados 3mL de ácido sulfúrico 72%. Em seguida os tubos foram colocados em banho (Cienlab) a 30°C por 60 minutos. Usando um bastão de vidro por tubo, as amostras foram homogeneizadas a cada 10 minutos, sem remover os tubos do banho. Ao final do tempo, os tubos foram retirados do banho e 84 mL de água ultra pura foram adicionados a cada tubo. Os tubos foram fechados, agitados para homogeneizar a solução e levados para uma autoclave (Primatec, modelo CS) por 60 minutos, a 121 °C. Os tubos então foram retirados e resfriados em água a temperatura ambiente para na sequência serem filtrados.

O conteúdo dos tubos foi filtrado em um sistema à vácuo utilizando cadinhos gooch previamente tarados em estufa, resultando em uma parte líquida (licor filtrado) e uma parte sólida (resíduo sólido da hidrólise ácida).

RESÍDUO SÓLIDO DA HIDRÓLISE ÁCIDA

A parte sólida (lignina insolúvel e cinzas) que sobra da hidrólise ácida foi analisada seguindo o método do NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*). A lignina insolúvel é determinada pela diferença entre a massa inicial e final da amostra após a queima em forno mufla, enquanto que as cinzas são o resíduo final (Figura 13).

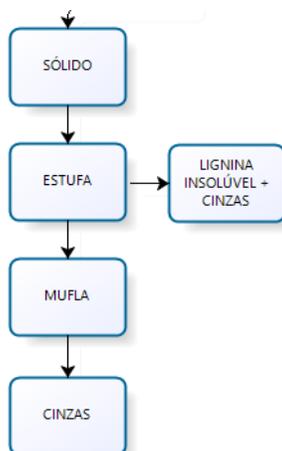


Figura 13. Etapa de caracterização da lignina insolúvel e as cinzas.

A lignina insolúvel e as cinzas ficam retidas nos cadinhos gooch após a filtração. Parte dos sólidos que ficaram aderidos nas paredes do tubo foram removidos com água ultra pura. Os cadinhos foram então lavados com no mínimo 50 mL de água destilada aquecida. As bordas e a parte de baixo dos cadinhos também foram lavadas para remover todo ácido.

Os cadinhos com o resíduo sólido foram colocados e deixados em estufa a 105 °C até atingir massa constante. Depois de retirados da estufa, os cadinhos foram colocados para esfriar em dessecador até temperatura ambiente e pesados em balança analítica. Em seguida os cadinhos foram levados a mufla (Quimis, modelo Q318S25T) e submetidos ao programa de aquecimento, conforme descrito na Figura 9. Os cadinhos foram retirados da mufla e deixados no dessecador por 1 hora até temperatura ambiente.

Para a quantificação da lignina total presente nas amostras analisadas foi calculado a lignina solúvel em base seca, assim como a lignina insolúvel em base seca. A lignina solúvel é aquela encontrada na fração líquida após hidrólise ácida, enquanto que a lignina insolúvel é obtida da fração sólida após hidrólise ácida.

O teor de lignina insolúvel foi determinado pela Equação 1.

$$Lignina_{insol} = \left(\frac{C_e - C_m}{M_s} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

onde, C_e é a massa do cadinho com resíduo sólido que sai da estufa (g), C_m é a massa do cadinho com resíduo sólido que sai da mufla (g) e M_s é a massa da amostra seca utilizada na hidrólise ácida (g).

LICOR FILTRADO

O licor filtrado, obtido da hidrólise ácida, foi coletado em tubos Falcon (50 mL) e parte deste foi analisado seguindo o método do NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*) para determinação da lignina solúvel. A análise foi realizada em triplicata, no espectrofotômetro de UV-visível (Shimadzu, modelo UV 1800) no comprimento de onda de 240 nm, utilizando uma solução de ácido sulfúrico 4% como branco (Figura 14). As diluições usadas (*volume de amostra:volume de branco*) ($V_a:V_b$) e as absorbâncias lidas no equipamento foram utilizadas no cálculo da lignina solúvel.

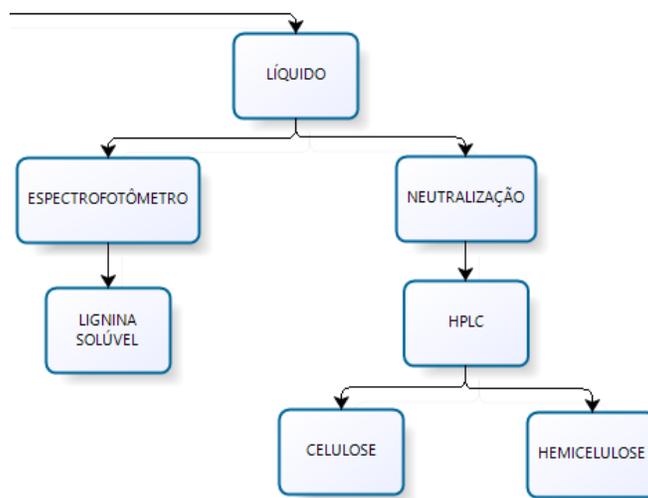


Figura 14. Análise da fração líquida após hidrólise ácida.

O teor de lignina solúvel foi determinado pela Equação 2.

$$Lignina_{sol} = \left(\frac{(\bar{Y} - \beta) \cdot V_i \cdot (V_a + V_b)}{12 \cdot M_s} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 2}$$

onde, \bar{Y} é a média das leituras de absorbância realizadas no espectrofotômetro do licor filtrado, β é a leitura no espectrofotômetro da absorbância do branco, V_i é o volume

total em litros da mistura de 3 mL de ácido sulfúrico e 84 mL de água destilada usados para realizar a hidrólise ácida, V_a é o volume da amostra utilizada para análise no espectrofotômetro, V_b é o volume do branco utilizado para diluição da amostra para leitura no espectrofotômetro, 12 é a constante de absorvidade (L/g cm) da lignina em ácido no comprimento de onda de 240 nm e M_s é a massa da amostra seca utilizada na hidrólise ácida (g).

Uma outra parte do licor foi neutralizada com carbonato de cálcio (P.A., 98%), centrifugado em centrífuga de bancada (Herolab, modelo R-210), filtrado em filtro de seringa (0,22 μ m) e adicionados a vials para análise dos carboidratos estruturais no HPLC (*high performance liquid chromatography*).

A fração líquida da hidrólise ácida da biomassa (seja oriunda do *organosolv* ou *in natura*) contém os açúcares que constituíam a hemicelulose e celulose presentes na amostra, dessa forma a quantificação desses por HPLC permite calcular a quantidade original de cada um dos polímeros. Os açúcares que constituem a hemicelulose são: xilose, arabinose, manose e galactose, enquanto que a celulose é unicamente constituída de glicose.

A quantificação dos açúcares pelo método NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*) adaptado em relação ao tempo de corrida, foi realizada em um HPLC (Shimadzu, DGU – 20ASR, software Labsolutions) equipado com um detector RID (*Refractive Index Detector*). Amostras de 10 μ L foram injetadas e separados em uma coluna Aminex HPX-87P (com pré-coluna) com uma vazão de 0,6 mL/min de fase móvel (água ultra pura). O forno da coluna e o detector foram mantidos a 85 °C. No método utilizado, o tempo de corrida para cada amostra foi de 32 minutos.

De forma a correlacionar as áreas de cada pico correspondentes aos açúcares das amostras é necessário construir uma curva de calibração para cada açúcar presente. As amostras utilizadas para construção curvas de calibração foram elaboradas com glicose (Sigma, 99,5%), galactose (Sigma, 99%), xilose (Sigma, 99%), arabinose (Sigma, 99%) e manose (Sigma, 99%) nas seguintes concentrações em água ultra pura: glicose (0,06; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 g/L), xilose (0,06; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 e 1,2 g/L), galactose, manose e arabinose (0,01; 0,03; 0,06; 0,08; 0,11; 0,13 e 0,15 g/L). As curvas de calibração obtidas são apresentadas no Apêndice D.

A partir dos cromatogramas das amostras e das curvas de calibração estabelecidas para cada um dos açúcares é possível determinar a concentração desses e por fim retornar à quantidade de celulose e hemicelulose presentes na amostra original. Primeiramente os resultados da massa de glicose, xilose, arabinose, manose e galactose foram ajustados ao volume total adicionado na hidrólise ácida.

O cálculo da massa dos açúcares poliméricos (celulose e hemicelulose) foi feito a partir da massa dos açúcares monoméricos correspondentes, utilizando fatores de conversão (descritos na metodologia do NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*)) dos monossacarídeos para sua forma anidra. Para a conversão da glicose em glucana, galactose em galactana e manose em manana foi usado o fator de 0,90, para a conversão da xilose em xilana e arabinose em arabinana foi usado o fator de 0,88.

Após realizar a conversão, os teores de cada carboidrato estrutural foram calculados com base na massa da amostra seca utilizada na hidrólise ácida. A celulose presente na biomassa tratada é expressa pela quantidade de glucana presente em base seca. A hemicelulose presente na biomassa tratada é a soma das quantidades de galactana, xilana, manana e arabinana presentes em base seca.

3.2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as análises realizadas em triplicata foi calculado a média, o desvio padrão e os intervalos de confiança das médias e variâncias (Equações 3 e 4), com um limite de confiança de 95%.⁸⁷

$$M - t \cdot \left(\frac{S_1}{\sqrt{N}} \right) < \mu_1 < M + t \cdot \left(\frac{S_1}{\sqrt{N}} \right) \quad \text{Equação 3}$$

$$(N - 1) \cdot \left(\frac{S_1^2}{\chi^2} \right) < \sigma_1^2 < (N - 1) \cdot \left(\frac{S_1^2}{\chi^2} \right) \quad \text{Equação 4}$$

onde, M é a média dos resultados analisados em triplicata, S_1 é o desvio padrão das análises, S_1^2 é a variância, N é o número de amostras pelo qual vão ser calculado os intervalos, t são os valores da tabela de distribuição t , para o limite de 95% de confiança ($P_{AC}(t_1;2) = 0,025$ e $P_{AC}(t_2;2) = 0,975$) e χ^2 são os valores da tabela de distribuição χ^2 , para o limite de 95% de confiança ($P_{AC}(t_1;2) = 0,025$ e $P_{AC}(t_2;2) = 0,975$).

A partir dos dados obtidos de quantidade de cada componente extraído apresentados na Tabela 16 (ver dados em negrito) foi realizada análise estatística utilizando o software *Stat Soft Statistica 10 Enterprise* para verificar a significância das variáveis de processo (relação de etanol/água e temperatura) e a influência das mesmas sobre a capacidade de extração da celulose, hemicelulose e lignina. A partir destes resultados foram gerados no software, os gráficos de valores preditos x observados e dígramas de Pareto, para cada componente (lignina, celulose e hemicelulose) extraído em análise são apresentados a seguir.

CAPÍTULO 4
RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. PREPARO DA BIOMASSA

A Figura 15 apresenta a distribuição do tamanho da partícula da biomassa *in natura* realizada em um agitador eletromagnético de peneiras (Bertel, modelo 3494) com 5 peneiras de granulometria 2, 0,85, 0,25, 0,18 e 0,11mm.

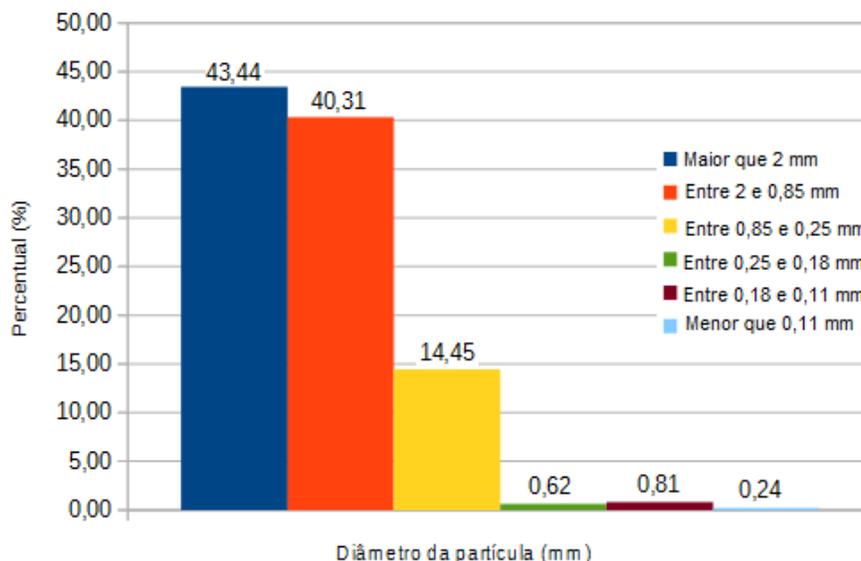


Figura 15. Distribuição de tamanho das partículas da biomassa moída.

A maior fração da biomassa utilizada no processo apresentava granulometria média por volta de 2mm, o restante apresentou tamanho inferior.

4.2. COMPOSIÇÃO ELEMENTAR, EXTRATIVOS E CINZAS DA BIOMASSA *IN NATURA*

A partir da análise de CHN no analisador CHNS/O (Perkin Elmer, modelo PE2400, Series II), foi obtida a composição química dos elementos (carbono, hidrogênio e nitrogênio) presentes na biomassa *in natura*. A Tabela 6 apresenta os resultados da análise realizada em triplicata.

Tabela 6. Resultados da análise em triplicata de CHN do *Eucalyptus grandis*.

| Amostra | Massa (g) | Carbono(%) | Hidrogênio(%) | Nitrogênio(%) |
|---------------|-----------|------------|---------------|---------------|
| 1 | 2,187 | 46,38 | 5,98 | 0,02 |
| 2 | 3,319 | 46,46 | 6,32 | 0,02 |
| 3 | 2,539 | 46,89 | 6,19 | 0,00 |
| Média | | 46,58 | 6,16 | 0,01 |
| Desvio Padrão | | 0,27 | 0,17 | 0,02 |

Os resultados obtidos apresentam um percentual médio de 46,58% de carbono, 6,16% de hidrogênio e 0,01% de nitrogênio. Os resultados encontrados se apresentam dentro da faixa observada em dados da literatura apresentados por Macêdo, L.²², onde o percentual de carbono varia entre 40 e 50%, o hidrogênio entre 5,5 e 6,5% e o nitrogênio entre 0,1 e 1,7%. Algumas diferenças são encontradas na literatura devido a falta de padronização das análises, visto que, algumas análises são realizadas a partir da madeira seca e outras a partir da madeira seca e isentas das cinzas.²²

Antes de realizar o cálculo dos extrativos presentes na biomassa *in natura* através do método de Soxhlet, descrito no capítulo 3, foram realizados testes para escolher o cartucho ideal para o método. O teste e seus resultados são apresentados no Apêndice A. Os resultados obtidos do teor de extrativos presentes na biomassa *in natura* estão descritos na Tabela 7 e apresentados na forma de gráfico na Figura 16.

Tabela 7. Cálculo do percentual de extrativos presentes na biomassa *in natura*.

| Cálculos de extrativos para o <i>Eucalyptus grandis</i> | | |
|---|-----------------------|---------------|
| Experimentos | Tempo de extração (h) | Extrativos(%) |
| 1 | 24 | 0,80 |
| 2 | 25 | 0,80 |
| 3 | 48 | 0,84 |
| 4 | 96 | 1,40 |
| 5 | 96 | 1,41 |

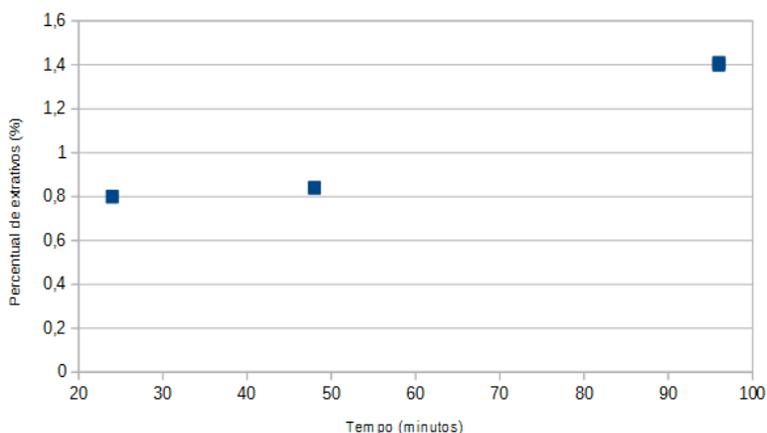


Figura 16. Percentual de extrativos presentes na biomassa *in natura*.

Nos tempos de 24 e 48 horas os resultados do percentual de extrativos foram valores próximos a 1%. Aumentado o tempo para 96 horas o resultado obtido foi próximo a 1,5% de extrativos (gorduras, resinas, terpenos e fenóis) presentes na biomassa. Tempos maiores não são ideais, pois a hemicelulose é facilmente removida,

podendo interferir nos resultados dos extrativos. E como foi alcançado no tempo de 96 horas um percentual próximo da literatura, foi decidido parar. A faixa reportada na literatura fica entre 0 e 20% de extrativos em materiais lignocelulósicos no geral e por volta de 2% em eucalipto em base seca.³⁹

A quantificação das cinzas presentes na biomassa *in natura* foi obtida a partir de um cálculo da triplicata da metodologia descrita no item 3.2.4. Os resultados obtidos apresentam uma média de 0,46% de cinzas, com um desvio padrão de 0,02%. Quanto menor a quantidade de cinzas, melhor resultado do fracionamento, pois menores serão os componentes indesejados. Os percentuais de cinzas encontrados em dados da literatura ficam entre 0,1 e 1% da madeira de eucalipto.³⁹

Após serem quantificadas as cinzas foram misturadas e a partir da análise de EDX, foram encontrados 19 elementos químicos presentes nas cinzas após a queima da biomassa (Tabela 8). A madeira de clima temperado é composta em sua maior parte por potássio, cálcio e magnésio. Já em madeiras de clima tropical podem ser encontrados outros elementos em maior quantidade, como por exemplo, o silício.³⁹

Tabela 8. Resultado da composição elementar das cinzas.

| Composição das cinzas (%) | |
|----------------------------------|--------|
| K | 34,186 |
| Ca | 26,139 |
| Si | 12,945 |
| Al | 10,277 |
| Fe | 4,411 |
| Mg | 2,743 |
| Mn | 2,555 |
| S | 2,112 |
| P | 2,041 |
| Ti | 1,694 |
| Ni | 0,364 |
| Cr | 0,147 |
| Zn | 0,141 |
| Cu | 0,122 |
| Rb | 0,046 |
| Sr | 0,038 |
| Mo | 0,036 |
| Zr | 0,004 |
| Y | 0,002 |

4.3. FRACIONAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

Os experimentos foram realizados conforme a metodologia apresentada no Capítulo 3, seguindo o planejamento experimental proposto (2^2 + ponto central, com triplicata em todas as condições para uma melhor estimativa do teor do analito na amostra), totalizando dessa forma 15 experimentos. A rampa de aquecimento está apresentada na Figura 17. Para cada um dos experimentos realizados foi separada uma fração sólida (FS) e uma fração líquida (FL), cada uma contendo uma parte da celulose, hemicelulose e lignina presentes na amostra inicial de biomassa *in natura*. A fração sólida submetida a uma etapa adicional de lavagem (FSL) e posteriormente seca até massa constante. Essas amostras foram então analisadas conforme as metodologias propostas no capítulo anterior.

