



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES JEQUITINHONHA E
MUCURI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS**



**PRÉ-TRATAMENTO ORGANOSSOLVE DA BIOMASSA DE
EUCALIPTO UTILIZANDO GLICERINA BRUTA**

IZABELA DA SILVA LIMA

UBERLÂNDIA – MG

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES JEQUITINHONHA E
MUCURI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS



IZABELA DA SILVA LIMA

PRÉ-TRATAMENTO ORGANOSSOLVE DA BIOMASSA DE
EUCALIPTO UTILIZANDO GLICERINA BRUTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis UFVJM/UFU, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, atendendo ao requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologia de Biocombustíveis, sob orientação do Professor Dr. Ricardo Reis Soares.

UBERLÂNDIA – MG

2019

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

L732
2019

Lima, Izabela da Silva, 1991-
PRÉ-TRATAMENTO ORGANOSSOLVE DA BIOMASSA DE
EUCALIPTO UTILIZANDO GLICERINA BRUTA [recurso eletrônico] /
Izabela da Silva Lima. - 2019.

Orientador: Ricardo Reis Soares.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Biocombustíveis.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2283>
Inclui bibliografia.

1. Biocombustível. I. Reis Soares, Ricardo , 1965-, (Orient.). II.
Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em
Biocombustíveis. III. Título.

CDU: 662.756

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ATA DE DEFESA

Programa de Pós-Graduação em:	Biocombustíveis				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 31, PPBIC				
Data:	29 de julho de 2019	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	11:00
Matrícula do Discente:	11722PGB006				
Nome do Discente:	Izabela da Silva Lima				
Título do Trabalho:	Pré-tratamento organossolve da biomassa de eucalipto utilizando glicerina bruta				
Área de concentração:	Biocombustíveis				
Linha de pesquisa:	Processos químicos e bioquímicos aplicados à conversão de biomassas a biocombustíveis.				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Subproduto de processos de conversão de biomassa				

Reuniu-se no Anfiteatro/sala Giulio Massarani, bloco 1K, sala 1K 228, Campus Santa Mônica, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis, assim composta: Doutores Vinicius Rossa; Antônio Maria Francisco Luiz José Bonomi, do Laboratório Nacional de Biorrenováveis - CNPEM; e o Professor Doutor Ricardo Reis Soares, da Universidade Federal de Uberlândia, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Ricardo Reis Soares, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Reis Soares, Professor(a) do Magistério Superior**, em 29/07/2019, às 11:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vinicius Rossa, Usuário Externo**, em 29/07/2019, às 11:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANTONIO MARIA FRANCISCO LUIZ JOSÉ BONOMI, Usuário Externo**, em 29/07/2019, às 11:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1391347** e o código CRC **BE6D5C88**.

*Dedico essa dissertação aos meus pais, Tarcísio e Luciana,
à minha irmã Sara e ao André, por sempre me apoiarem
incondicionalmente em todos momentos.*

AGRADECIMENTO

Gostaria de agradecer a Deus por mais essa etapa em minha vida, onde os desafios foram imensos, mas a fé sempre me permitiu continuar até a conclusão desse trabalho.

Aos meus pais Tarcísio e Luciana, pelo apoio incondicional em todas as fases da minha vida, por entenderem os motivos que me trouxeram até esse momento, e por acreditarem na minha capacidade. Sempre será por vocês todas as lutas e conquistas.

Agradeço a minha irmã Sara pela parceria em todos os momentos da nossa vida, pela preocupação de sempre e pelas visitas em Uberlândia durante esses anos.

Ao André, que esteve sempre ao meu lado, principalmente ao longo dos dois anos de mestrado que foram carregados de angústia, incertezas e muitos desafios, agradeço a confiança e compreensão, e por acreditar que juntos somos melhores.

Ao orientador Prof. Dr. Ricardo R. Soares, obrigada pela oportunidade e auxílio. Também agradeço o Dr. Vinicius Rossa por toda ajuda e orientação ao longo do desenvolvimento desse trabalho, e a Dr. Mylene Rezende por toda colaboração na fase final do mestrado. Agradeço também à CAPES pelo apoio financeiro à pesquisa e concessão da bolsa.

A todos os amigos do laboratório GPCAT que foram essenciais nessa etapa, tornando-a mais leve, e aos colegas de turma do mestrado pelos momentos compartilhados. Aos bons e velhos amigos, obrigada pelo apoio sempre.

E a todos que torceram por mim, e colaboraram de alguma forma para a conclusão dessa etapa, muito obrigada!

“Aprenda como se fosse viver para sempre.