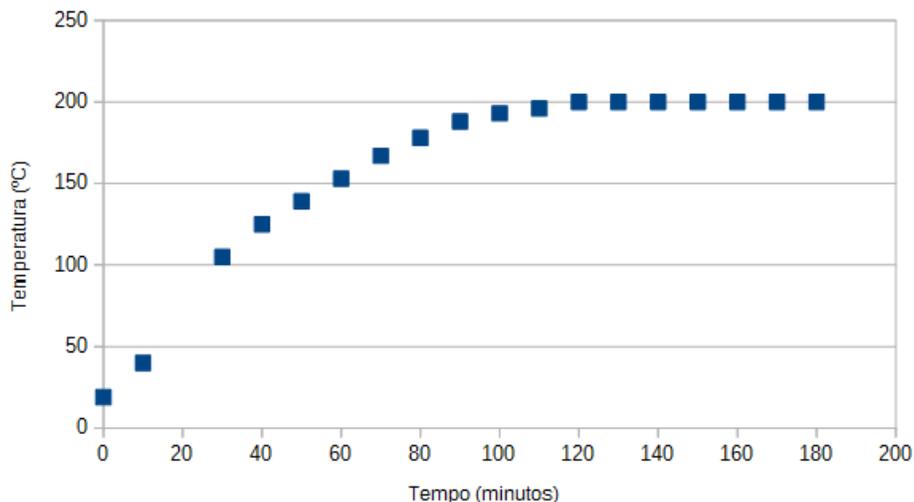


Figura 17. Rampa de aquecimento no reator Parr ao longo das reações, nesse caso

$$E_{(50,200)(1)}.$$

Durante todos os experimentos o reator Parr apresentou perfis similares de temperatura, como ilustrado na Figura 17 e se manteve estável durante todo o tempo de processo (1 hora). A Figura 18 apresenta as frações sólidas obtidas no processo *organosolv* nas condições de operação do planejamento experimental proposto. É notável a diferença das frações sólidas obtidas em cada condição experimental. Nas condições onde a temperatura foi mais alta nota-se uma coloração mais clara da fração sólida, nas condições de 70% etanol/água e 180°C a fração apresenta coloração mais escura, além disso, tem aspecto mais próximo da biomassa *in natura*.

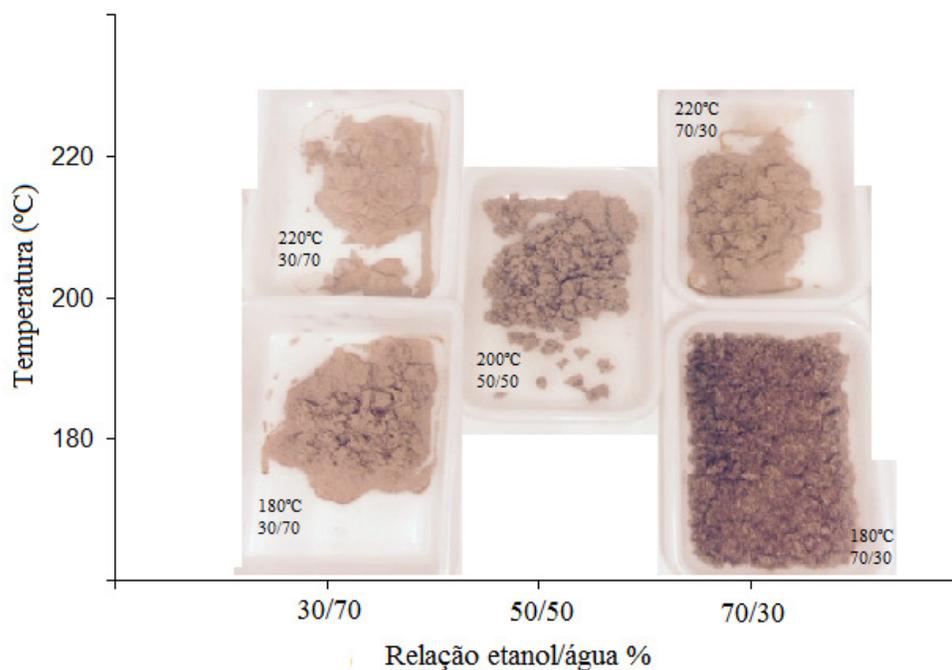


Figura 18. Frações sólidas obtidas no processo *organosolv* em função da temperatura e relação etanol:água.

Para realizar a quantificação em massa dos componentes (celulose, hemicelulose e lignina) presentes na biomassa tratada (FSL) após o processo *organosolv* foi necessário ter conhecimento das massas da biomassa *in natura* de entrada em cada experimento realizado e a massa total da fração sólida lavada (FSL) obtida de cada experimento. Além destas, as massas da fração sólida (FS) em 5 experimentos para demonstrar a diferença de massa gerada sem a etapa de lavagem, foram quantificadas.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 9 pode notar que a massa da biomassa tratada foi reduzida com a etapa de lavagem, o que indica que a etapa de lavagem promove a extração dos componentes fisicamente presos à fração sólida (FS). Isto acontece com a lignina, uma vez que, parte da lignina já solubilizada, precipita sobre a fração sólida quando ocorre resfriamento do reator. Com a etapa de lavagem a lignina antes solubilizada e precipitada é arrastada, e com isso, pode-se obter um resultado mais correto da extração da lignina em cada condição de operação.

O seguinte código foi estabelecido para os experimentos realizados neste trabalho $E_{(x,y)(n)}$, onde x é a relação etanol/água(%), y é a temperatura (°C) e n é o número do experimento da triplicata nas mesmas condições de operação. A Tabela 9 apresenta as massas da biomassa em cada etapa de processo e em todas as condições do planejamento fatorial desenvolvido neste trabalho.

Tabela 9. Experimentos realizados e frações sólidas obtidas no processo *organosolv* (e seus respectivos códigos para acompanhamento).

| Experimento | Relação etanol/água(%) | Temperatura (°C) | Razão líquido: sólido (mL:g) | Tempo (h) | Massa inicial (biomassa <i>in natura</i>) (g) | Fração sólida ¹ | | Fração sólida lavada ¹ | |
|--------------------------|------------------------|------------------|------------------------------|-----------|--|----------------------------|------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| | | | | | | Massa (g) | Id. amostra | Massa (g) | Id. amostra |
| E _{(50,200)(1)} | 50 | 200 | 10:1 | 1 | 70,16 | 40,66 | FS _(50,200) | 34,56 | FSL _{(50,200)(1)} |
| E _{(50,200)(2)} | | | | | 70,17 | - | - | 35,23 | FSL _{(50,200)(2)} |
| E _{(50,200)(3)} | | | | | 70,17 | - | - | 34,98 | FSL _{(50,200)(3)} |
| E _{(30,180)(1)} | 30 | 180 | | | 70,16 | - | - | 37,36 | FSL _{(30,180)(1)} |
| E _{(30,180)(2)} | | | | | 70,18 | 46,76 | FS _(30,180) | 36,11 | FSL _{(30,180)(2)} |
| E _{(30,180)(3)} | | | | | 70,16 | - | - | 35,72 | FSL _{(30,180)(3)} |
| E _{(30,220)(1)} | 30 | 220 | | | 70,18 | - | - | 31,56 | FSL _{(30,220)(1)} |
| E _{(30,220)(2)} | | | | | 70,17 | 39,29 | FS _(30,220) | 31,63 | FSL _{(30,220)(2)} |
| E _{(30,220)(3)} | | | | | 70,17 | - | - | 30,99 | FSL _{(30,220)(3)} |
| E _{(70,180)(1)} | 70 | 180 | | | 70,17 | - | - | 47,48 | FSL _{(70,180)(1)} |
| E _{(70,180)(2)} | | | | | 70,08 | 48,0 | FS _(70,180) | 47,31 | FSL _{(70,180)(2)} |
| E _{(70,180)(3)} | | | | | 70,15 | - | - | 46,64 | FSL _{(70,180)(3)} |
| E _{(70,220)(1)} | 70 | 220 | | | 70,16 | - | - | 32,37 | FSL _{(70,220)(1)} |
| E _{(70,220)(2)} | | | | | 70,15 | 37,89 | FS _(70,220) | 33,44 | FSL _{(70,220)(2)} |
| E _{(70,220)(3)} | | | | | 70,11 | - | - | 32,53 | FSL _{(70,220)(3)} |

¹ Cada uma dessas partes representa a fração sólida em base seca total obtida em cada etapa.

² Para todos os experimentos foi utilizado uma razão líquido:sólido (mL:g) de 10:1 no tempo de 1 h de extração na temperatura desejada.

4.4. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPONENTES MACROMOLECULARES DA BIOMASSA TRATADA E *IN NATURA*

A seguir serão apresentados os resultados da quantificação dos componentes macromoleculares (celulose, hemicelulose e lignina) presentes nas 15 amostras referentes a fração sólida lavada (FSL) e 3 as amostras da biomassa *in natura* (Bin), de acordo com a metodologia descrita no Capítulo 3. Antes da quantificação foi determinado a matéria seca de cada amostra.

MATÉRIA SECA DA BIOMASSA

O teor de matéria seca (% MS) foi determinado para cada amostra a ser analisada. Todas as amostras de biomassa tratada lavada (resíduo sólido resultante do processo *organosolv*) nas diferentes condições do planejamento e da biomassa *in natura* (realizada em triplicata) tiveram sua matéria seca calculada, conforme apresentado na Tabela 10.

Tabela 10. Matéria seca de todas as amostras analisadas.

| Amostra (g) | | Massa seca (%) | Desvio padrão |
|---------------------------|-----------------------|----------------|---------------|
| Biomassa <i>in natura</i> | | 93,65 | 0,70 |
| Experimentos | | - | - |
| Temperatura (°C) | Relação etanol/água % | - | - |
| 200 | 50 | 96,44 | 0,59 |
| 180 | 30 | 96,92 | 0,20 |
| 220 | 30 | 97,88 | 0,67 |
| 180 | 70 | 97,93 | 0,83 |
| 220 | 70 | 96,71 | 0,48 |

O percentual de matéria seca obtido das amostras após processo *organosolv* apresentou valores bem próximos, isto foi possível, pois as amostras foram armazenadas no mesmo local por um curto tempo até serem analisadas. As amostras de biomassa *in natura* apresentaram valores mais baixos de matéria seca quando comparada ao restante, isto ocorreu porque a biomassa *in natura* além de ter sido armazenada em local diferente, ficou por um tempo maior armazenada.

4.4.1. QUANTIFICAÇÃO DA LIGNINA E CINZAS

LIGNINA INSOLÚVEL E CINZAS

A partir da fração sólida resultante da hidrólise ácida foi possível calcular a lignina insolúvel e as cinzas presentes em cada amostra analisada. A Tabela 14 (Apêndice E) apresenta todos os resultados para a determinação das cinzas e da lignina insolúvel presente nas amostras (FSL e Bin) analisadas. Para as análises realizadas em triplicata foi calculado a média, o desvio padrão e os intervalos de confiança das médias e variâncias (Equações 3 e 4), com um limite de confiança de 95%.⁸⁷

A partir dos resultados das cinzas apresentado na Tabela 14 (Apêndice E) e os resultados da quantificação direta das cinzas apresentados no item 4.2., foi possível notar que houve uma diferença nos resultados da quantidade de cinzas presentes na biomassa *in natura* nas duas análises. Na segunda análise a quantificação das cinzas é realizada após uma hidrólise ácida, as cinzas são solúveis em pH ácido, isto explica o valor de 0,46% de cinzas na primeira análise e 0,14% de cinzas na segunda análise da mesma biomassa *in natura*.⁸⁸

As condições de pré-tratamento *organosolv* afetam na quantidade final da lignina insolúvel. Quanto menor a quantidade de lignina insolúvel melhor é o resultado do processo de pré-tratamento *organosolv*, pois maior será a extração da lignina presente na biomassa. Porém em condições onde ocorre maior extração da lignina insolúvel pode ocorrer severa degradação da celulose e lignina. A severa degradação da lignina compromete etapas posteriores de conversão, pois sua degradação reduz sua massa molar, tornando-a mais específica e menos reativa.¹⁰ No planejamento desenvolvido os experimentos $E_{(70,220)}$ apresentaram a menor quantidade de lignina insolúvel presente na amostra analisada.

Pela análise dos intervalos de confiança das médias, as amostras $FSL_{(50,200)}$ e $FSL_{(70,220)}$ são equivalentes em termos das médias da quantidade de lignina insolúvel (Figura 19B), enquanto que as amostras $FSL_{(30,180)}$, $FSL_{(30,220)}$ e $FSL_{(70,180)}$ são equivalentes entre si (Figura 19B), os dois conjuntos são diferentes entre si, e também diferentes da biomassa *in natura*, com 95% de confiança. Os intervalos de confiança das variâncias indicam, com 95% de confiança, que o erro experimental foi equivalente em todas as condições experimentais testadas.

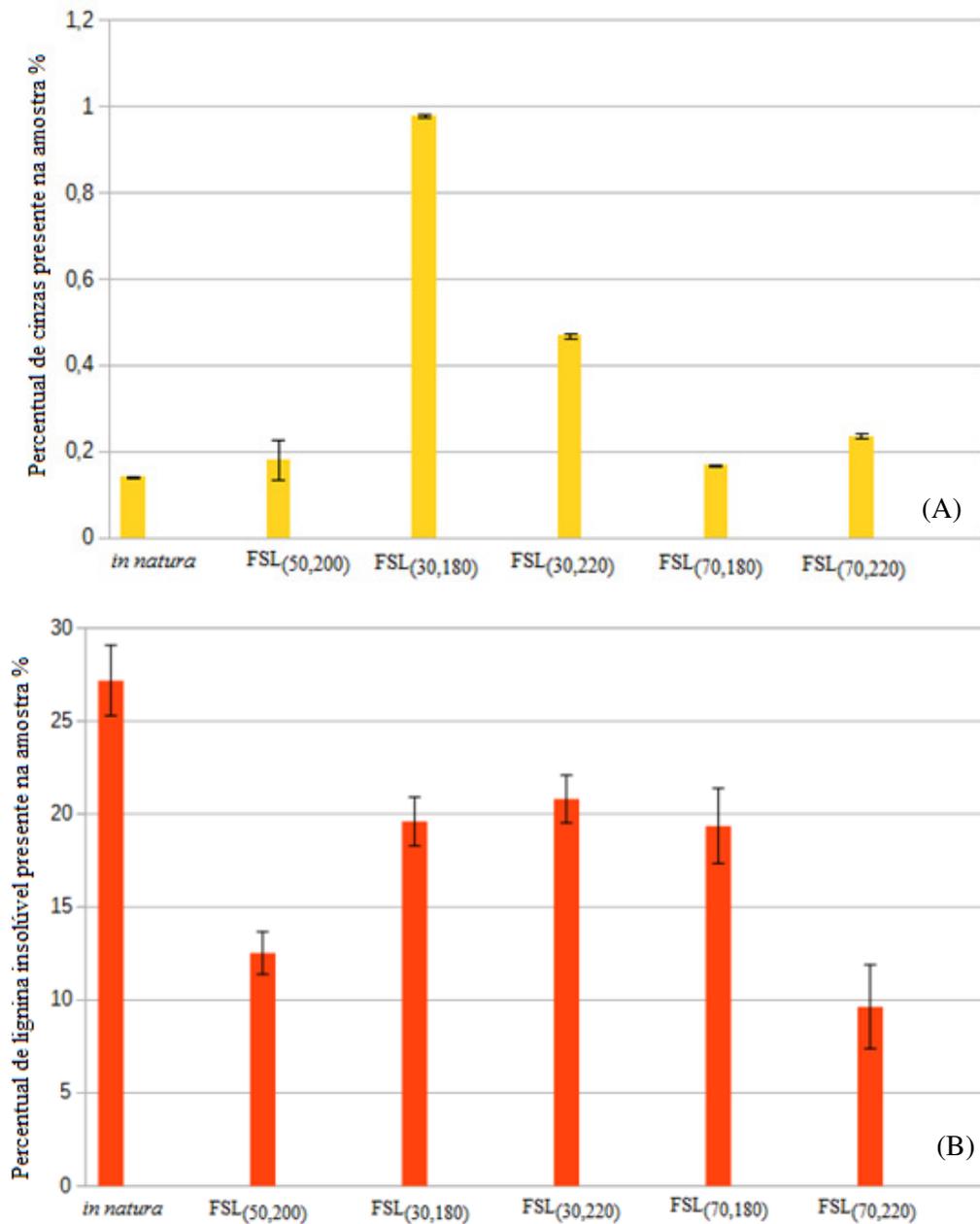


Figura 19. Percentual médio de cinzas (A) e lignina insolúvel (B) presentes nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

LIGNINA SOLÚVEL

Os resultados para a determinação da lignina solúvel são apresentados no Apêndice C. A Tabela 15 (Apêndice F) apresenta todos os resultados da lignina solúvel em base seca presente nas amostras (FSL e Bin) analisadas.

A partir dos intervalos de confiança das médias calculados é possível afirmar, com 95% de confiança, que os resultados obtidos para quantificação de lignina solúvel

(Figura 20) são equivalentes nas amostras $FSL_{(50,200)}$, $FSL_{(30,180)}$, $FSL_{(30,220)}$ e $FSL_{(70,220)}$, e que a amostra $FSL_{(70,180)}$ apresentou a maior quantidade de lignina solúvel. Pelos intervalos de confiança das variâncias, é possível afirmar com 95% de confiança, que os erros experimentais foram equivalentes. As amostras $FSL_{(30,180)}$ apresentaram menor quantidade de lignina solúvel. A mesma discussão da lignina insolúvel vale para a lignina solúvel, uma vez que, são avaliadas em um total.

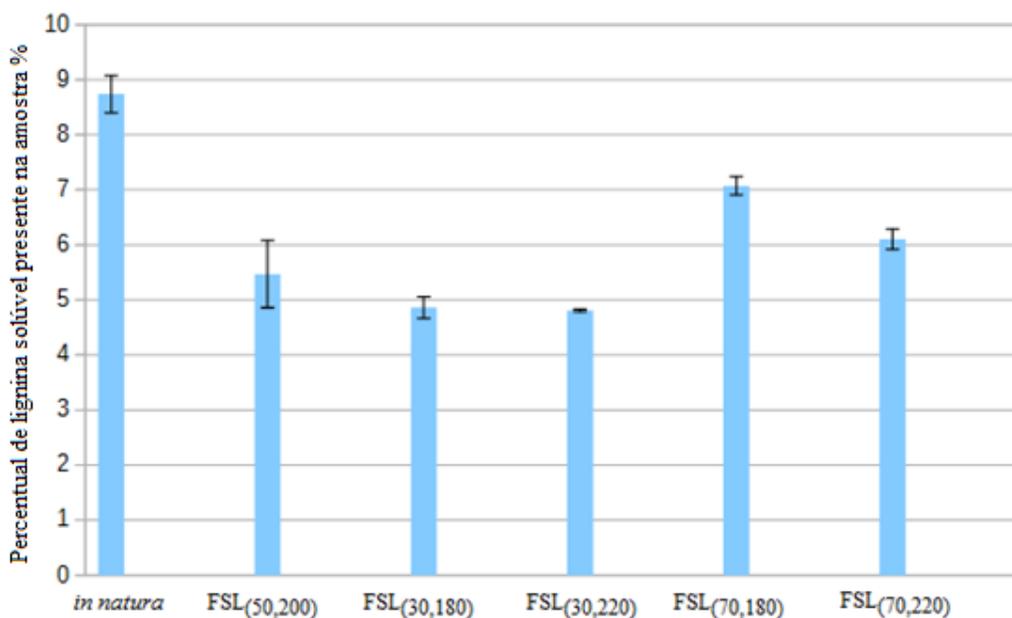


Figura 20. Percentual médio de lignina solúvel presente nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

LIGNINA TOTAL

A lignina total presente na amostra analisada é obtida somando os percentuais da lignina solúvel em base seca (Tabela 15) e lignina insolúvel em base seca (Tabela 14). A Tabela 16 (Apêndice G) apresenta a quantificação da lignina presente nas amostras (FSL e Bin).

A partir dos intervalos de confiança das médias é possível afirmar, com 95% de confiança, que as amostras $FSL_{(50,200)}$ e $FSL_{(70,220)}$ são equivalentes e apresentam o menor conteúdo de lignina residual (Figura 21), e as amostras $FSL_{(30,180)}$, $FSL_{(30,220)}$ e $FSL_{(70,180)}$ são equivalentes e apresentam o maior conteúdo de lignina residual (Figura 21). Os intervalos de confiança das variâncias, com 95% de confiança, mostram que os erros experimentais obtidos nas triplicatas são equivalentes.

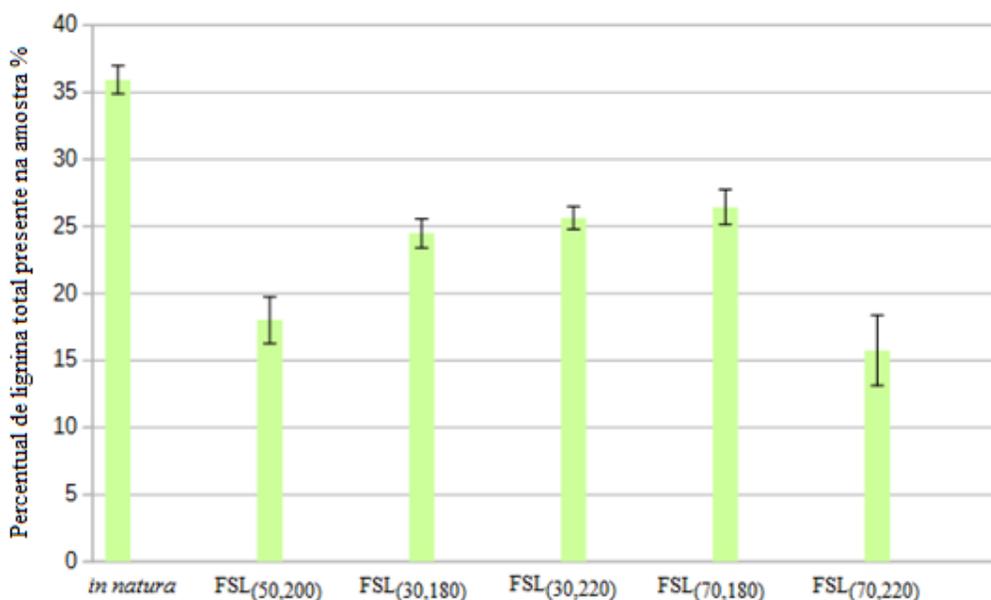


Figura 21. Percentual médio de lignina total presente nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

Para o processo de fracionamento *organosolv* quanto menor o teor de lignina total presente na biomassa analisada após o processo, melhor será o resultado. Porém o desempenho do processo no que diz respeito à extração de lignina tem de necessariamente estar atrelado ao teor de celulose. Desta forma, quanto maior a fração de celulose e menor a fração de lignina na biomassa final, melhor será o desempenho do fracionamento da biomassa lignocelulósica pelo processo *organosolv*.^{33, 61}

A etapa de lavagem foi de fundamental importância para obtenção da lignina, visto que, colaborou arrastando a lignina já solubilizada no processo *organosolv* que precipitou sobre a fibra de celulose (fração sólida final) quando o reator foi resfriado para retirada dos produtos.¹¹

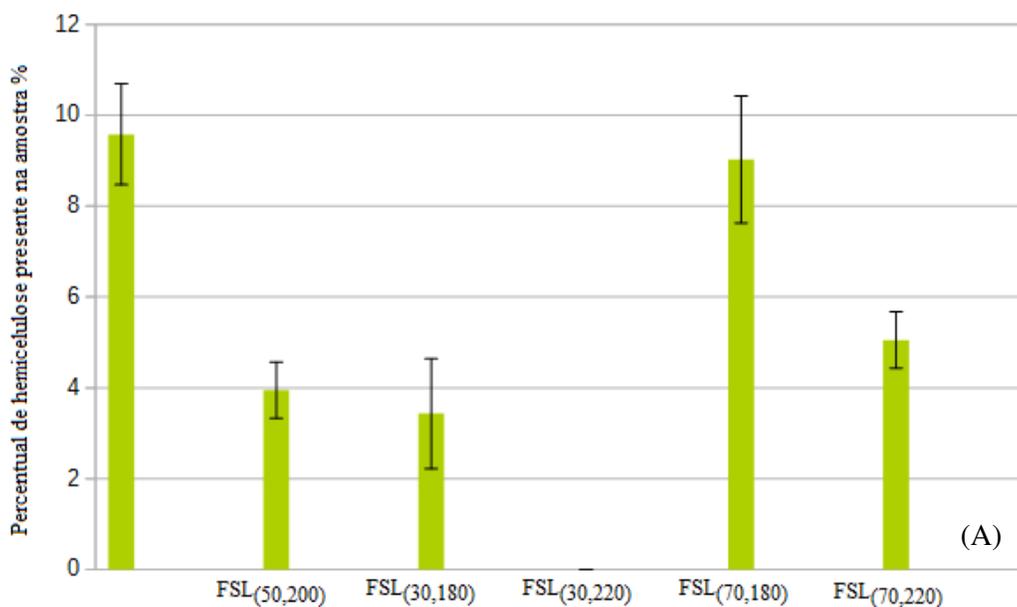
4.4.2. QUANTIFICAÇÃO DA CELULOSE E HEMICELULOSE

Os cromatogramas obtidos e suas respectivas áreas e as concentrações de cada açúcar (g/L) e os tempos de retenção de cada açúcar são apresentados no Apêndice B.

A Tabela 17 (Apêndice H) apresenta os resultados percentuais dos açúcares presentes nas amostras de biomassas analisadas em sua forma anidra em base seca e os percentuais totais dos componentes macromoleculares (celulose e hemicelulose) presentes em todas as biomassas analisadas. A conversão dos monômeros para sua forma anidra é descrito pelo método NREL/TP-510-42618 (*Determination of Structural*

Carbohydrates and Lignin in Biomass) de forma a realizar uma quantificação mais correta da celulose e hemicelulose. A celulose é determinada pela glucana, enquanto que, a hemicelulose é determinada pela xilana, galactana, manana e arabinana. A partir dos resultados obtidos, 3 monômeros citados anteriormente (galactana, manana e arabinana) da hemicelulose não foram detectados, com isso, o cálculo da hemicelulose foi realizada apenas com a quantidade de xilana detectada. A xilana é o monômero mais importante da hemicelulose e se apresenta em maior quantidade. A celulose foi determinada pela glucana.^{21, 28, 29}

A partir dos intervalos de confiança das médias é possível afirmar, com 95% de confiança, que as amostras $FSL_{(30,220)}$ apresentou o menor conteúdo residual de hemicelulose, enquanto que a amostra $FSL_{(70,180)}$ apresentou o maior conteúdo residual de hemicelulose, as demais amostras [$FSL_{(50,200)}$, $FSL_{(30,180)}$ e $FSL_{(70,220)}$] apresentaram resultados equivalentes (Figura 22A). No que se refere a quantidade residual de celulose, as amostras $FSL_{(50,200)}$, $FSL_{(30,220)}$ e $FSL_{(70,220)}$ apresentaram resultados equivalentes (Figura 22B), além da maior quantidade de celulose residual, enquanto que as amostra $FSL_{(70,180)}$ apresentou a menor quantidade de celulose residual.



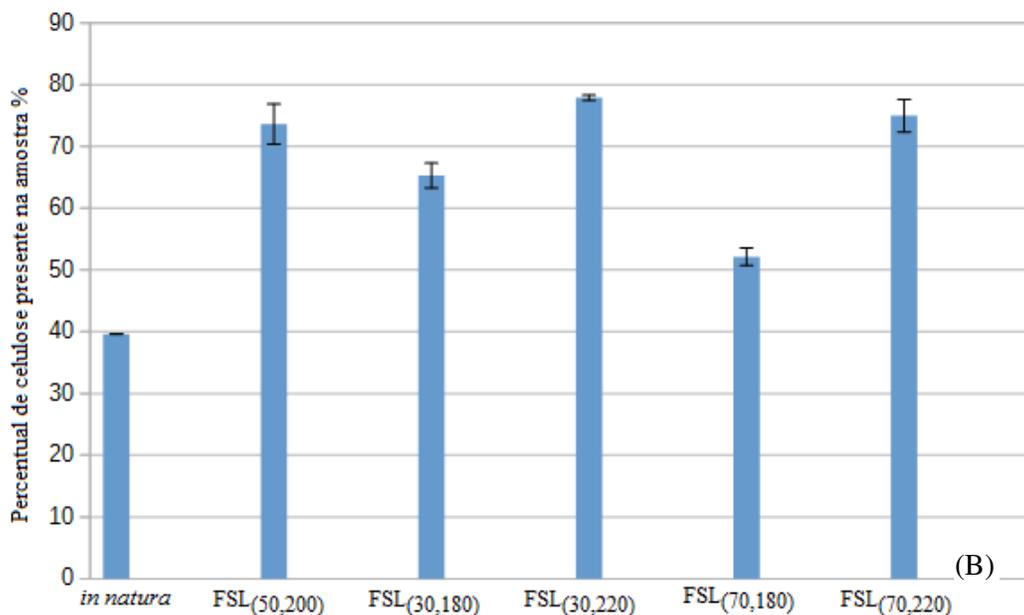


Figura 22. Percentual médio de hemicelulose (A) e celulose (B) presentes nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

A hemicelulose é o componente presente em menor quantidade na biomassa estudada e frente aos objetivos do fracionamento é conveniente que ela seja extraída junto com a lignina. A extração da hemicelulose foi total nas condições de operação: 220 °C e 30% da relação etanol/água (v/v), ou seja, maior temperatura e menor concentração de etanol. No entanto, nas melhores condições de extração de lignina e menor perda de celulose, $E_{(50,200)}$ e $E_{(70,220)}$, foi possível remover em média 80,36 e 76,4% da hemicelulose, respectivamente. Os experimentos $E_{(50,200)}$ e $E_{(70,220)}$, com 95% de confiança foram equivalentes considerando o intervalo das médias para extração da hemicelulose.

4.4.3. RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO DE CELULOSE, HEMICELULOSE E LIGNINA

Sabe-se que as condições de operação influenciam no rendimento do processo, contribuindo para extração dos componentes (celulose, lignina e hemicelulose). Os percentuais finais de cada componente partem da mesma quantidade de amostra analisada equivalente a 0,3 g, porém para uma análise mais correta dos resultados e determinação de fato das quantidades em massa de cada componente macromolecular (celulose, lignina e hemicelulose) em base seca antes e após cada experimento do planejamento, foi necessário ter conhecimento dos percentuais de cada componente na

biomassa *in natura*, a sua massa inicial utilizada em cada experimento, a massa seca da fração sólida lavada (FSL) após processo *organosolv* e os percentuais de cada componente presente na FSL em base seca em todos os experimentos.

Após determinação da massa (Tabela 9) da biomassa *in natura* (Bin) e da fração sólida lavada (FSL), e quantificação do percentual dos componentes presentes pela metodologia do NREL/TP-510-42618, foi possível calcular a massa seca de entrada e saída de todos os componentes, em todos os experimentos.

A Figura 23 a seguir apresenta a massa de todos os componentes macromoleculares (lignina, celulose e hemicelulose) em todas as amostras de biomassa analisadas neste trabalho antes e após processo *organosolv*.

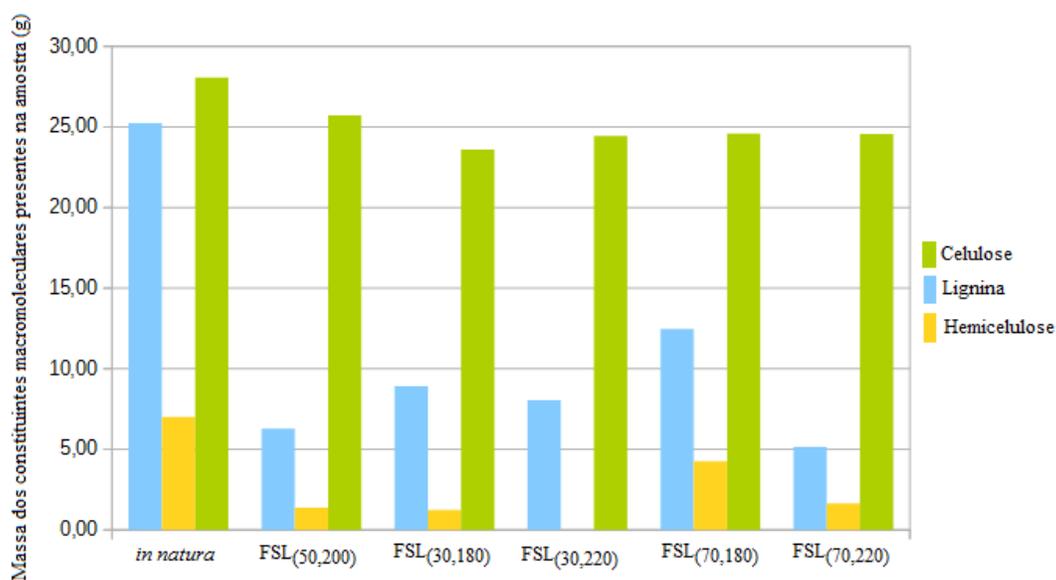


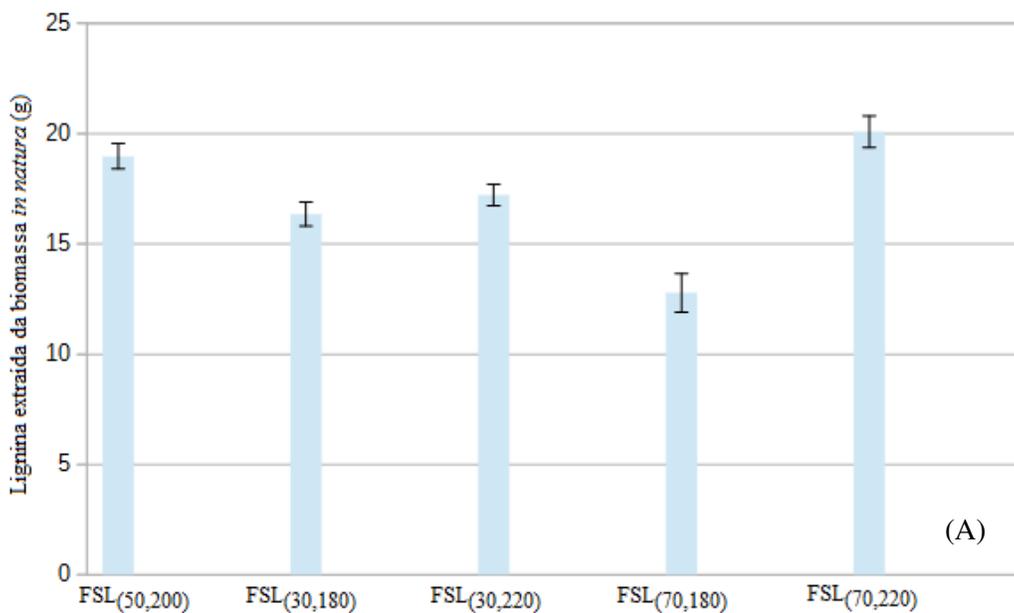
Figura 23. Massa dos constituintes macromoleculares presentes na biomassa *in natura* e frações sólidas lavadas (FSL) em todos os experimentos.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 18 (Apêndice I) das massas de todos os componentes (celulose, hemicelulose e lignina) antes e após cada experimento foi possível determinar a massa e o percentual de cada componente extraído em todos os experimentos realizados neste trabalho.

Os cálculos da extração dos componentes macromoleculares foram determinados por diferença entre a massa final e a massa inicial. A Tabela 19 (Apêndice J) foi construída apresentando o percentual e a massa dos componentes extraídos da biomassa *in natura* em cada experimento realizado neste trabalho. A partir dos intervalos de confiança das médias é possível afirmar, com 95% de confiança, que as

quantidade de lignina extraída da biomassa nos experimentos $E_{(50,200)}$ e $E_{(70,220)}$ são equivalentes (Figura 24A), assim como as obtidas nos experimentos $E_{(30,180)}$ e $E_{(30,220)}$ (Figura 24A). A maior extração de lignina ocorreu nas condições dos experimentos $E_{(50,200)}$ e $E_{(70,220)}$ e a pior extração na condição do experimento $E_{(70,180)}$. Já a extração da hemicelulose foi máxima no experimento $E_{(30,220)}$ e mínima no $E_{(70,180)}$, nas demais condições a extração foi equivalente (Figura 24B). Finalmente a extração da celulose foi equivalente em todas as condições experimentais testadas (Figura 24C). No que se refere aos intervalos de confiança das variâncias de cada uma das metodologias (quantificação da celulose, da hemicelulose e da lignina extraídos) é possível afirmar, com 95% de confiança, que os erros experimentais são equivalentes.