Viva como se fosse morrer amanhã!”

Santo Isidoro de Sevilha

RESUMO

A busca por energias alternativas e renováveis, capazes de minimizar os impactos ambientais e diversificar a matriz energética, tem aumentado significativamente nos últimos anos. Com isso, as biomassas lignocelulósicas vêm ganhando destaque por serem fontes renováveis e abundantes no país. O setor florestal brasileiro, considerado potência mundial, é um segmento com elevada capacidade na construção de uma economia verde e vem intensificando os investimentos para utilização total das florestas, inclusive dos resíduos gerados, buscando desenvolver bioprodutos inovadores e essenciais às demandas futuras, principalmente por energia. Este trabalho tem como objetivo realizar o pré-tratamento organossolve da biomassa residual da colheita de eucalipto, utilizando como solvente a glicerina bruta, subproduto da produção de biodiesel, a fim de promover a deslignificação da biomassa e obter produtos de valor agregado. Um planejamento experimental 2⁽³⁻⁰⁾ foi realizado para verificar a influência das seguintes variáveis: temperatura (180-220 °C), tempo de reação (60-240 min) e concentração de glicerina bruta (40-80 %). O pré tratamento organossolve foi realizado em reator tipo batelada e, ao fim de cada processo, foram obtidas a biomassa deslignificada (fração sólida), e a fase líquida denominada licor negro. As biomassas *in natura* e pré-tratadas foram caracterizadas quanto à sua composição química, estrutura (difração de raios-X e índice de cristalinidade), morfologia (microscopia eletrônica de varredura - MEV), além de calculado o rendimento final e o teor de deslignificação, visando avaliar a eficiência do pré-tratamento. O licor negro foi analisado por Cromatografia de Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a lignina extraída presente foi separada por precipitação ácida para ser caracterizada. O aumento da temperatura e do tempo teve influência significativa na deslignificação da biomassa, atingindo valores de 83 %. As condições do pré-tratamento proporcionaram um aumento médio de até 20 % nos índices de cristalinidade (ICr) das biomassas pré-tratadas, provavelmente pela remoção de materiais amorfos, como lignina e hemicelulose durante o pré-tratamento, e permanência da celulose na biomassa. Visualmente e morfologicamente foi possível notar alterações na estrutura das fibras nas biomassas pré-tratadas em maiores temperaturas, quando comparadas à biomassa *in natura*. Na comparação entre glicerina bruta e pura, deslignificação e celulose residual foram maiores com a glicerina bruta como solvente, demonstrando seu potencial. Considerando os resultados encontrados, a utilização de dois resíduos, biomassa florestal e glicerina bruta, podem viabilizar economicamente o processo, gerando produtos de valor agregado, interesse econômico e podendo ser integrado ao conceito de biorrefinarias.

Palavras-chaves: *Eucalipto, pré-tratamento, glicerina bruta, organossolve, lignina.*

ABSTRACT

The search for alternative and renewable energies, capable of minimizing environmental impacts and diversifying the energy matrix, has increased significantly in recent years. With this, the lignocellulosic biomass has been gaining prominence as they are renewable and abundant sources in the country. The Brazilian forestry sector, considered a world power, is a segment with a high capacity in the construction of a green economy, and has intensified investments for the total use of forests, including waste generated, seeking to develop innovative bioproducts essential to future demands mainly for energy. This work aimed to perform the organosolv pretreatment of the residual biomass of the eucalyptus harvest using crude glycerin as a byproduct of the biodiesel production in order to promote the delignification of the biomass and to obtain added value products. An experimental design $2^{(3-0)}$ was performed to verify the influence of the following variables: temperature (180-220°C), reaction time (60-240 min) and crude glycerin concentration (40-80%). The organosolv pretreatment was performed in a batch reactor, and at the end of each process, the delignified biomass (solid fraction) was obtained, and the liquid phase was denominated black liquor. The "in nature" and pretreated biomasses were characterized as to their chemical composition, structure (X-ray diffraction and crystallinity index), morphology (scanning electron microscopy - SEM), besides calculating the final yield and delignification content, in order to evaluate the efficiency of pretreatment. The black liquor was analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), and the extracted lignin present was separated by acid precipitation to be characterized. The increase in temperature and time had a significant influence on the delignification of the biomass, reaching 83%. Pretreatment conditions provided an average 20% increase in the crystallinity indexes (ICr) of the pretreated biomasses, probably by the removal of amorphous materials such as lignin and hemicellulose during pretreatment, and cellulose permanence in the biomass. Visually, it was possible to notice changes in fiber structure in pretreated biomasses at higher temperatures when compared to "in nature" biomass. In the comparison between crude and pure glycerin, delignification and residual cellulose were higher with crude glycerin as solvent, demonstrating its potential. Considering the results obtained, the use of two residues, forest biomass and crude glycerin, can economically make the process feasible, generating value added products, economic interest and being able to be integrated with the biorefinery concept.