A partir da análise estatística baseada no planejamento experimental é possível afirmar que o experimento $E_{(70,220)}$ apresentou o melhor resultado para o fracionamento da biomassa lignocelulósica, considerando uma maior extração de lignina e uma menor perda de celulose. No entanto a partir da análise de intervalos de confiança das médias é possível afirmar, com 95% de confiança, que os experimentos $E_{(50,200)}$ e $E_{(70,220)}$ apresentam resultados equivalentes. Dessa forma, levando em conta o gasto energético e utilização de etanol a melhor condição experimental foi utilizando 50% etanol/água (v/v) e 200°C.



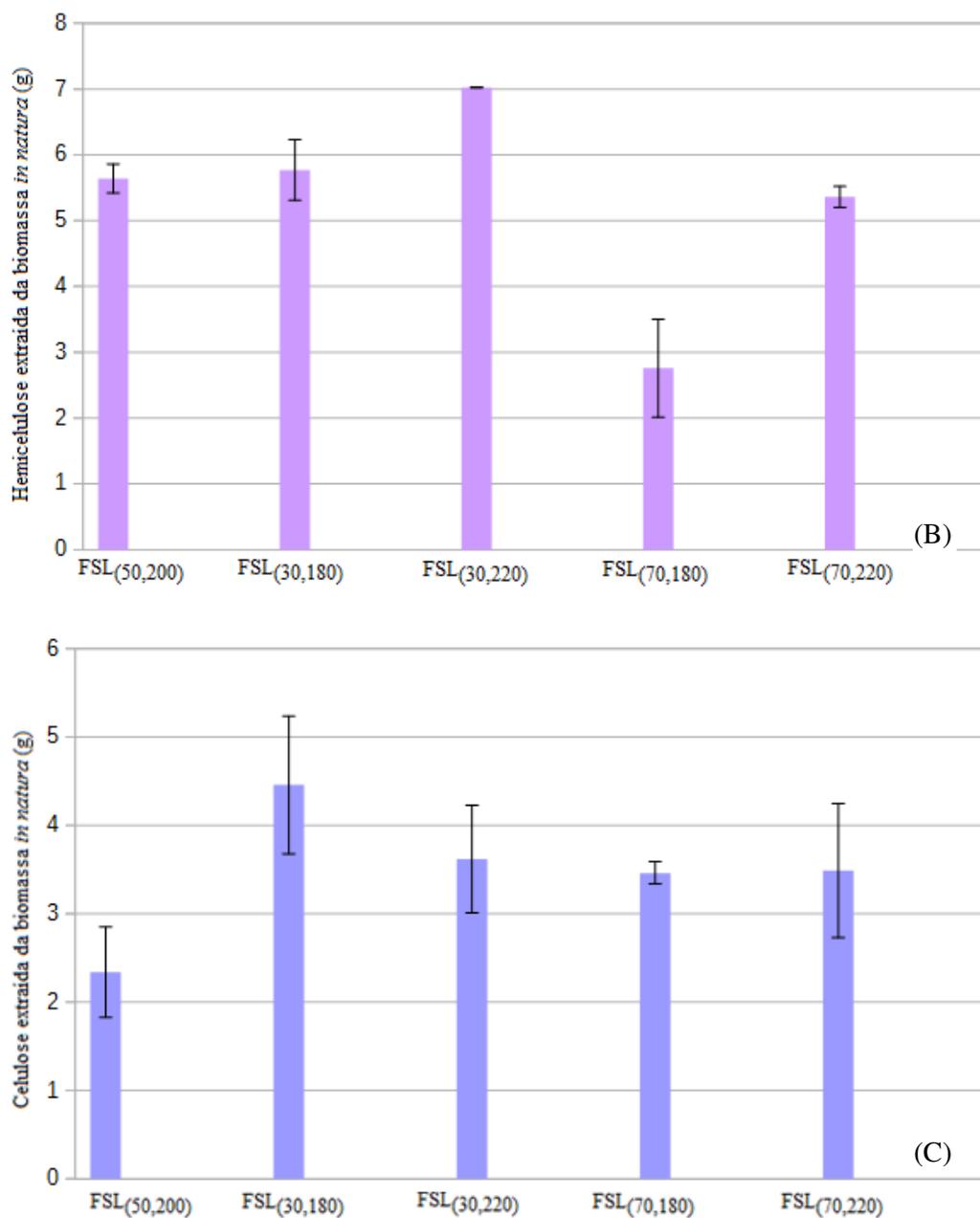


Figura 24. Rendimento mássico de extração dos componentes macromoleculares (Lignina (A), hemicelulose (B) e celulose (C)) da biomassa *in natura* para cada condição do processo *organosolv*.

Romaní *et al.*⁸⁰ realizaram um processo combinado com autohidrólise seguida de *organosolv* (etanol 60%), com a temperatura variando entre 180-200°C, com razão líquido:sólido de 8:1, no tempo de 60 minutos e com isso obtiveram um rendimento de extração de lignina de 81%. Neste trabalho foi possível obter um rendimento de extração de lignina de 80,36% utilizando apenas o processo *organosolv* nas condições (50% etanol, 200°C, no tempo de 60 minutos com razão líquido:sólido de 10:1).

4.4.4. ESTUDO ESTATÍSTICO BASEADO NO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

LIGNINA EXTRAÍDA

A análise estatística realizada a partir dos resultados da variável extração de lignina é apresentada na Figura 25. O seguinte modelo de regressão linear para as variáveis codificadas foi obtido (Equação 5), apresentando um erro puro de 0,0725 e um R^2 de 0,9925, isto significa, que 99,25% da variável extração de lignina consegue ser explicada pelos regressores presentes no modelo. O valor obtido de R^2 indica que o modelo consegue explicar bem os valores observados. Quanto maior o R^2 , melhor ele se ajusta à amostra e mais explicativo é modelo.

$$EL = 16,6 - 0,18.EA + 2,04.T + 1,6.EA.T + 2,36.\delta_{curv} \quad \text{Equação 5}$$

onde, EL é a lignina extraída(g), EA é a relação etanol/água codificada, T é a temperatura codificada e δ_{curv} é a curvatura.

$$\delta_{curv} = \begin{cases} 1, & \text{ponto central} \\ 0, & \text{demais pontos} \end{cases}$$

Na Figura 25A ilustra a capacidade de predição do modelo de regressão para a lignina extraída com bandas de regressão com limite 95% de confiança. Na Figura 25B temos o diagrama de Pareto para avaliação dos efeitos da concentração e temperatura na extração da lignina. A Figura 25C apresenta a superfície de resposta para variável extração de lignina em função dos fatores do processo relação etanol/água (EA) e temperatura (T) codificadas.

A extração da lignina pelo processo *organosolv* foi afetada pela temperatura, relação etanol/água e pela interação dos dois fatores, considerando o intervalo experimental avaliado. A temperatura e a interação dos efeitos temperatura e relação etanol/água tiveram efeito positivo na extração da lignina, enquanto que, a relação etanol/água teve efeito negativo.

A partir da análise da superfície de resposta apresentada na Figura 25C pode-se dizer que o melhor resultado para extração da lignina dentre o intervalo experimental avaliado é nas condições codificadas (1,1), maior temperatura (220 °C) e maior relação etanol/água (70%).

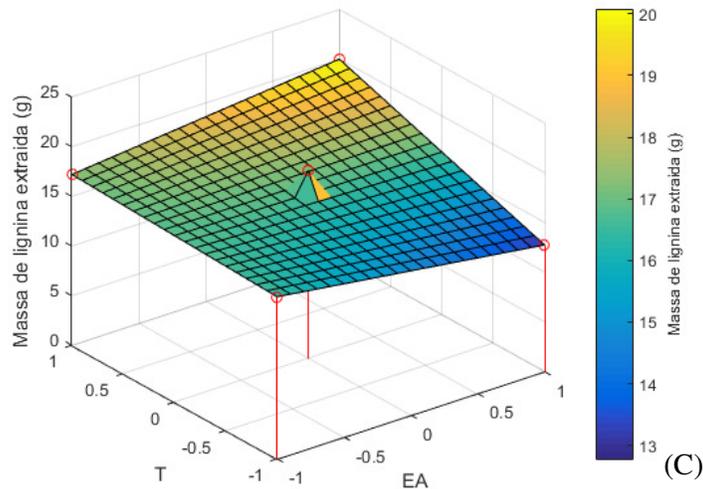
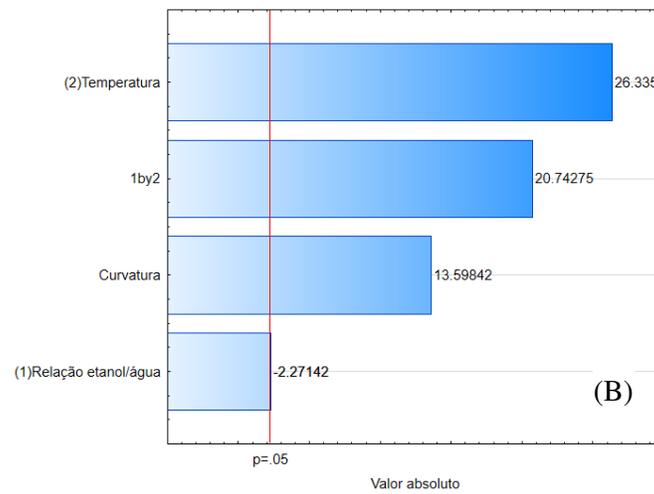
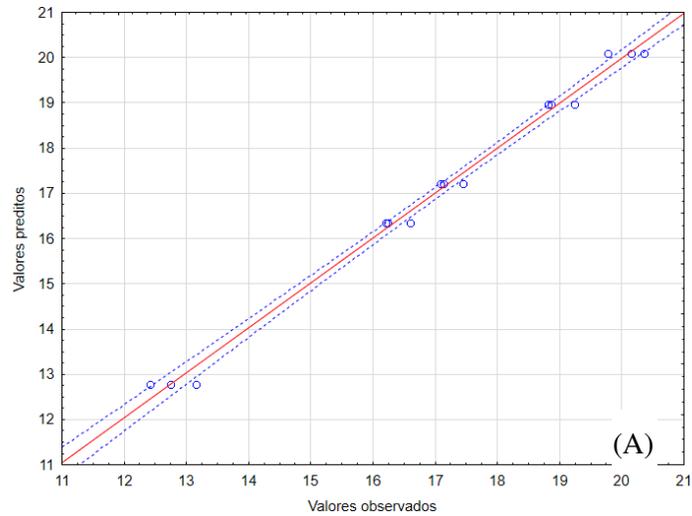


Figura 25. (A) Valores preditos *versus* observados na extração da lignina. (B) Diagrama de Pareto para efeitos normalizados com relação à extração da lignina. (C) Superfície de resposta na qual é apresentada a massa de lignina extraída em função da temperatura e relação etanol /água. Os pontos em vermelho ('o') representam as médias dos pontos experimentais obtidos (Tabela 19).

CELULOSE EXTRAÍDA

Assim como para a lignina a análise estatística também foi realizada a partir dos resultados da variável extração de celulose. A equação 6 descreve o modelo de regressão linear obtido para as variáveis codificadas. Foi obtido um erro puro de 0,0598 e um R^2 de 0,9182.

$$EC = 3,76 - 0,28.EA - 0,2.T + 0,43.EA.T - 1,4.\delta_{curv} \quad \text{Equação 6}$$

onde, EC é a celulose extraída(g), EA é a relação etanol/água codificada, T é a temperatura codificada e δ_{curv} é a curvatura.

A extração da celulose pelo processo *organosolv* foi afetada pela temperatura, relação etanol/água e pela interação dos dois fatores, considerando o intervalo experimental avaliado. A temperatura e a relação etanol/água tiveram efeito negativo na extração da celulose, enquanto que, a interação dos efeitos temperatura e relação etanol/água teve efeito positivo.

A partir da análise da superfície de resposta apresentada na Figura 26C pode-se dizer que o resultado de maior extração da celulose dentre o intervalo experimental avaliado é nas condições codificadas (-1,-1), menor temperatura (180 °C) e menor relação etanol/água (30%). Porém para o fracionamento do eucalipto a melhor condição é aquela que apresenta menor extração de celulose, apresentada pelas condições codificadas (0,0), ponto central, temperatura de 200 °C e relação etanol/água de 50%.

Na Figura 26 são apresentados todos os resultados obtidos da análise estatística para variável extração de celulose.

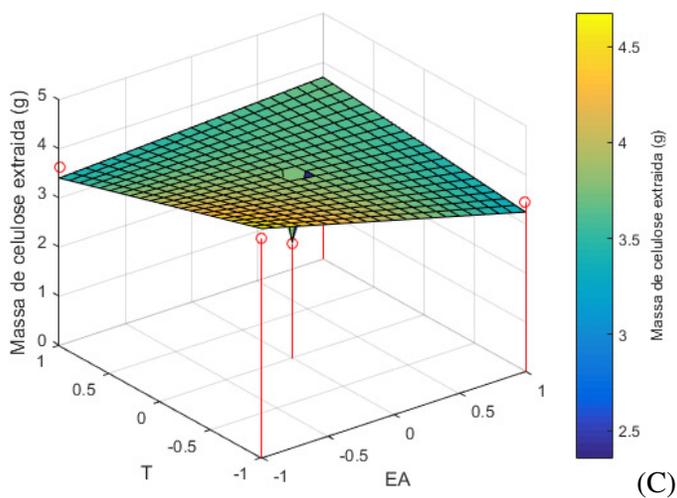
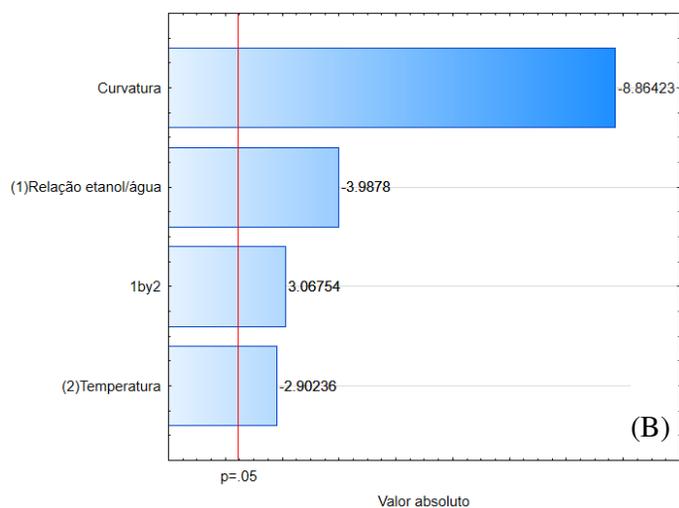
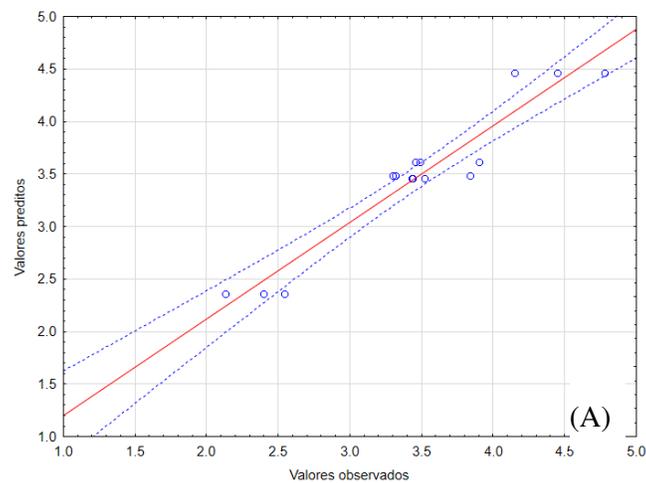


Figura 26. (A) Valores preditos *versus* observados na extração da celulose. (B) Diagrama de Pareto para efeitos normalizados com relação à extração da celulose. (C) Superfície de resposta na qual é apresentada a massa de celulose extraída em função da temperatura e relação etanol /água. Os pontos em vermelho ('o') representam as médias dos pontos experimentais obtidos (Tabela 19).

HEMICELULOSE EXTRAÍDA

Com os resultados obtidos a partir da variável extração de hemicelulose foi possível descrever um modelo de regressão linear (Equação 7) para variáveis codificadas, apresentando um erro puro de 0,0269 e um R^2 de 0,9908.

$$EH = 5,23 - 1,17.EA + 0,96.T + 0,34.EA.T + 0,41.\delta_{curv} \quad \text{Equação 7}$$

onde, EH é a hemicelulose extraída(g), EA é a relação etanol/água codificada, T é a temperatura codificada e δ_{curv} é a curvatura.

A extração da hemicelulose pelo processo *organosolv* foi afetada pela temperatura, relação etanol/água e pela interação dos dois fatores, considerando o intervalo experimental avaliado. A temperatura e a interação dos efeitos temperatura e relação etanol/água tiveram efeito positivo na extração da hemicelulose, enquanto que, a relação etanol/água teve efeito negativo.

A partir da análise da superfície de resposta apresentada na Figura 27C pode-se dizer que o melhor resultado para extração da hemicelulose dentre o intervalo experimental avaliado é nas condições codificadas (-1,1), maior temperatura (220 °C) e menor relação etanol/água (30%). Dentre as variáveis estudadas a temperatura apresentou efeito mais significativo diante da relação etanol/água na extração de todos os componentes (celulose, hemicelulose e lignina). O melhor resultado para o fracionamento *organosolv* no intervalo experimental avaliado foi nas condições codificadas (1,1), maior temperatura (220 °C) e maior relação etanol/água (70 °C).

Na Figura 27 temos as representações gráficas de todos os resultados obtidos da análise estatística a partir da variável de extração de hemicelulose.