Keywords: *Eucalyptus*, *pretreatment*, *crude glycerin*, *organosolv*, *lignin*.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

ABRAF	Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas
AFEX	Explosão de fibras com amônia
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.
ANOVA	Análise de Variância
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DRX	Difração de Raios-X
EXP.	Experimento
FT-IR	Infravermelho com transformada de Fourier
GL	Graus de Liberdade
HMF	Hidroximetilfurfural
IBÁ	Indústria Brasileira de Árvores
ICr	Índice de Cristalinidade
IPEF	Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MME	Ministério de Minas e Energia
MQ	Média dos Quadrados
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
PPGB	Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis
RID	Detector de índice de refração
SQ	Soma de Quadrados
TAPPI	Associação Técnica da Indústria de Polpa e Papel
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
UV-VIS	Ultravioleta Visível
2G	Segunda Geração

LISTA DE SÍMBOLOS

\approx	Aproximadamente
Å	Angström
°C	Graus Celsius
Λ	Lambda
<	Menor do que
>	Maior do que
=	Igual
%	Por cento
μ	Micro
Θ	Theta
C (g.L ⁻¹)	Concentração de lignina Klason solúvel em meio ácido
cm	Centímetro
g	Grama
g.L ⁻¹	Grama por litro
H	Hora
Kg	Quilograma
kV	Quilovolt
L	Litro
pH	Potencial hidrogeniônico
M	Metro
Min	Minutos
mA	Miliampère
mL	Mililitro
mm	Milímetro
M _i	Massa inicial da biomassa seca
M _f	Massa final seca da biomassa após o pré-tratamento
M _b	Massa da biomassa seca usada no pré-tratamento
mol/L	Molaridade por litro
Mtep	Milhão de tonelada equivalente de petróleo
Nm	Nanômetro
Rpm	Rotação por minuto
Ton	Tonelada

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Cálculo do teor de umidade	36
Equação 2 - Cálculo do teor de cinzas.....	37
Equação 3 - Cálculo do teor de extrativos.....	37
Equação 4 - Cálculo do teor de lignina insolúvel.....	38
Equação 5 - Cálculo da concentração de lignina.....	39
Equação 6 - Cálculo da absorbância dos produtos de decomposição dos açúcares.....	39
Equação 7 - Cálculo do teor de lignina solúvel.....	39
Equação 8 - Cálculo do teor de lignina total.....	40
Equação 9 - Cálculo do teor de celulose.....	40
Equação 10 - Cálculo do teor de hemicelulose.....	41
Equação 11 - Cálculo da porcentagem de rendimento.....	41
Equação 12 - Cálculo da porcentagem de deslignificação.....	42
Equação 13 - Cálculo do Índice de Cristalinidade.....	44
Equação 14 - Equação dada pelo modelo estatístico para Deslignificação (%).....	50
Equação 15 - Equação do Teste F1.....	50
Equação 16 - Equação do Teste F2.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição e evolução da área com plantios de eucalipto, por Estado.....	17
Figura 2	Fontes de energia utilizadas pelo setor florestal.....	18
Figura 3	Resíduos gerados na indústria florestal e sua destinação.....	19
Figura 4	Composição dos materiais lignocelulósicos.....	20
Figura 5	Estrutura linear da celulose.....	21
Figura 6	Representação dos principais constituintes da hemicelulose.....	22
Figura 7	Unidades de fenilpropanos da lignina.....	23
Figura 8	Efeito do pré-tratamento sobre a estrutura das biomassas.....	24
Figura 9	Oferta Interna de Energia no Brasil – 2018 (%).....	28
Figura 10	Produtos e coprodutos das biorrefinarias de materiais lignocelulósicos.....	29
Figura 11	Reação de transesterificação para produção do Biodiesel.....	30
Figura 12	Produção de Biodiesel nos últimos anos.....	30
Figura 13	Glicerina gerada na produção de Biodiesel (B100) de 2009-2017.....	31
Figura 14	Usos e produtos obtidos partir da Lignina.....	32
Figura 15	Fluxograma das etapas realizadas durante o estudo do pré-tratamento.....	33
Figura 16	Reator batelada utilizado no pré-tratamento organossolve.....	35
Figura 17	Gráfico de Pareto para a variável resposta: Deslignificação (%).....	49
Figura 18	Superfície de Resposta da Deslignificação (%) em função da Temperatura (°C) e Tempo (min).....	50
Figura 19	Gráfico dos resultados obtidos experimentalmente versus os resultados obtidos pelo modelo.....	52
Figura 20	Aspecto visual das biomassas <i>in natura</i> e pré-tratadas.....	54
Figura 21	Imagens de MEV das biomassas <i>in natura</i> e pré-tratadas ampliadas 100x, 500x, 1000x, respectivamente (a,b,c).....	56
Figura 22	Análise de Espectrômetro de Infravermelho (FT-IR) das ligninas.....	61
Figura 23	Análise de Espectrômetro de Infravermelho (FT-IR) da lignina lavada.....	62
Figura 24	Difratogramas de Raio-X da biomassa de eucalipto <i>in natura</i> e após os pré-tratamentos (a,b).....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Planejamento experimental do pré-tratamento organossolve	34
Tabela 2	Composição da biomassa <i>in natura</i> e comparativo com outros trabalhos.....	45
Tabela 3	Composição das biomassas de eucalipto após pré-tratamento organossolve.....	46
Tabela 4	Porcentagem de deslignificação do material pré-tratado.....	48
Tabela 5	Respostas dos efeitos para a variável de resposta Deslignificação (%)......	49
Tabela 6	ANOVA para variável resposta Deslignificação (%)......	51
Tabela 7	Caracterização das biomassas pré-tratadas com glicerina pura e comparações.....	53
Tabela 8	Lignina obtida após extração ácida do licor negro.....	59
Tabela 9	Interpretação dos espectros em análise de Infravermelho (FT-IR).....	60
Tabela 10	Índice de cristalinidade da biomassa <i>in natura</i> e após os pré-tratamentos.....	64

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	<i>Objetivo geral.....</i>	15
2.2	<i>Objetivo específico.....</i>	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1	<i>Biomassa lignocelulósica.</i>	16
3.2	<i>A cultura do Eucalipto e o Setor Florestal Brasileiro.....</i>	16
3.2.1	<i>Resíduos florestais de eucalipto.....</i>	18
3.3	<i>Composição e estrutura da biomassa lignocelulósica.....</i>	20
3.3.1	<i>Celulose.....</i>	20
3.3.2	<i>Hemicelulose.....</i>	21
3.3.3	<i>Lignina.....</i>	22
3.3.4	<i>Extrativos e cinzas.....</i>	23
3.4	<i>Pré-tratamentos do material lignocelulósico.....</i>	24
3.4.1	<i>Pré-tratamento físico.....</i>	25
3.4.2	<i>Pré-tratamentos químicos.....</i>	26
3.4.2.1	<i>Pré-tratamento ácido.....</i>	26
3.4.2.2	<i>Pré-tratamento básico.....</i>	26
3.4.2.3	<i>Pré-tratamento organossolve</i>	27
3.5	<i>Conceito de Biorrefinarias.....</i>	28
3.5.1	<i>Industria de Biodiesel e geração de Glicerol Bruto</i>	29
3.5.2	<i>Industria de lignina e suas aplicações</i>	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1.	<i>Matéria-prima utilizada no estudo.....</i>	33
4.2	<i>Planejamento experimental e variáveis significativas.....</i>	34
4.3	<i>Pré-tratamento organossolve da biomassa</i>	34
4.4	<i>Caracterização da biomassa in natura quanto à sua composição.....</i>	36

4.4.1	<i>Determinação do teor de umidade.....</i>	36
4.4.2	<i>Determinação do teor de cinzas.....</i>	36
4.4.3	<i>Determinação do teor de extrativos.....</i>	37
4.4.4	<i>Determinação do teor de lignina insolúvel.....</i>	38
4.4.5	<i>Determinação do teor de lignina solúvel.</i>	38
4.4.6	<i>Determinação dos teores de celulose e hemicelulose.....</i>	40
4.5	<i>Caracterização do pré-tratamento e da biomassa pré-tratada.....</i>	41
4.5.1	<i>Rendimento do pré-tratamento.....</i>	41
4.5.2	<i>Deslignificação promovida pelo pré-tratamento.....</i>	41
4.5.3	<i>Teores de Celulose e Hemicelulose nas biomassas pré-tratadas.....</i>	42
4.6	<i>Análise do Licor Negro e separação da lignina extraída.....</i>	42
4.7	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	43
4.8	<i>Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....</i>	43
4.9	<i>Difração de Raio-X (DRX)</i>	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1	<i>Composição química da biomassa in natura.....</i>	45
5.2	<i>Pré-tratamento organossolve da biomassa de eucalipto.....</i>	46
5.2.1	<i>Caracterização das biomassas de eucalipto pré-tratadas.....</i>	46
5.2.2	<i>Teores de celulose e hemicelulose nas biomassas pré-tratadas.....</i>	47
5.2.3	<i>Deslignificação obtida das biomassas pré-tratadas.....</i>	48
5.2.4	<i>Validação do potencial de uso da glicerina bruta.....</i>	52
5.3	<i>Aspecto físico visual das biomassas in natura e pré-tratadas</i>	54
5.4	<i>Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</i>	55
5.5	<i>Quantificação de lignina obtida do licor negro, após o pré-tratamento.....</i>	59
5.6	<i>Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) da lignina extraída.....</i>	60
5.7	<i>Difratometria de raios X das ligninas.....</i>	62
6	CONCLUSÃO.....	65
7	SUGESTÕES E TRABALHOS FUTUROS.....	66
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