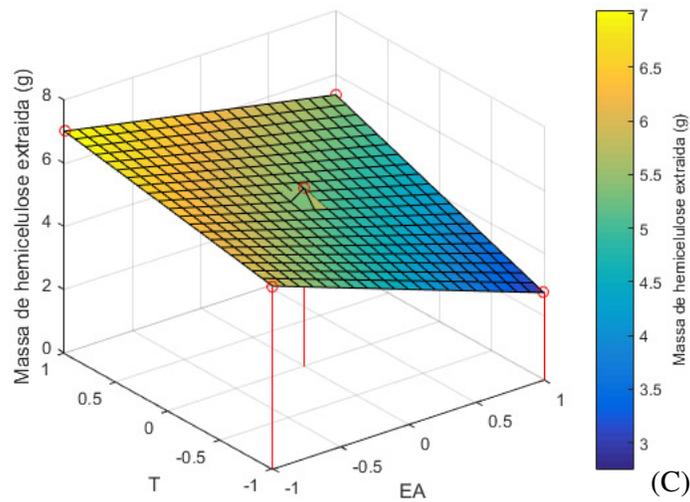
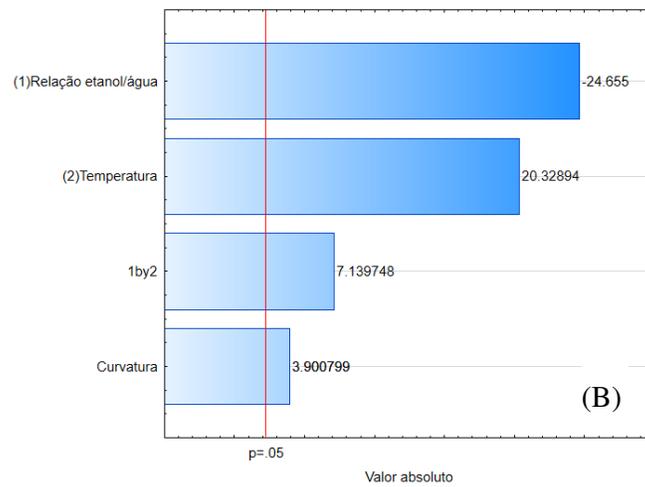
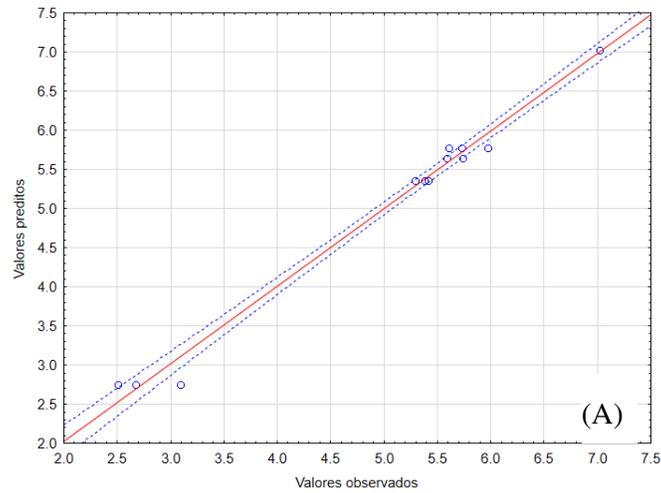


Figura 27. (A) Valores preditos *versus* observados na extração da hemicelulose. (B) Diagrama de Pareto para efeitos normalizados com relação à extração da hemicelulose. (C) Superfície de resposta na qual é apresentada a massa de hemicelulose extraída em função da temperatura e relação etanol /água. Os pontos em vermelho ('o') representam as médias dos pontos experimentais obtidos (Tabela 19).

CAPÍTULO 5
CONCLUSÕES

O processo *organosolv* demonstrou ser uma alternativa viável para extração da lignina e obtenção de polpa celulósica. O rendimento de extração de lignina obtido em apenas uma etapa (processo *organosolv* (etanol 50%)) foi de 80,36%. Na literatura consultada a referência sobre o mesmo rendimento (81%) obtido na extração de lignina, ocorreu no processo em duas etapas (autohidrólise seguida de *organosolv* (etanol 60%)). Com isso, o processo apresentado neste trabalho tem grande potencial para este fim. Além disso, a lignina obtida a partir do processo *organosolv* torna o uso da biomassa interessante para aplicações na indústria.

As maiores temperaturas contribuíram para maior solubilização dos componentes, para a lignina quando as maiores temperaturas foram combinadas com as relações etanol/água de 50 e 70% e para a hemicelulose quando as temperaturas foram combinadas com a relação etanol/água de 30%. A celulose teve uma perda de 8,35% da sua massa inicial no melhor resultado para fracionamento na faixa experimental avaliada. Levando em conta o gasto energético, utilização de etanol, extração de lignina e obtenção da polpa celulósica a melhor condição experimental foi utilizando 50% etanol/água (v/v) e 200°C.

O resultado apresentado na análise estatística baseada no planejamento fatorial é representado por um modelo linear, no entanto, o fator de curvatura acentuado indica que a realidade na região testada é não linear. Para futuros experimentos é indicado trabalhar o ponto ótimo expandindo o planejamento experimental.

BIBLIOGRAFIA

- [1] PAREEK, N., GILLGREN, T. & JONSSON, L. J. Adsorption of Proteins Involved in Hydrolysis of Lignocellulose on Lignins and Hemicelluloses. **Bioresource technology**, v. 148, p. 70-77, 2013.
- [2] PACHECO, M. R. P. S. & HELENE, M. E. M. Atmosfera, Fluxos De Carbono E Fertilização Por Co2. **SciELO**, v. 4 n. 9, p. 204-220, 1990.
- [3] JONSSON, L. J. & MARTIN, C. Pretreatment of Lignocellulose: Formation of Inhibitory by-Products and Strategies for Minimizing Their Effects. **Bioresource technology**, 2015.
- [4] KAMM, B., GRUBER, P. R. & KAMM, M. Biorefineries – Industrial Processes and Products. **Wiley-VCH**, 2006.
- [5] ALVIM, J. C., ALVIM, F. A. L. S., SALES, V. H. G., SALES, P. V. G., OLIVEIRA, E. M. D. & COSTA, A. C. R. D. Biorrefinarias: Conceitos, Classificação, Matérias Primas E Produtos. **J. Bioen. Food Sci**, 2014.
- [6] (ECN), P. J. D. W., (ECN), W. J. J. H., (ECN), R. V. D. L., (ECN), H. D. U., LEUVEN, J. S. K. & (CIMV), B. B.-M. Organosolv Fractionation of Lignocellulosic Biomass for an Integrated Biorefinery. **ECN-V--14-010**, 2015.
- [7] ABELHA, P., FRANCO, C., PINTO, F., LOPES, H., GULYURTLU, I., GOMINHO, J., LOURENÇO, A. & PREREIRA, H. Thermal Conversion of Cynara Cardunculus L. And Mixtures with Eucalyptus Globulus by Fluidized Bed Combustion and Gasification. **Energy Fuel**, v. 27, 2013.
- [8] SANTOS, F., COLODETTE, J. & QUEIROZ, J. H. Cana-De-Açúcar E Espécies Florestais. **Bioenergia e Biorrefinaria**, 2013.
- [9] YAMAMOTO, M., IAKOVLEV, M. & HEININGEN, A. Kinetics of So₂-Ethanol-Water (Sew) Fractionation of Hardwood and Softwood Biomass. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 307-313, 2014.
- [10] ESTEVES, B., J., G. & PEREIRA, H. Extractive Composition and Summative Chemical Analysis of Thermally Treated Eucalypt Wood. **Holzforschung**, v. 62, p. 344-351, 2008.
- [11] XU, Y. L., K.; ZHANG, M. . Lignin Precipitation on the Pulp Fibers in the Ethanol-Based Organosolv Pulping. **Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng. Aspects**, v. 301, n. 1-3, p. 255-263, 2007.
- [12] RAMAGE, J. & SCURLOCK, J. Renewable Energy: Power for a Sustainable Future. **Oxford: Oxford University Press**, v. Biomass. In: BOYLE, G. (Ed.), n. 4, p. 137-182, 1996.
- [13] PAC. Glossary for Chemists of Terms Used in Biotechnology. p. 148, 1992.
- [14] SOUZA, O., SCHULZ, M. A., FISCHER, G. A. A., WAGNER, T. M. & SELLIN, N. S., O.; . Energia Alternativa De Biomassa: Bioetanol a Partir Da Casca E Da Polpa De Banana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v. 16, n. 8, p. 915-921, 2012
- [15] EPE. Balanço Energético Nacional 2016: Ano Base 2015. **Ministério de Minas e Energia / Empresa de Pesquisa Energética**, 2016.
- [16] TOLMASQUIM, M. T. Energia Renovável: Hidráulica, Biomassa, Eólica, Solar, Oceânica. **Empresa de Pesquisa Energética**, 2016.

- [17] SOUZA, C. R. E. A. Comportamento Da Acácia Mangium E De Clones De Eucalyptus Grandis X Eucalyptus Urophylla Em Plantios Experimentais Na Amazônia Central. **Scientia Forestalis**, n. 65, p. 95-101, 2004.
- [18] EUCALIPTO, G. D. Oportunidades Para Um Desenvolvimento Sustentável. **Guia do eucalipto**, 2016.
- [19] EICHLER, P., SANTOS, F., TOLEDO, M., ZERBIN, P., SCHMITZ, G., ALVES, C., RIES, L. & GOMES, F. Biomethanol Production Via Gasification of Lignocellulosic Biomass. **Química Nova**, 2015.
- [20] KLOCK, U., MUÑIZ, G. I. B., HERNANDEZ, J. A. & ANDRADE, A. S. **Química Da Madeira**. 2005.
- [21] SANTOS, F. A., QUEIRÓZ, J. H., COLODETTE, J. L., FERNANDES, S. A., GUIMARÃES, V. M. & REZENDE, S. T. Potencial Da Palha De Cana-De-Açúcar Para Produção De Etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, 2012.
- [22] MACÊDO, L. A. Influência Da Composição Da Biomassa No Rendimento Em Condensáveis Do Processo De Torrefação. **Universidade de Brasília - Faculdade De Tecnologia- Departamento de engenharia florestal- Programa de pós-graduação em ciências florestais**, 2012.
- [23] ALVES, R. E. Caracterização De Fibras Lignocelulósicas Pré-Tratadas Por Meio De Técnicas Espectroscópicas E Microscópicas Ópticas De Alta Resolução. **Dissertação (Mestrado) – Instituição de Física de São Carlos, Instituição de Química de São Carlos e Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo**, 2011.
- [24] RABELO, S. C. Avaliação E Otimização De Pré-Tratamentos E Hidrólise Enzimática Do Bagaço De Cana-De-Açúcar Para a Produção De Etanol De Segunda Geração. **Tese de Doutorado (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Processos Químicos da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo**, 2010.
- [25] ZHU, W. Equilibrium of Lignin Precipitation: The Effects of Ph, Temperature, Ion Strength and Wood Origins. **Forest Products and Chemical Engineering, Chalmers University Of Technology, Department of Chemical and Biological Engineering**, 2013.
- [26] CARVALHO, D. M., SEVASTYANOV, O., PENNA, L. S., SILVA, B. P., LINDSTRÖM, M. E. & COLODETTE, J. L. Assessment of Chemical Transformations in Eucalyptus, Sugarcane Bagasse and Straw During Hydrothermal, Dilute Acid, and Alkaline Pretreatments. **Industrial Crops and Products**, v. 73, p. 118–126, 2015.
- [27] SANTOS, C. P. & REIS, I. N. M., J. E. B.; . Papel: Como Se Fabrica? **L. B. Química nova na escola**, 2001.
- [28] FENGEL, D. W., G. . Wood. Chemistry. Ultrastructure. Reactions. Walter De Gruyter. 1989.
- [29] EBRINGEROVA, A., HROMADKOVA, Z., HEINZE, T. . Hemicellulose. **Advances in Polymer Science**. v. 186, p. 1- 67, 2005.
- [30] SJÖSTRÖM, E. Wood Chemistry: Fundamentals and Applications. **2nd [S.L] Ed. Academic Press**, 1993.

- [31] ZHANG, A., LU, F., LIU, C. & SUN, R. C. Isolation and Characterization of Lignins from *Eucalyptus Tereticornis* (12abl). **J. Agric. Food Chem.**, v. 58, p. 11287–11293, 2010.
- [32] RENCORET, J., MARQUES, G., GUTIERREZ, A., IBARRA, D., LI, J., GELLERSTEDT, G., SANTOS, J. I., JIMENEZ-BARBERO, J., MARTÍNEZ, A. T. & RÍO, J. C. Structural Characterization of Lignin in Different Eucalypt Species. **Holzforschung**, v. 62, p. 514–526, 2008.
- [33] WEN, J. L., SUN, S. L., YUAN, T. Q., XU, F. & SUN, R. C. Structural Elucidation of Lignin Polymers of Eucalyptus Chips During Organosolv Pretreatment and Extended Delignification. **Agric. Food Chem.**, v. 61 p. 11067–11075, 2013.
- [34] BOERIU, C. G., FITIGAU, F., GOSSELINK, R. J. A., FRISSEN, A. E., STOUTJESDIJK, J. & PETER, F. Fractionation of Five Technical Lignins by Selective Extraction in Green Solvents and Characterization of Isolated Fractions. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 481–490, 2014.
- [35] RAGAUSKAS, A. J., BECKHAM, G. T., BIDDY, M. J., CHANDRA, R., CHEN, F., DAVIS, M. F., DAVISON, B. H., DIXON, R. A., GILNA, P., KELLER, M., LANGAN, P., NASKAR, A. K., SADDLER, J. N., TSCHAPLINSKI, T. J., TUSKAN, G. A. & WYMAN, C. E. Lignin Valorization: Improving Lignin Processing in the Biorefinery. **Science**, v. 344, n. 16, 2014.
- [36] MONTEIRO, M. B. O., PEREIRA, R. P. W. & ABREU, H. S. Bioquímica Da Lignificação De Células Xilemáticas. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n. 2, p. 48 - 57, 2004.
- [37] WATKINS, D., NURUDDIN, M., HOSUR, M., TCHERBI-NARTEH, A. & JEELANI, S. Extraction and Characterization of Lignin from Different Biomass Resources. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 4, n. 1, p. 26-32, 2015.
- [38] SILVÉRIO, F. O., A.; B. L. C., GOMIDE, J. L., REIS, F. P. & VELOSO, D. P. Metodologia De Extração E Determinação Do Teor De Extrativos Em Madeiras De Eucalipto. **Revista Árvore**, v. 30, n. 6, p. 1009-1016, 2006.
- [39] SILVA, M. E. C. M. Apontamentos De Tecnologia Dos Produtos Florestais - Composição Química Da Madeira. **Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD)**, 2010.
- [40] FOELKEL, C. Resíduos Sólidos Industriais Do Processo De Fabricação De Celulose Kraft De Eucalipto: Resíduos Minerais. **Eucalyptus Online Book** v. 25, n. 5, 2011.
- [41] COSTA SOUSA, L. E. A. Cradle-to-Grave Assessment of Existing Lignocellulose Pretreatment Technologies. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, p. 339-347, 2009.
- [42] WYMAN, C. E. E. A. Coordinated Development of Leading Biomass Pretreatment Technologies. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 18, p. 1959–1966, 2005.
- [43] ZHANG, Y.-H. P. Reviving the Carbohydrate Economy Via Multi-Product Lignocellulose Biorefineries. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 367- 375, 2008.

- [44] ZHANG, A., LU, F., LIU, C. & SUN, R. C. Isolation and Characterization of Lignins from *Eucalyptus Tereticornis* (12abl). . **J. Agric. Food Chem.**, v. v. 58 p. p. 11287–11293, 2010.
- [45] WU, M., PANG, J., ZHANG, X. & SUN, R. Enhancement of Lignin Biopolymer Isolation from Hybrid Poplar by Organosolv Pretreatments. **International Journal of Polymer Science**, 2014.
- [46] KIM, H. Y., JEONG, H. S., LEE, S. Y., CHOI, J. W. & CHOI, I. G. Pd-Catalyst Assisted Organosolv Pretreatment to Isolate Ethanol Organosolv Lignin Retaining Compatible Characteristics for Producing Phenolic Monomer. **Fuel**, v. 153, p. 40–47, 2015.
- [47] COSTA, C. A. E., PINTO, P. C. R. & RODRIGUES, A. E. Evaluation of Chemical Processing Impact on E. Globulus Wood Lignin and Comparison with Bark Lignin. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 479–491, 2014.
- [48] MACFARLANE, A. L., FARID, M. M. & CHEN, J. J. J. Kinetics of Delignification Using a Batch Reactor with Recycle **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 864–870, 2009.
- [49] ESTEVES, V., MARQUES, A. V., DOMINGOS, I. & PEREIRA, H. Chemical Changes of Heat Treated Pine and Eucalypt Wood Monitored by Ftir. **Maderas. Ciencia y tecnología**, v. 15, n. 2, p. 245-258, 2013.
- [50] FARDIM, P. & DURÁN, N. Retention of Cellulose, Xylan and Lignin in Kraft Pulping of *Eucalyptus* Studied by Multivariate Data Analysis: Influences on Physicochemical and Mechanical Properties of Pulp. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 15, n. 4, p. 514-522, 2004.
- [51] OBST, J. R. & KIRK, T. K. Isolation of Lignin. Methods in Enzymology, “Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components”. **T. Higuchi (ed.), Academic Press, San Diego, California**, v. 161, p. 19-21, 1985.
- [52] PINTO, P. C. R., OLIVEIRA, C., COSTA, C. A., GASPAR, A., FARIA, T., ATAÍDE, J. & RODRIGUES, A. E. Kraft Delignification of Energy Crops in View of Pulp Production and Lignin Valorization. **Industrial Crops and Products**, v. 71, p. 153–162, 2015.
- [53] CASAS, A., ALONSO, M. V., OLIET, M., ROJO, E. & RODRÍGUEZ, F. Ftir Analysis of Lignin Regenerated from *Pinus Radiata* and *Eucalyptus Globulus* Woods Dissolved in Imidazolium-Based Ionic Liquids. **Journal Chemical Technoly Biotechnoly**, v. 87, p. 472–480, 2012.
- [54] LI, H. Y., SUN, S. N., ZHOU, X., PENG, F. & SUN, R. C. Structural Characterization of Hemicelluloses and Topochemicalchanges in *Eucalyptus* Cell Wall During Alkali Ethanol Treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 17–26, 2015.
- [55] XIAO, L. P., BAI, Y. Y., SHI, Z. J., LU, Q. & SUN, R. C. Influence of Alkaline Hydrothermal Pretreatment on Shrub Wood *Tamarix Ramosissima*: Characteristics of Degraded Lignin. **Biomass and Bioenergy**, v. 68, p. 82-94, 2014.