A demanda energética devido ao crescimento populacional e da atividade econômica, vem causando mudanças climáticas e a deterioração do meio-ambiente. Estas mudanças, na maioria das vezes, são atribuídas ao aumento das emissões de gases de efeito estufa (ROMANI et al., 2016) oriundas da queima e/ou ao uso crescente de fontes fósseis, tais como petróleo, metano e carvão. Diante desse cenário, tem se buscado a diversificação da matriz energética através do uso de fontes renováveis, visando a minimização dos impactos ambientais e a ampliação da eficiência energética, fazendo com que nas últimas décadas, pesquisas sobre fontes alternativas de energia aumentassem significativamente (DIAS et al., 2012). Além disso, com a escassez cada vez maior das fontes fósseis, a introdução gradativa de fontes renováveis na matriz energética é altamente relevante para um crescimento sustentável (LI et al., 2018).

Dentre as diversas alternativas de fontes de energia renovável, a biomassa lignocelulósica vem ganhando destaque. Diversos estudos têm mostrado que a biomassa lignocelulósica possui um enorme potencial para a produção de biocombustíveis, produtos químicos, compósitos, e demais produtos de alto valor agregado (LIGERO et al., 2011). Ela ainda é considerada, por diversos pesquisadores, como uma fonte de energia extremamente promissora principalmente por sua abundância na natureza e por apresentar características físico-químicas favoráveis, com potencial para substituir diversos combustíveis fósseis (HORST, 2013). Por apresentar uma baixa inflamabilidade, seu transporte, quando comparado com o de combustíveis fósseis, apresenta um risco menor (SILVA, 2010; SANTOS et al., 2012). Em seus estudos, Zhang et al. (2016) também afirma que a biomassa lignocelulósica representa o maior volume potencial e menor custo para biocombustíveis em larga escala.

O Brasil devido à sua extensa área verde, de florestas e de cultivo, e às suas condições climáticas pode se constituir no maior produtor de material lignocelulósico, ou seja, de energia renovável, caso aproveite o seu potencial agrícola e florestal, e de seus respectivos resíduos.

O setor florestal, por exemplo, se destaca no país pela atuação de grandes companhias, altamente tecnológicas e com produção crescente. De acordo com relatório anual da Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ, 2018) com uma área de 7,84 milhões de hectares, o setor brasileiro de árvores plantadas é responsável por mais de 90% de toda a madeira produzida para fins industriais no país, sendo um dos segmentos com maior potencial na construção de uma economia verde. Além disso, as empresas do setor vêm intensificando os investimentos para possibilitar o uso de 100% de suas florestas, com destaque para os resíduos gerados, buscando,

assim, o desenvolvimento de bioprodutos inovadores capazes de atender às demandas futuras. Pode-se destacar dentro desta produção florestal, o plantio de eucalipto, que ocupa 5,7 milhões de hectares. Consequentemente, grande quantidade de resíduos lignocelulósicos são gerados, e essas matérias-primas são de grande interesse industrial uma vez que podem ser utilizadas na geração de produtos de maior valor agregado.

Além da produção de energia, os processos e operações para converter industrialmente os materiais lignocelulósicos em compostos de alto valor agregado como lignina, açúcares, e outras moléculas precursoras de petroquímicos e combustíveis (CAVALHEIRO et al., 2008; SANTOS et al., 2012; SANTOS, 2013), dá origem ao conceito de biorrefinarias. Sendo a biomassa a única fonte renovável de carbono que pode ser convertida em gás, líquido e produtos sólidos, o conceito de biorrefinaria ganha ainda mais atenção (AYHAN, 2008).

Porém, as biomassas lignocelulósicas são formadas por estruturas complexas, que exigem processos de desconstrução elaborados para possibilitar um aproveitamento eficiente. Processos termoquímicos e químicos têm sido utilizados dependendo da natureza da biomassa. Dentre as diferentes estratégias para o fracionamento da biomassa, pode ser citado o processo de tratamento químico denominado “organossolve”, onde a partir de uma solução aquosa com solvente orgânico e condições reacionais apropriadas, a lignina é removida seletivamente (LI et al., 2018). Segundo Sun e Cheng (2008), os pré-tratamentos, dentre eles o organossolve, são processos-chave envolvidos na conversão de carboidratos para açúcares redutores de baixo custo. Zhang et al. (2016) traz que o pré-tratamento que utiliza solventes orgânicos pode ser uma excelente solução devido a vantagens como a capacidade de fracionar a biomassa em celulose, lignina e hemicelulose com alta pureza, além de fácil recuperação e reutilização dos solventes utilizados.

Um dos solventes orgânicos que vem despertando interesse em pré-tratamentos é o glicerol, pela sua capacidade de promover a deslignificação da biomassa (MEIGHAN et al., 2017) em temperaturas mais elevadas. Na produção de biodiesel, uma grande quantidade de glicerina é obtida como subproduto da reação. Essa glicerina bruta sai do processo com grande quantidade de impurezas e a purificação para usos farmacêuticos e/ou alimentícios é cara, inviabilizando os investimentos das biorrefinarias. Segundo Cybulska et al. (2017) e Romani et al. (2016), utilizar a glicerina no pré-tratamento, pode ajudar a reduzir o problema de excesso de oferta do produto, o que gera desmotivação das biorrefinarias. A logística para utilização da glicerina bruta deve ser levada em consideração, visando a aplicabilidade em níveis industriais.

Logo, o pré-tratamento organossolve da biomassa residual de eucalipto utilizando como solvente a glicerina em sua forma bruta, é alvo de estudo deste trabalho, onde se pretende, a

partir do uso de resíduos, promover a deslignificação da biomassa, gerar produtos de maior valor agregado e reduzir os custos de pré-tratamento, procurando viabilizar o processo de maneira integrada nas biorrefinarias.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo geral a realização do pré-tratamento organossolve da biomassa de eucalipto, resíduo da colheita florestal, utilizando como solvente a glicerina bruta (subproduto da produção de biodiesel), visando promover a deslignificação da biomassa, além da geração de produtos de maior valor agregado.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a biomassa de eucalipto *in natura* e pré-tratada quanto aos teores de umidade, cinzas, celulose, hemicelulose e lignina;
- Avaliar o efeito e a significância das condições experimentais através das variáveis, tempo de reação, temperatura e concentração de glicerina, utilizadas no pré-tratamento organossolve;
- Comparar o efeito da glicerina pura e bruta no pré-tratamento organossolve relacionado ao potencial de deslignificação e manutenção da celulose residual;
- Analisar a fração líquida (licor negro) resultante dos experimentos de pré-tratamento organossolve, com o objetivo de quantificar e caracterizar a lignina extraída da biomassa e agora presente na fase líquida;
- Identificar os demais produtos de valor agregado gerados a partir do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, tanto na fase sólida (biomassa pré-tratada) quanto na fase líquida (licor negro).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Biomassa lignocelulósica

Com a busca crescente por energias alternativas e renováveis que sejam capazes de minimizar os impactos ambientais, as biomassas vêm ganhando destaque. Além de potenciais fontes de energia, as biomassas ainda possibilitam a diversificação da matriz energética através de fontes renováveis, visando a minimização dos impactos ambientais e a segurança energética.

De acordo com estudos de Zhang et al. (2016), a biomassa lignocelulósica representa o maior potencial e o menor custo para biocombustíveis e produção bioquímica. Uma vez que o Brasil possui elevado potencial para produção de energia através de fontes alternativas, a grande disponibilidade de biomassas provenientes das diversas culturas produzidas no país que podem ser usadas para esse fim, é o ponto chave. (MENDES, 2013).

De uma maneira geral, as biomassas lignocelulósicas possuem em composição cerca de 30-45 % de celulose, 15-30 % de hemicelulose e 17-30 % de lignina (BRAGATTO, 2010). Dentre as diversas biomassas lignocelulósicas, podemos citar a biomassa de eucalipto, de elevada produtividade no Brasil, alimentando um setor de grande importância econômica.