- [56] SEQUEIROS, V., GATTO, D. A., LABIDI, J. & SERRANO, L. Different Extraction Methods to Obtain Lignina from Almond Shell. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 8, p. 370-376, 2014.
- [57] JIMENEZ, L., TORRE, M. J., BONILLA, J. L. & FERRER, J. L. Organosolv Pulping of Wheat Straw by Use of Acetone-Water Mixtures. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 4111-4118, 1998.
- [58] OLIET, M., GARCÍA, J., RODRÍGUEZ, F. & GILARRANZ, M. A. Solvent Effects in Autocatalyzed Alcohol–Water Pulping: Comparative Study between Ethanol and Methanol as Delignifying Agents. **Chemical Engineering Journal**, v. 87, p. 157–162, 2002.
- [59] RAMOS, P. A. B., GUERRA, A. R., GUERREIRO, O., FREIRE, C. S. R., SILVA, A. M. S., DUARTE, M. F. & SILVESTRE, A. J. D. Lipophilic Extracts of *Cynara Cardunculus* L. Var. *Altilis* (Dc): A Source of Valuable Bioactive Terpenic Compounds. **Agric. Food Chem.**, v. 61, p. 8420-8429, 2013.
- [60] ERISMANN, N. M., FREER, J., BAEZA, J. & DURÁN, N. Organosolv Pulping-Vii: Delignification Selectivity of Formic Acid Pulping of *Eucalyptus Grandis*. **Bioresource Technology**, v. 47, p. 247-256, 1994.
- [61] ZHANG, H., ZHAO, X., DING, X., LEI, H. & WANG, Z. Preparing Spherical Lignin from Rice Husk. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 36, p. 1149–1155, 2013.
- [62] BOERIU, C. G., FITIGAU, F., GOSSELINK, R. J. A., FRISSEN, A. E., STOUTJESDIJK, J. & PETER, F. Fractionation of Five Technical Lignins by Selective Extraction in Green Solvents and Characterization of Isolated Fractions. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 481–490, 2014.
- [63] MCDONOUGH, T. J. The Chemistry of Organosolv Delignification. **Tappi Journal**, v. 76, n. 8, p. 186-193, 1993.
- [64] CONSTANT, S., BASSET, C., DUMAS, C., RENZO, F., ROBITZER, M., BARAKAT, A. & QUIGNARD, F. Reactive Organosolv Lignin Extraction from Wheat Straw: Influence of Lewis Acid Catalysts on Structural and Chemical Properties of Lignins. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 180–189, 2015.
- [65] WEN, J. L., SUN, S. L., YUAN, T. Q., XU, F. & SUN, R. C. Structural Elucidation of Lignin Polymers of *Eucalyptus* Chips During Organosolv Pretreatment and Extended Delignification. **J. Agric. Food Chem.**, v. 61, p. 11067–11075, 2013.
- [66] SARKANEN, K. V. Chemistry of Solvent Pulping. **Tappi Journal**, v. 73, p. 215-219, 1990.
- [67] MUURINEN, E. Organosolv Pulping: A Review and Distillation Study Related to Peroxyacid Pulping. **Finland: Biblioteca da Universidade de Oulu**, p. 314, 2000.
- [68] YAÑEZ, M., MATSUHIRO, B., NUÑES, P., S. , HUBBELL, C. A., SANNIGRAHI, P. & RAGAUSKAS, A. J. Physicochemical Characterization of Ethanol Organosolv Lignin (Eol) from *Eucalyptus Globulus*: Effect of Extraction Conditions on the Molecular Structure. **Polymer Degradation and Stability**, v. 110, p. 184-194, 2014.

- [69] WU, L., KUMAGAI, A., LEE, S. H. & ENDO, T. Synergistic Effect of Delignification and Treatment with the Ionic Liquid 1-Ethyl-3-Methylimidazolium Acetate on Enzymatic Digestibility of Poplar Wood. **Bioresource Technology**, v. 162, p. 207–212, 2014.
- [70] GILARRANZ, M. A., OLIET, M., RODRIGUEZ, F. & TIJERO, J. Ethanol-Water Pulping: Cooking Variables Optimization. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 76, 1998.
- [71] RODRÍGUEZ, A., ROSAL, A. & JIMÉNEZ, L. Biorefinery of Agricultural Residues by Fractionation of Their Components through Hydrothermal and Organosolv Processes. **Afinidad LXVII**, 2010.
- [72] GASSON, J. R., FORCHEIM, D., SUTTER, T., HORNUNG, U., KRUSE, A. & BARTH, T. Modeling the Lignin Degradation Kinetics in an Ethanol/Formic Acid Solvolysis Approach. Part 1. Kinetic Model Development. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, p. 10595–10606, 2012.
- [73] KLAMRASSAMEE, T., CHAMPREDA, V., REUNGLEK, V. & LAOSIRIPOJAN, N. Comparison of Homogeneous and Heterogeneous Acid Promoters in Single-Step Aqueous-Organosolv Fractionation of Eucalyptus Wood Chips. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 276–284, 2013.
- [74] GASSON, J. R., FORCHEIM, D., SUTTER, T., HORNUNG, U., KRUSE, A. & BARTH, T. Modeling the Lignin Degradation Kinetics in an Ethanol/Formic Acid Solvolysis Approach. Part 1. Kinetic Model Development. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, p. 10595–10606, 2012.
- [75] PASQUINI, D., PIMENTA, M. T. B., FERREIRA, L. H. & CURVELO, A. A. S. Extraction of Lignin from Sugar Cane Bagasse and Pinus Taeda Wood Chips Using Ethanol–Water Mixtures and Carbon Dioxide at High Pressures. *J. Of Supercritical Fluids*. v. 36, p. 31–39, 2005.
- [76] OBAMA, P., RICOCHON, G., MUNIGLIA, L. & BROSSE, N. Combination of Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Organosolv Pretreatments: Effect on Lignin Structures, Delignification Yields and Cellulose-to-Glucose Conversion. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 156–163, 2012.
- [77] VALLEJOS, M. E., ZAMBON, M. D., AREA, M. C. & CURVELO, A. A. S. Low Liquid-Solid Ratio Fractionation of Sugarcane Bagasse by Hot Water Autohydrolysis and Organosolv Delignification. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 349-353, 2015.
- [78] LESKINEN, T., KELLEY, S. S. & ARGYROPOULOS, D. S. Refining of Ethanol Biorefinery Residues to Isolate Value Added Lignins. **ACS Sustainable Chem. Eng.**, v. 3, p. 1632–1641, 2015.
- [79] KILPELÄINEN, P., KITUNEN, V., PRANOVICH, A., ILVESNIEMI, H. & WILLFÖR, S. Pressurized Hot Water Flow-through Extraction of Birch Sawdust with Acetate Ph Buffer. **BioResources**, v. 8, n. 4, p. 5202-5218, 2012.
- [80] ROMANÍ, A., GARROTE, G., LÓPEZ, F. & PARAJÓ, J. C. Eucalyptus Globulus Wood Fractionation by Autohydrolysis and Organosolv Delignification. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 5896–5904, 2011.

- [81] ROMANÍ, A., RUIZ, H. A., PEREIRA, F. B., DOMINGUES, L. & TEIXEIRA, J. A. Fractionation of Eucalyptus Globulus Wood by Glycerol–Water Pretreatment: Optimization and Modeling. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 52, p. 14342–14352, 2013.
- [82] AZELLE, N. I. W., JAHIM, J. M., RABU, A., MURAD, A. M. A., BAKAR, F. D. A. & LIAS, R. M. Efficient Removal of Lignin with the Maintenance of Hemicellulose from Kenaf by Two-Stage Pretreatment Process. **Carbohydrate Polymers.**, v. 99, p. 447– 453, 2014
- [83] XU, Y., LI, K. & ZHANG, M. Lignin Precipitation on the Pulp Fibers in the Ethanol-Based Organosolv Pulping. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 301, p. 255–263, 2007.
- [84] SLUITER, A., RUIZ, R., SCARLATA, C., SLUITER, J. & TEMPLETON, D. Determination of Extractives in Biomass. **National Renewable Energy Laboratory**, 2008.
- [85] MACEDO, L. A. & FILOMENO, C. L. Procedimento Operacional Padrão Espectrômetro De Fluorescência De Raios X Por Energia Dispersiva Edx-720 Shimadzu. http://caiq.unb.br/images/POPs/POP_EDX.pdf, 2017.
- [86] NREL/TP-510-42618. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. **National Renewable Energy Laboratory**, 2012.
- [87] SCHWAAB, M. & PINTO, J. C. Análise De Dados Experimentais I - Fundamentos De Estatística E Estimação De Parâmetros. **COPPE/UFRJ**, v. 1, p. 167-170, 2007.
- [88] DIAS, P. M. D., LIBERATO, M. C. T. C., MAGALHÃES, C. E. C., CAVALCANTE, L. B., FERRO, E. S. & MORAIS, S. M. Determinação De Cinzas E Constituintes Minerais Em Amostras De Própolis De Diferentes Locais Do Ceará. **49º Congresso brasileiro de química**, 2009.

Apêndice A - Teste do cartucho ideal para método de Soxhlet.

Nesse apêndice são apresentados os resultados obtidos para teste do cartucho ideal para o método de Soxhlet para cálculo dos extrativos.

TESTE DO CARTUCHO

O teste do cartucho ideal para cálculo dos extrativos foi realizado antes da extração. O cartucho ideal para método é aquele que não sofre perda de material durante o processo de extração, para que a sua perda não interfira no resultado dos extrativos presentes no *Eucalyptus grandis*.

Tabela 11. Análise dos cartuchos para método Soxhlet.

| Cartucho | Perda de material (%) |
|----------------------|------------------------------|
| Papel filtro | 2,22 |
| Cartucho de celulose | 2,70* |
| Filtro de pano | 1,23 |
| Cadinho gooch (n°4) | 0 |

*A perda de 2,7% foi no segundo teste de extração com o mesmo cartucho.

A Tabela 17 apresenta os resultados de perda de massa dos cartuchos avaliados em extrações via técnica de Soxhlet para cálculo do teor de extrativos presentes na biomassa *in natura*. A partir dos resultados apresentados foi possível observar que apenas o cadinho gooch (Porosidade n° 4) não obteve perda de material, permanecendo com sua massa constante durante o teste. Foi realizado um segundo teste de extração no mesmo cartucho de celulose, para saber se a perda da primeira extração era única e após essa perda, a massa permaneceria constante, porém o cartucho continuou apresentando perda, mostrando não ser eficiente para o uso no método. Essa segunda extração foi realizada, pois na metodologia da NREL/TP-510-42618 o cartucho de celulose era o indicado para a análise. Com base nos resultados o cartucho de celulose utilizado nesse trabalho não foi ideal para o processo de extração. E por final o cartucho ideal escolhido foi o cadinho gooch (n°4).

Apêndice B – Cromatogramas e tabela de concentração de todas as amostras analisadas

Nesse apêndice são apresentados os cromatogramas e as concentrações (g/L) dos açúcares da hemicelulose e celulose obtidos depois da fração líquida de todas as amostras após hidrólise ácida serem analisadas no HPLC.

v

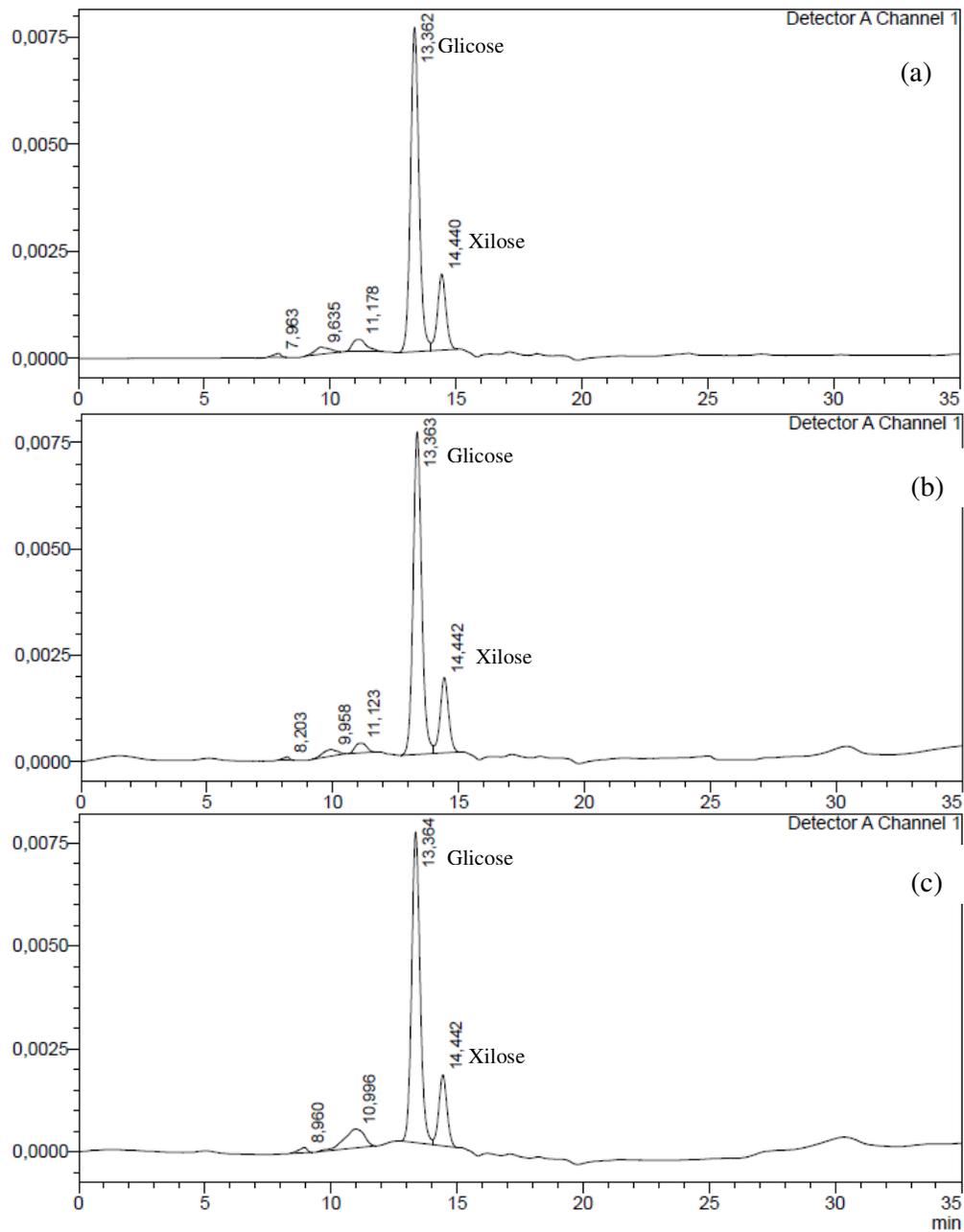


Figura 28. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa *in natura*. (a) $E_{(in\ natura)(1)}$, (b) $E_{(in\ natura)(2)}$ e (c) $E_{(in\ natura)(3)}$.

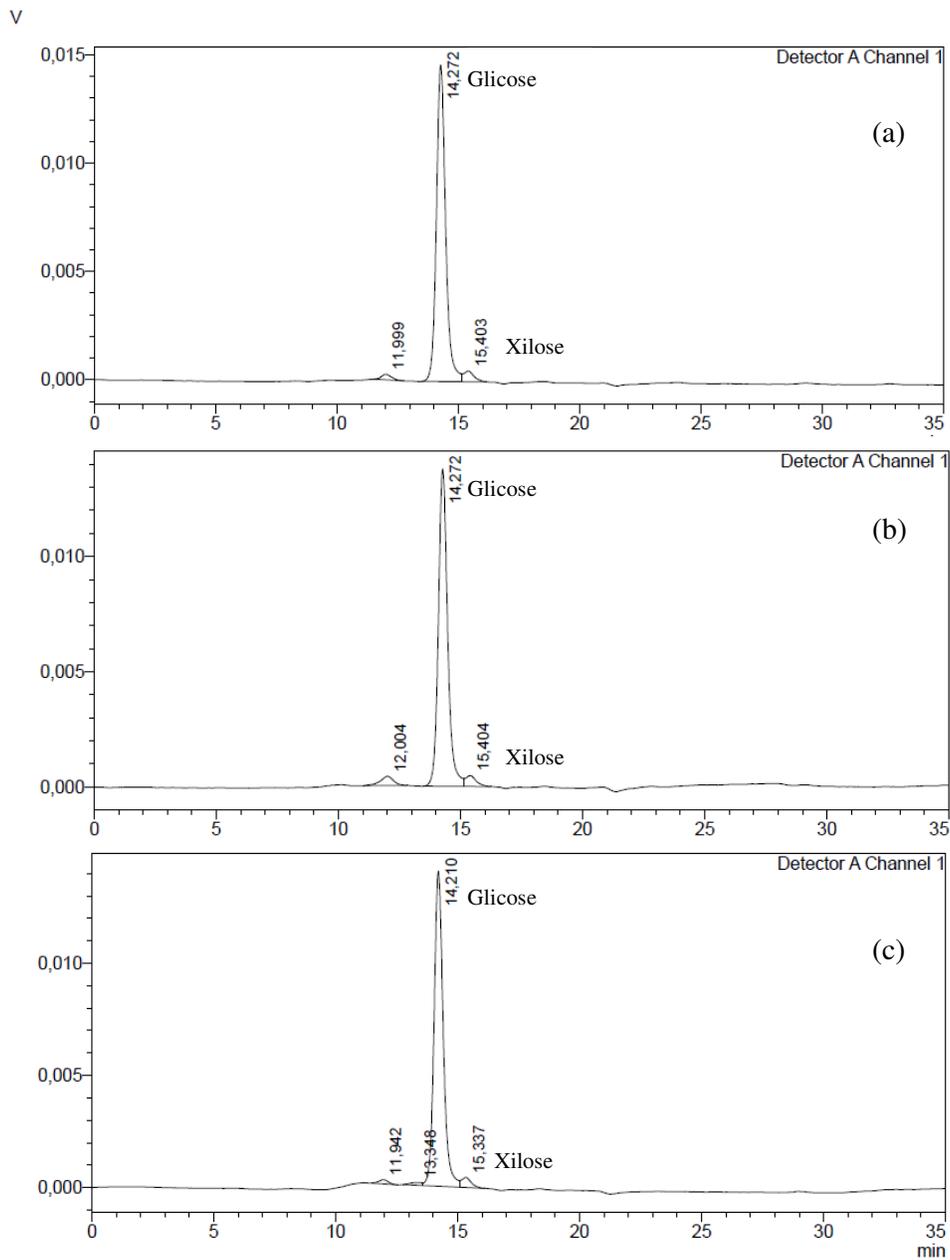


Figura 29. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (50%, 200°C). (a) $E_{(50,200)lavada(1)}$, (b) $E_{(50,200)lavada(2)}$ e (c) $E_{(50,200)lavada(3)}$.