3.2 A cultura do Eucalipto e o Setor Florestal Brasileiro

Pertencente à família das mirtáceas, o eucalipto é espécie florestal originária na Austrália e Oceania, possuindo mais de 700 espécies. Com fácil adaptação a diversos tipos de clima, o eucalipto começou a ser introduzido no Brasil no fim do século XIX, com o objetivo de ajudar na produção de dormentes para as linhas férreas que se instalavam no país.

Trata-se de uma espécie que atinge de 30-40 metros de altura e desenvolve-se melhor em condições de solo profundo. Seu sistema radicular pode atingir até dois metros e meio de profundidade, possui rápido crescimento volumétrico e potencialidade para produzir árvores com boa forma, facilidade a programas de manejo e melhoramento, elevada produção de sementes e facilidade de propagação vegetativa, além de uma ótima adequação aos mais diferentes usos industriais e ampla aceitação no mercado (EMBRAPA, 2019).

De acordo com último relatório da Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ, 2018), os plantios de eucalipto ocupam 5,7 milhões de hectares da área de árvores plantadas do País e estão localizados, principalmente, em Minas Gerais (24 %), em São Paulo (17 %) e no Mato Grosso do Sul (15 %). Nos últimos cinco anos, o crescimento da área de eucalipto foi de 2,4 % ao ano (Figura 1).

Distribuição em 2016 / Distribution in 2016

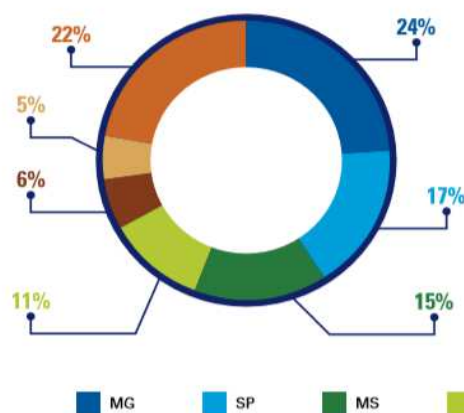
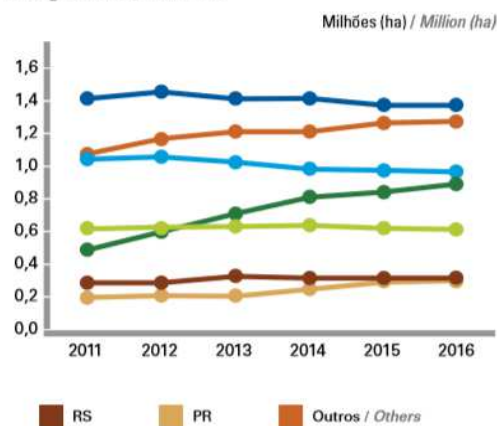
Evolução da área, 2011-2016
Change in area, 2011-2016

Figura 1 - Distribuição e Evolução da área com plantios de eucalipto, por Estado (IBÁ, 2018).

O setor florestal se destaca no país pela atuação de grandes empresas no ramo, que apresentam alto grau tecnológico e aumento crescente na produção. A expectativa das empresas do setor que vêm intensificando os investimentos é promover a utilização total da floresta, inclusive dos resíduos gerados, possibilitando novos usos como a lignina, o etanol de segunda geração, além do desenvolvimento de bioprodutos inovadores, essenciais para atender à demanda futura da população, principalmente por energia. (IPEF, 2018)

Com a utilização das mais avançadas técnicas de manejo sustentável, as florestas plantadas são responsáveis por mais de 90 % de toda a madeira utilizada para fins produtivos, além de contribuírem de forma inegável para a conservação da biodiversidade, preservação do solo, regulação dos recursos hídricos, recuperação de áreas degradadas e geração de energia renovável (IPEF, 2018).

Sendo o setor florestal um dos segmentos com maior potencial de contribuição para a construção de uma economia verde, as empresas vêm utilizando quase que exclusivamente subprodutos de seus processos para a geração de energia térmica e elétrica. O licor negro, proveniente da produção da celulose, e a biomassa florestal representam 62,5 % e 17,4 %, respectivamente, de toda energia produzida (Figura 2).