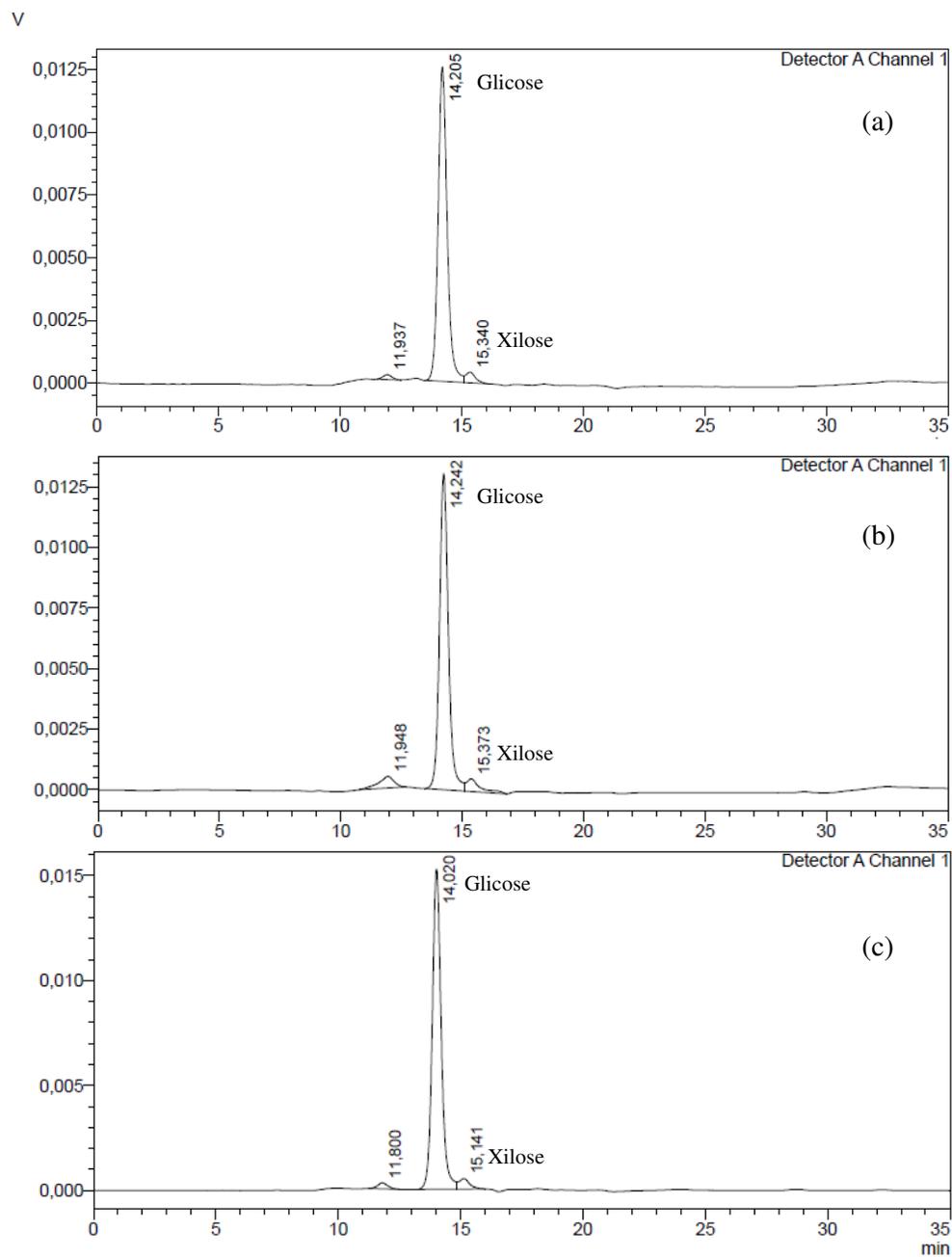


Figura 30. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (30%, 180°C). (a) $E_{(30,180)lavada(1)}$, (b) $E_{(30,180)lavada(2)}$ e (c) $E_{(30,180)lavada(3)}$.

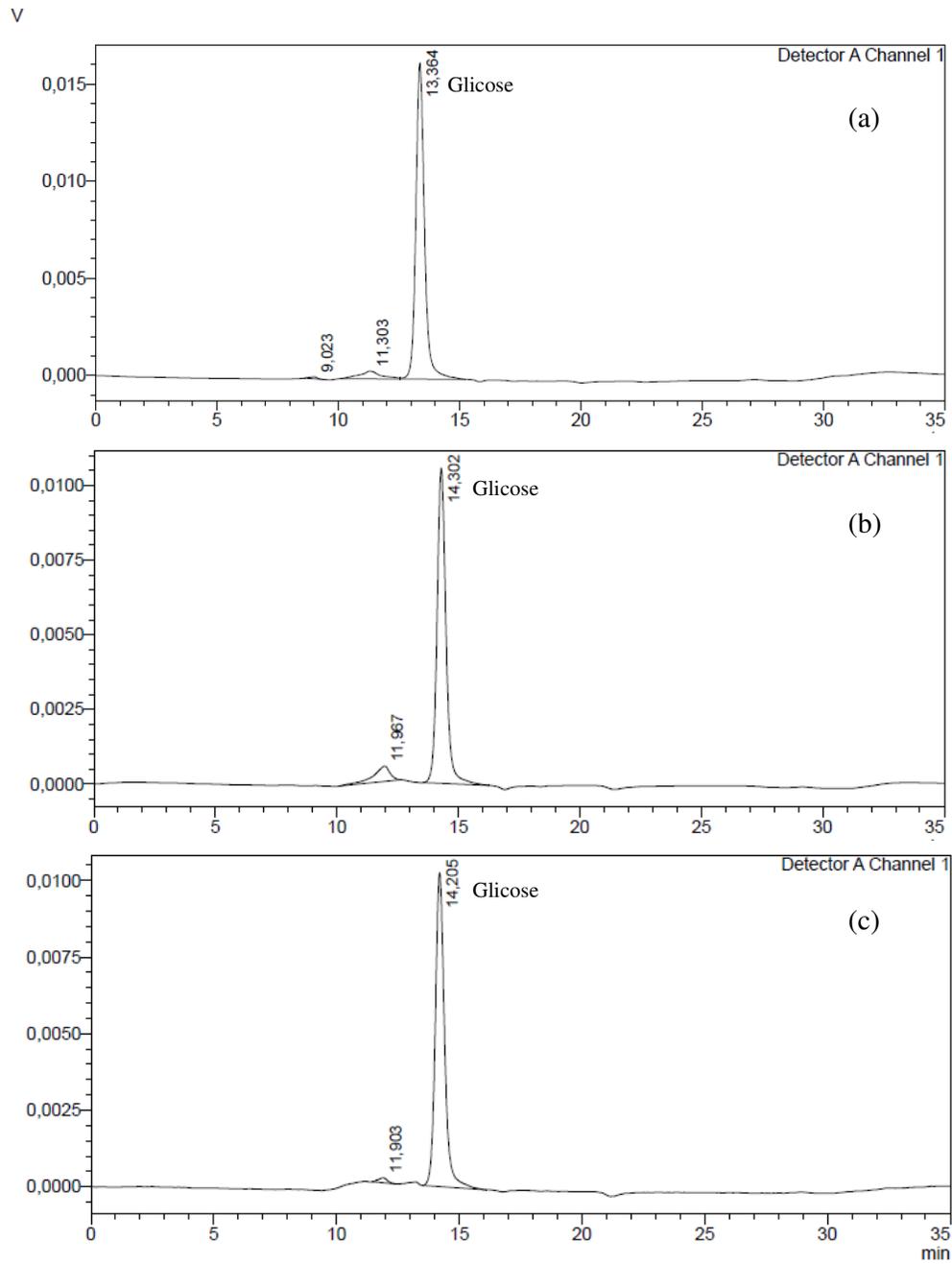


Figura 31. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (30%, 220°C). (a) $E_{(30,220)lavada(1)}$, (b) $E_{(30,220)lavada(2)}$ e (c) $E_{(30,220)lavada(3)}$.

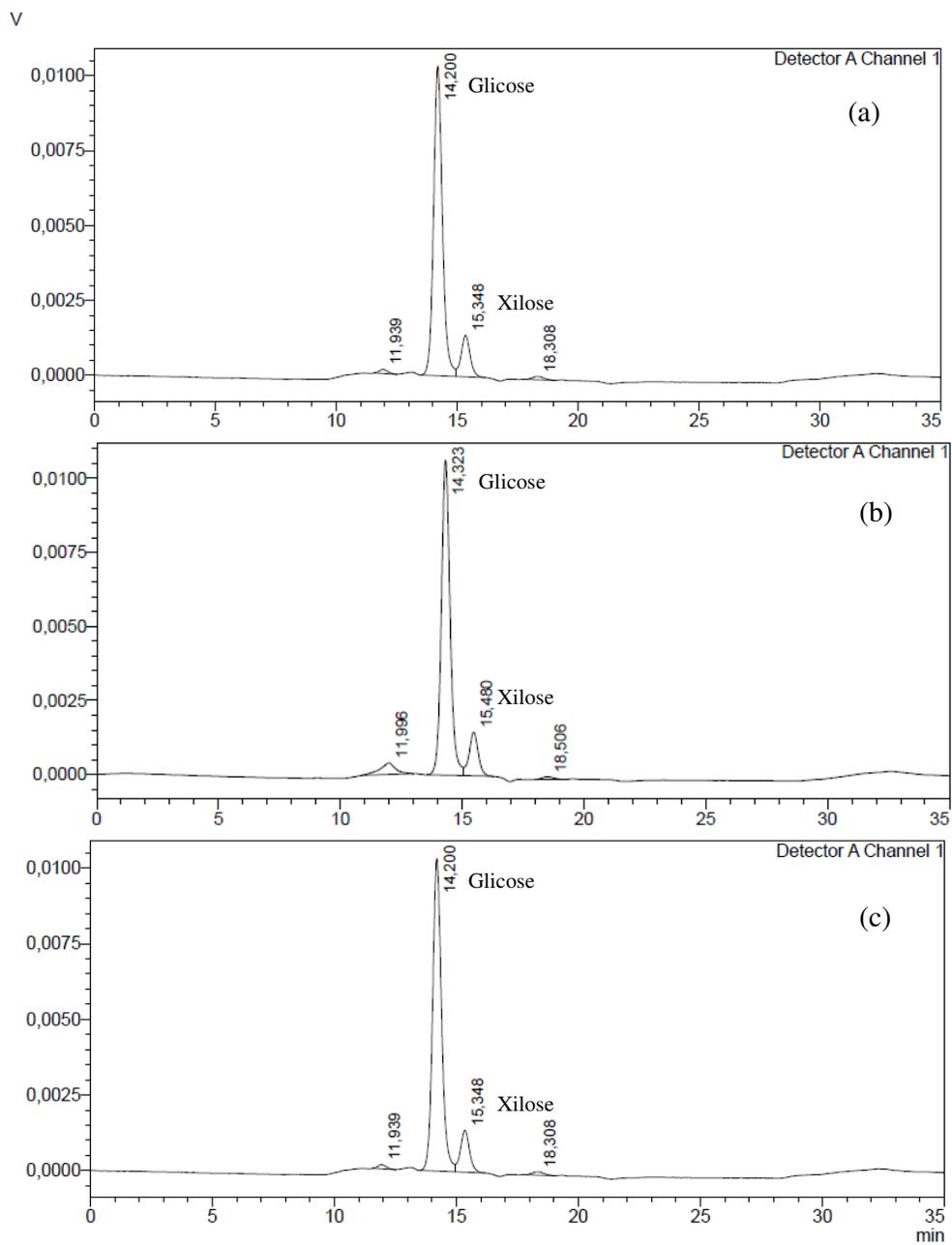


Figura 32. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada lavada nas condições (70%, 180°C). (a) $E_{(70,180)lavada(1)}$, (b) $E_{(70,180)lavada(2)}$ e (c) $E_{(70,180)lavada(3)}$.

v

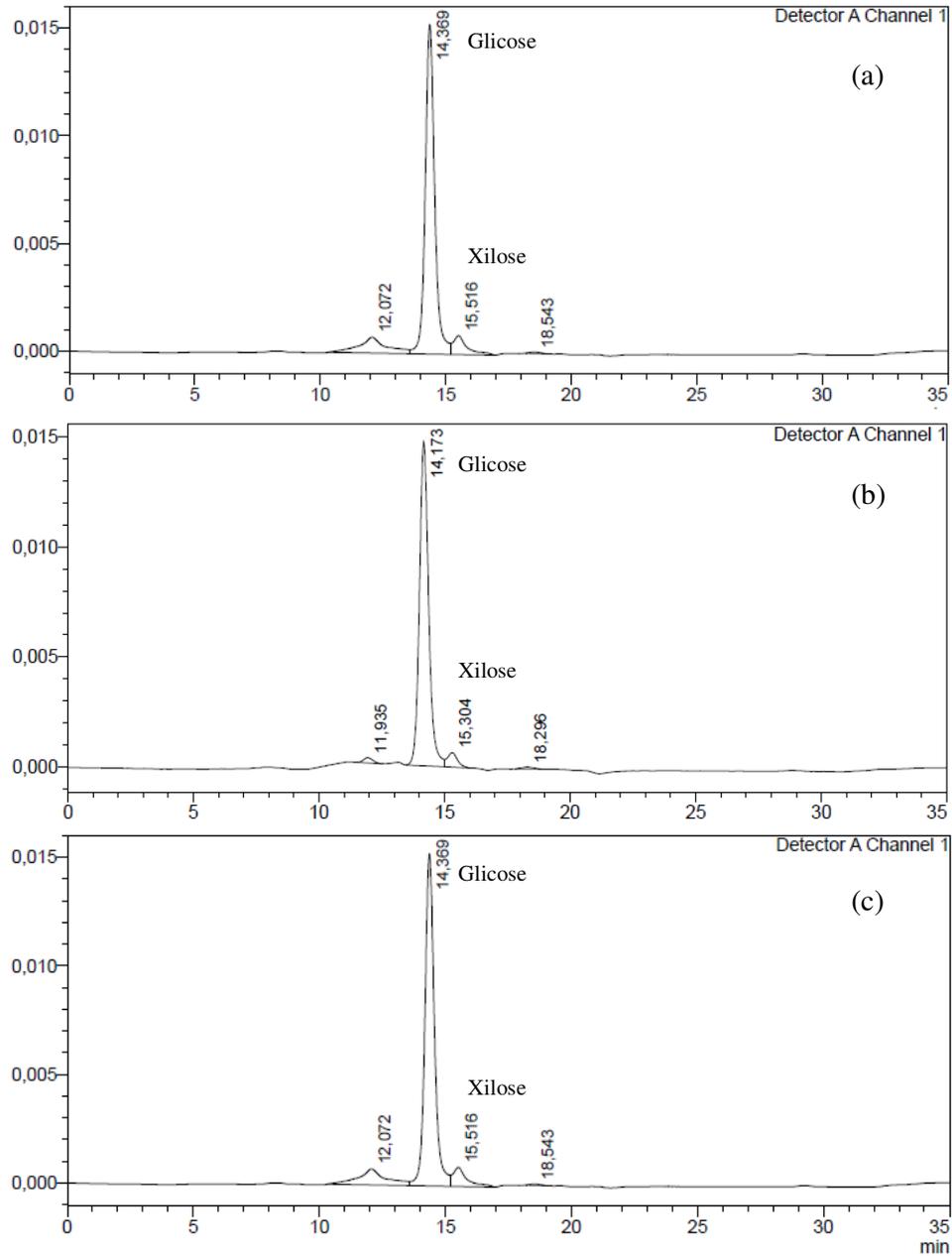


Figura 33. Tempo de retenção e área dos picos cromatográficos referentes a açúcares presentes na biomassa tratada nas condições (70%, 220°C). (a) $E_{(70,220)lavada(1)}$, (b) $E_{(70,220)lavada(2)}$ e (c) $E_{(70,220)lavada(3)}$.

Tabela 12. Concentrações dos açúcares presentes nas amostras analisadas.

| Amostras analisadas | Glicose (g/L) | Média | Desvio padrão | Xilose (g/L) | Média | Desvio padrão |
|----------------------------|----------------------|--------------|----------------------|---------------------|--------------|----------------------|
| Bin ₍₁₎ | 1,448 | 1,448 | 0,005 | 0,363 | 0,358 | 0,016 |
| Bin ₍₂₎ | 1,453 | | | 0,341 | | |
| Bin ₍₃₎ | 1,443 | | | 0,371 | | |
| FSL _{(50,200)(1)} | 2,831 | 2,791 | 0,038 | 0,159 | 0,153 | 0,010 |
| FSL _{(50,200)(2)} | 2,756 | | | 0,158 | | |
| FSL _{(50,200)(3)} | 2,786 | | | 0,142 | | |
| FSL _{(30,180)(1)} | 2,469 | 2,469 | 0,016 | 0,133 | 0,133 | 0,020 |
| FSL _{(30,180)(2)} | 2,453 | | | 0,152 | | |
| FSL _{(30,180)(3)} | 2,485 | | | 0,113 | | |
| FSL _{(30,220)(1)} | 2,988 | 2,980 | 0,008 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| FSL _{(30,220)(2)} | 2,981 | | | 0,000 | | |
| FSL _{(30,220)(3)} | 2,972 | | | 0,000 | | |
| FSL _{(70,180)(1)} | 2,001 | 1,998 | 0,003 | 0,361 | 0,354 | 0,026 |
| FSL _{(70,180)(2)} | 1,997 | | | 0,375 | | |
| FSL _{(70,180)(3)} | 1,995 | | | 0,325 | | |
| FSL _{(70,220)(1)} | 2,863 | 2,847 | 0,016 | 0,197 | 0,196 | 0,008 |
| FSL _{(70,220)(2)} | 2,832 | | | 0,188 | | |
| FSL _{(70,220)(3)} | 2,847 | | | 0,203 | | |

Apêndice C – Leituras de absorvâncias e volumes de diluição para cálculo de determinação da lignina solúvel.

A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos no espectrofotômetro para determinação da lignina solúvel em todas as amostras analisadas.

Tabela 13. Resultados para quantificação da lignina solúvel.

| Amostras analisadas | Volume amostra (mL) | Volume solução (mL) | Absorvância média | Absorvância branco |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Bin ₍₁₎ | 1 | 3 | 0,9343 | 0,0577 |
| Bin ₍₂₎ | 1 | 3 | 0,9046 | 0,0577 |
| Bin ₍₃₎ | 1 | 3 | 0,9220 | 0,0577 |
| FSL _(50,200) (1) | 2 | 1 | 0,8353 | 0,0578 |
| FSL _(50,200) (2) | 2 | 1 | 0,8096 | 0,0578 |
| FSL _(50,200) (3) | 2 | 1 | 0,7689 | 0,0578 |
| FSL _(30,180) (1) | 1 | 2 | 0,7325 | 0,0578 |
| FSL _(30,180) (2) | 1 | 2 | 0,7148 | 0,0578 |
| FSL _(30,180) (3) | 1 | 2 | 0,7130 | 0,0578 |
| FSL _(30,220) (1) | 2 | 1 | 0,7230 | 0,0585 |
| FSL _(30,220) (2) | 2 | 1 | 0,7173 | 0,0585 |
| FSL _(30,220) (3) | 2 | 1 | 0,7242 | 0,0585 |
| FSL _(70,180) (1) | 1 | 3 | 0,7972 | 0,0578 |
| FSL _(70,180) (2) | 1 | 3 | 0,7811 | 0,0578 |
| FSL _(70,180) (3) | 1 | 3 | 0,7915 | 0,0578 |
| FSL _(70,220) (1) | 2 | 1 | 0,8988 | 0,0578 |
| FSL _(70,220) (2) | 2 | 1 | 0,8856 | 0,0578 |
| FSL _(70,220) (3) | 2 | 1 | 0,8948 | 0,0578 |

Apêndice D – Curvas de calibração.

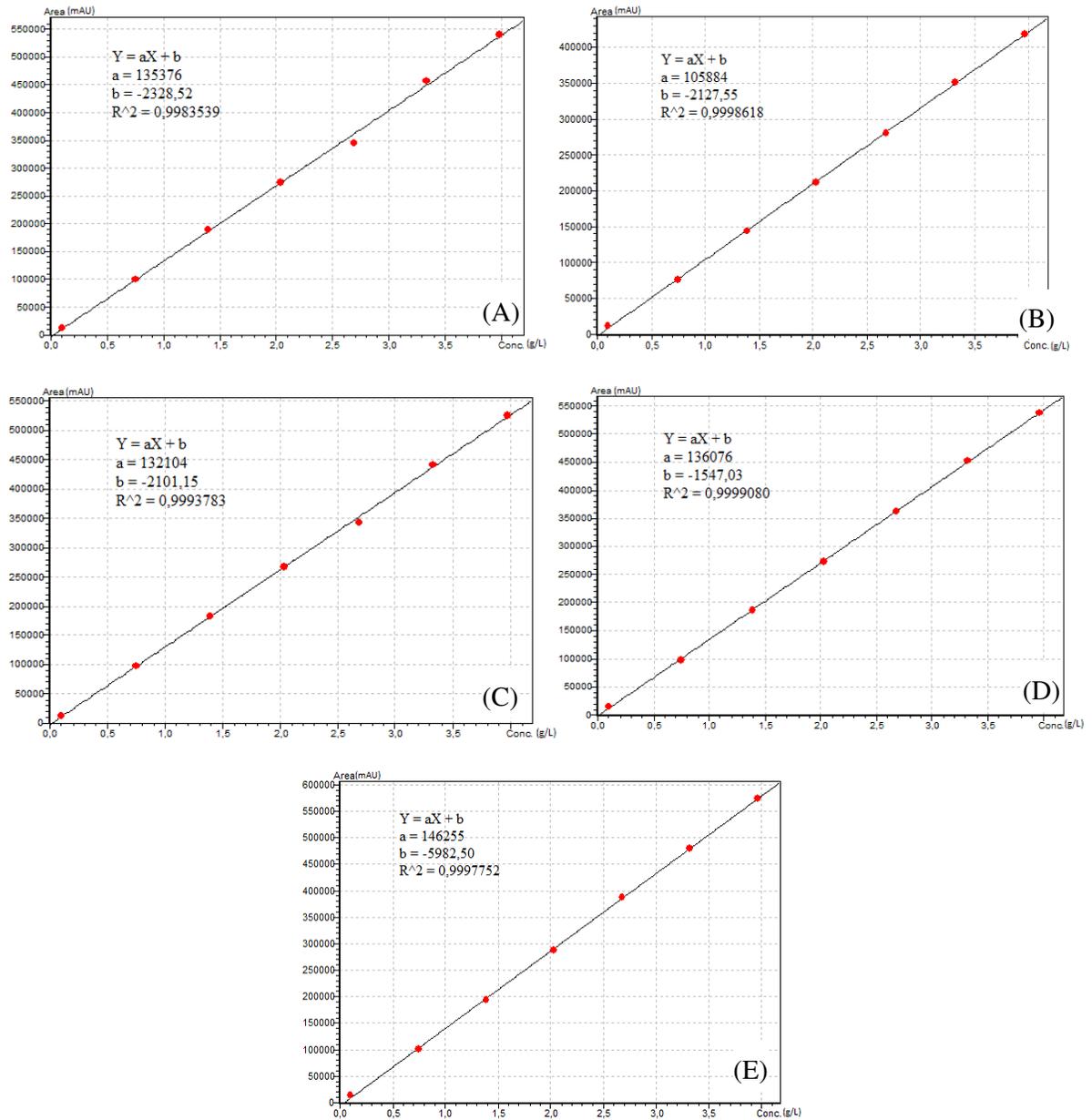


Figura 34. Curvas de calibração correlacionando a área de cada pico no cromatograma com a concentração dos açúcares (g/L). (A) glicose, (B) galactose, (C) xilose, (D) arabinose e (E) manose.

Apêndice E - Tabela 14. Dados de cinzas e lignina insolúvel das frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

| Amostra | Cinzas | | | | | | | Massa de lignina insolúvel (g) | Lignina insolúvel base seca | | | | | | |
|----------------------------|-----------------|--------|---------------|---------------------|-------|-----------|----------|--------------------------------|-----------------------------|-------|---------------|---------------------|-------|-----------|-------|
| | Cinzas Totais % | Média | Desvio padrão | Intervalo confiança | | | | | Lignina insolúvel % | Média | Desvio padrão | Intervalo confiança | | | |
| | | | | média | | variância | | | | | | média | | variância | |
| | | | | Inf | Sup | Inf | Sup | | | | | Inf | Sup | Inf | Sup |
| Bin ₍₁₎ | 0,1398 | 0,1398 | 0,0005 | 0,138 | 0,141 | 8,22E-08 | 1,20E-05 | 0,0767 | 26,80 | 27,18 | 0,76 | 25,29 | 29,07 | 0,16 | 22,90 |
| Bin ₍₂₎ | 0,1403 | | | | | | | 0,0800 | 28,06 | | | | | | |
| Bin ₍₃₎ | 0,1392 | | | | | | | 0,0767 | 26,69 | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(1)} | 0,1682 | 0,1796 | 0,0192 | 0,132 | 0,227 | 9,99E-05 | 1,46E-02 | 0,0378 | 12,71 | 12,53 | 0,46 | 11,38 | 13,68 | 0,06 | 8,48 |
| FSL _{(50,200)(2)} | 0,1689 | | | | | | | 0,0381 | 12,87 | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(3)} | 0,2018 | | | | | | | 0,0357 | 12,00 | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(1)} | 0,9784 | 0,9780 | 0,0019 | 0,973 | 0,983 | 1,07E-06 | 1,56E-04 | 0,0571 | 19,26 | 19,61 | 0,53 | 18,30 | 20,92 | 0,08 | 11,01 |
| FSL _{(30,180)(2)} | 0,9758 | | | | | | | 0,0601 | 20,22 | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(3)} | 0,9797 | | | | | | | 0,0571 | 19,36 | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(1)} | 0,4667 | 0,4674 | 0,0016 | 0,463 | 0,472 | 7,51E-07 | 1,09E-04 | 0,0628 | 20,93 | 20,81 | 0,52 | 19,52 | 22,09 | 0,07 | 10,53 |
| FSL _{(30,220)(2)} | 0,4693 | | | | | | | 0,0634 | 21,25 | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(3)} | 0,4662 | | | | | | | 0,0608 | 20,24 | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(1)} | 0,1655 | 0,1667 | 0,0011 | 0,164 | 0,169 | 3,26E-07 | 4,76E-05 | 0,0584 | 19,33 | 19,36 | 0,81 | 17,34 | 21,37 | 0,18 | 25,95 |
| FSL _{(70,180)(2)} | 0,1671 | | | | | | | 0,0604 | 20,18 | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(3)} | 0,1676 | | | | | | | 0,0554 | 18,56 | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(1)} | 0,2337 | 0,2354 | 0,0020 | 0,230 | 0,241 | 1,17E-06 | 1,71E-04 | 0,0290 | 9,68 | 9,64 | 0,91 | 7,39 | 11,89 | 0,22 | 32,43 |
| FSL _{(70,220)(2)} | 0,2347 | | | | | | | 0,0260 | 8,71 | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(3)} | 0,2377 | | | | | | | 0,0310 | 10,52 | | | | | | |

Apêndice F - Tabela 15. Dados da lignina solúvel das frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

| Amostras analisadas | Lignina solúvel base seca | | | | | | |
|----------------------------|---------------------------|-------|---------------|------------------------|-------|-----------|-------|
| | % | Média | Desvio padrão | Intervalo de confiança | | | |
| | | | | Média | | Variância | |
| | | | | Inf | Sup | Inf | Sup |
| Bin ₍₁₎ | 8,88 | 8,74 | 0,14 | 8,399 | 9,074 | 0,005 | 0,729 |
| Bin ₍₂₎ | 8,61 | | | | | | |
| Bin ₍₃₎ | 8,72 | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(1)} | 5,68 | 5,47 | 0,24 | 4,859 | 6,074 | 0,016 | 2,361 |
| FSL _{(50,200)(2)} | 5,52 | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(3)} | 5,20 | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(1)} | 4,95 | 4,86 | 0,08 | 4,663 | 5,057 | 0,002 | 0,249 |
| FSL _{(30,180)(2)} | 4,80 | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(3)} | 4,83 | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(1)} | 4,81 | 4,81 | 0,01 | 4,785 | 4,835 | 0,00003 | 0,004 |
| FSL _{(30,220)(2)} | 4,80 | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(3)} | 4,82 | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(1)} | 7,09 | 7,07 | 0,07 | 6,908 | 7,239 | 0,001 | 0,175 |
| FSL _{(70,180)(2)} | 7,00 | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(3)} | 7,13 | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(1)} | 6,10 | 6,10 | 0,08 | 5,917 | 6,290 | 0,002 | 0,223 |
| FSL _{(70,220)(2)} | 6,03 | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(3)} | 6,18 | | | | | | |

Apêndice G - Tabela 16. Dados da lignina total presente das frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

| Amostras analisadas | Lignina | | | | | | |
|----------------------------|---------|-------|--------|------------------------|-------|-----------|-------|
| | (%) | Média | Desvio | Intervalo de confiança | | | |
| | | | | média | | variância | |
| | | | | Inf | Sup | Inf | Sup |
| Bin ₍₁₎ | 35,68 | 35,93 | 0,42 | 34,89 | 36,97 | 0,05 | 6,93 |
| Bin ₍₂₎ | 36,41 | | | | | | |
| Bin ₍₃₎ | 35,69 | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(1)} | 18,52 | 18,01 | 0,69 | 16,27 | 19,74 | 0,13 | 19,34 |
| FSL _{(50,200)(2)} | 18,29 | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(3)} | 17,21 | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(1)} | 24,22 | 24,48 | 0,43 | 23,40 | 25,56 | 0,05 | 7,42 |
| FSL _{(30,180)(2)} | 24,98 | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(3)} | 24,24 | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(1)} | 25,75 | 25,62 | 0,34 | 24,77 | 26,47 | 0,03 | 4,68 |
| FSL _{(30,220)(2)} | 25,88 | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(3)} | 25,23 | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(1)} | 26,43 | 26,44 | 0,52 | 25,14 | 27,73 | 0,07 | 10,69 |
| FSL _{(70,180)(2)} | 26,96 | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(3)} | 25,92 | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(1)} | 15,79 | 15,75 | 1,06 | 13,13 | 18,38 | 0,30 | 44,03 |
| FSL _{(70,220)(2)} | 14,68 | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(3)} | 16,79 | | | | | | |

Apêndice H - Tabela 17. Teores de hemicelulose e celulose presentes nas frações sólidas lavadas (FSL) e biomassa *in natura* (Bin).

| Amostras analisadas | Glucana (%) | Xilana (%) | Hemicelulose | | | Intervalo de confiança | | | | Celulose | | | Intervalo de confiança | | | | |
|----------------------------|-------------|------------|--------------|-------|--------|------------------------|-------|-----------|-------|----------|-------|--------|------------------------|-------|-----------|-------|--|
| | | | % | Média | Desvio | média | | variância | | % | Média | Desvio | média | | variância | | |
| | | | | | | Inf | Sup | Inf | Sup | | | | Inf | Sup | Inf | Sup | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Bin ₍₁₎ | 39,62 | 9,71 | 9,71 | | | | | | | 39,62 | | | | | | | |
| Bin ₍₂₎ | 39,91 | 9,16 | 9,09 | 9,58 | 0,45 | 8,47 | 10,70 | 0,05 | 7,93 | 39,61 | 39,62 | 0,01 | 39,60 | 39,63 | 0,00 | 0,001 | |
| Bin ₍₃₎ | 39,32 | 9,89 | 9,96 | | | | | | | 39,62 | | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(1)} | 74,58 | 4,10 | 4,12 | | | | | | | 75,04 | | | | | | | |
| FSL _{(50,200)(2)} | 72,91 | 4,09 | 4,06 | 3,95 | 0,25 | 3,33 | 4,57 | 0,02 | 2,47 | 72,47 | 73,62 | 1,30 | 70,39 | 76,87 | 0,46 | 67,12 | |
| FSL _{(50,200)(3)} | 73,37 | 3,66 | 3,66 | | | | | | | 73,38 | | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(1)} | 65,23 | 3,44 | 3,44 | | | | | | | 65,23 | | | | | | | |
| FSL _{(30,180)(2)} | 64,64 | 3,92 | 3,91 | 3,43 | 0,49 | 2,22 | 4,64 | 0,06 | 9,30 | 64,50 | 65,28 | 0,81 | 63,28 | 67,28 | 0,18 | 25,69 | |
| FSL _{(30,180)(3)} | 65,97 | 2,93 | 2,94 | | | | | | | 66,11 | | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(1)} | 77,99 | 0,00 | 0,00 | | | | | | | 77,99 | | | | | | | |
| FSL _{(30,220)(2)} | 78,24 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 77,71 | 77,90 | 0,16 | 77,49 | 78,31 | 0,01 | 1,07 | |
| FSL _{(30,220)(3)} | 77,47 | 0,00 | 0,00 | | | | | | | 78,00 | | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(1)} | 51,86 | 9,15 | 9,15 | | | | | | | 51,86 | | | | | | | |
| FSL _{(70,180)(2)} | 52,25 | 9,59 | 9,51 | 9,03 | 0,56 | 7,63 | 10,42 | 0,09 | 12,43 | 51,81 | 52,15 | 0,56 | 50,77 | 53,54 | 0,08 | 12,29 | |
| FSL _{(70,180)(3)} | 52,35 | 8,34 | 8,41 | | | | | | | 52,80 | | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(1)} | 74,85 | 5,04 | 5,04 | | | | | | | 74,85 | | | | | | | |
| FSL _{(70,220)(2)} | 74,35 | 4,83 | 4,80 | 5,05 | 0,25 | 4,43 | 5,67 | 0,02 | 2,47 | 73,98 | 74,97 | 1,06 | 72,35 | 77,59 | 0,30 | 44,00 | |
| FSL _{(70,220)(3)} | 75,70 | 5,28 | 5,30 | | | | | | | 76,08 | | | | | | | |

Apêndice I - Tabela 18. Percentual e massa de todos os componentes presentes nas biomassas tratadas e *in natura* em todos os experimentos.

| Experimento | Massa inicial (biomassa <i>in natura</i>) (g) | Percentual e massa dos componentes (Biomassa <i>in natura</i>) | | | | | | Fração sólida lavada (FSL) | | Percentual e massa dos componentes (FSL) | | | | | |
|--------------------------|--|--|-------|--------------|------|----------|-------|-------------------------------|----------------------------|---|-------|--------------|------|----------|-------|
| | | Lignina | | Hemicelulose | | Celulose | | Massa (g) | Id. amostra | Lignina | | Hemicelulose | | Celulose | |
| | | (%) | (g) | (%) | (g) | (%) | (g) | | | (%) | (g) | (%) | (g) | (%) | (g) |
| E _{(50,200)(1)} | 70,16 | 36,00 | 25,26 | 10,00 | 7,02 | 40,00 | 28,06 | 34,56 | FSL _{(50,200)(1)} | 18,52 | 6,40 | 4,12 | 1,42 | 75,04 | 25,93 |
| E _{(50,200)(2)} | 70,17 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,07 | 35,23 | FSL _{(50,200)(2)} | 18,29 | 6,44 | 4,06 | 1,43 | 72,47 | 25,53 |
| E _{(50,200)(3)} | 70,17 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,07 | 34,98 | FSL _{(50,200)(3)} | 17,21 | 6,02 | 3,66 | 1,28 | 73,48 | 25,70 |
| E _{(30,180)(1)} | 70,16 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,06 | 37,36 | FSL _{(30,180)(1)} | 24,22 | 9,05 | 3,44 | 1,29 | 64,00 | 23,91 |
| E _{(30,180)(2)} | 70,18 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,07 | 36,11 | FSL _{(30,180)(2)} | 24,98 | 9,02 | 3,91 | 1,41 | 64,50 | 23,29 |
| E _{(30,180)(3)} | 70,16 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,06 | 35,72 | FSL _{(30,180)(3)} | 24,24 | 8,66 | 2,94 | 1,05 | 66,11 | 23,61 |
| E _{(30,220)(1)} | 70,18 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,07 | 31,56 | FSL _{(30,220)(1)} | 25,75 | 8,13 | 0,00 | 0,00 | 77,99 | 24,61 |
| E _{(30,220)(2)} | 70,17 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,07 | 31,63 | FSL _{(30,220)(2)} | 25,88 | 8,19 | 0,00 | 0,00 | 77,71 | 24,58 |
| E _{(30,220)(3)} | 70,17 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,07 | 30,99 | FSL _{(30,220)(3)} | 25,23 | 7,82 | 0,00 | 0,00 | 78,00 | 24,17 |
| E _{(70,180)(1)} | 70,17 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,07 | 47,48 | FSL _{(70,180)(1)} | 26,43 | 12,55 | 9,15 | 4,34 | 51,86 | 24,62 |
| E _{(70,180)(2)} | 70,08 | | 25,23 | | 7,01 | | 28,03 | 47,31 | FSL _{(70,180)(2)} | 26,96 | 12,75 | 9,51 | 4,50 | 51,81 | 24,51 |
| E _{(70,180)(3)} | 70,15 | | 25,25 | | 7,02 | | 28,06 | 46,64 | FSL _{(70,180)(3)} | 25,92 | 12,09 | 8,41 | 3,92 | 52,80 | 24,63 |
| E _{(70,220)(1)} | 70,16 | | 25,26 | | 7,02 | | 28,06 | 32,37 | FSL _{(70,220)(1)} | 15,79 | 5,11 | 5,04 | 1,63 | 74,85 | 24,23 |
| E _{(70,220)(2)} | 70,15 | | 25,25 | | 7,02 | | 28,06 | 33,44 | FSL _{(70,220)(2)} | 14,68 | 4,91 | 4,80 | 1,61 | 73,98 | 24,74 |
| E _{(70,220)(3)} | 70,11 | | 25,24 | | 7,01 | | 28,04 | 32,53 | FSL _{(70,220)(3)} | 16,79 | 5,46 | 5,30 | 1,72 | 76,08 | 24,75 |