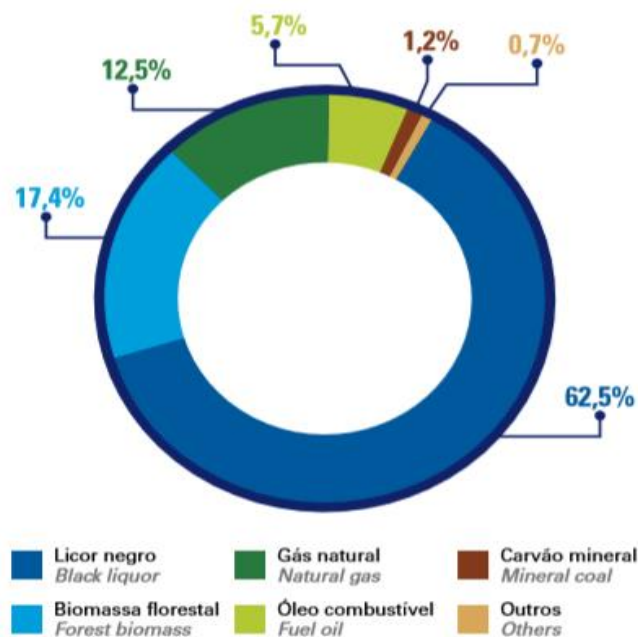


Figura 2 – Fontes de energia utilizadas pelo setor florestal (IBÁ, 2018).

3.2.1 Resíduos florestais de eucalipto

Como mencionado, o Brasil se destaca mundialmente na produção florestal, alcançando resultados significativos economicamente e possui uma extensa área de florestas plantadas com destaque para os plantios de eucalipto que ocupam 5,7 milhões de hectares. Consequentemente, grande quantidade de resíduos lignocelulósicos são gerados, e essas matérias-primas são de grande interesse industrial uma vez que podem ser utilizadas na geração de produtos de maior valor agregado.

Os resíduos florestais podem ser definidos como as sobras de madeira decorrentes de processamento físico, mecânico ou químico, material este que apresenta elevado poder energético (BRAGATTO, 2010). Dentre os resíduos da indústria de celulose, se destacam os resíduos da madeira provenientes do descascamento e picagem das toras, que na maioria das vezes é deixado no campo. (SILVA, 2010).

Uma vez que a madeira do eucalipto é constituída principalmente por fibras, quando são gerados resíduos fibrosos, perde-se um material valioso rico em celulose, ocasionando um aumento dos custos tanto pela perda de matéria-prima, como na disposição desses resíduos. Com isso, faz-se necessário o estudo de aplicações para esses resíduos florestais, visando um ampliar seu uso de maneira eficiente e gerando lucro para as empresas. A utilização eficiente

da biomassa lignocelulósica e a redução do custo de produção são medidas obrigatórias para atingir um processo rentável (ROMANI et al., 2016)

De acordo com o último relatório da Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ, 2018), as empresas do setor de árvores plantadas adotam como prática a gestão rigorosa dos resíduos sólidos de suas atividades, com o objetivo de reduzir a geração, assegurar a destinação correta e atender aos requisitos legais e de certificação. Somente no ano de 2017, o setor gerou 47,8 milhões de toneladas de resíduos sólidos, sendo que, desse total, 33,7 milhões (70,5 %) foram gerados pelas atividades florestais, como mostra a Figura 3.

Atividade	Item	Milhões (ton)	%	Destinação Final
Florestal (70,5 %)	Cascas, galhos e folhas	33,6	99,7	Mantidos no campo, como proteção e adubação do solo.
	Óleos, graxas e embalagens de agroquímicos	0,1	0,3	Encaminhados atendendo critérios legais até sua destinação final.
	Subtotal	33,7	100	
Industrial (29,5 %)	Cavacos, serragem e licor negro	9,3	66,0	Destinados para geração de energia, por meio da queima em caldeiras.
	Cavacos, serragem e aparas de papel	3,6	25,5	Reutilizados como matéria-prima por empresas do setor de árvores plantadas.
	Lama de cal e cinza de caldeiras	0,7	5,0	Reutilizados como matéria-prima por outros setores industriais.
	Compostos químicos e outros	0,5	3,5	Encaminhados para aterros industriais atendendo aos critérios legais.
	Subtotal	14,1	100	
Total		47,8	100	

Figura 3 – Resíduos gerados na indústria florestal e sua destinação (Adaptado de Relatório IBÁ 2018 – Ano/base 2017).

Com o conhecimento do potencial que esses resíduos apresentam, as empresas do setor florestal vêm intensificando os investimentos para utilização total da floresta, inclusive dos resíduos gerados, buscando assim o desenvolvimento de bioprodutos inovadores, essenciais para atender à demanda futura da população, principalmente por energia (IPEF, 2019).

3.3 Composição e estrutura da biomassa lignocelulósica

As biomassas lignocelulósicas, abundantes no país, são estruturas complexas constituídas principalmente por celulose, hemiceluloses e lignina, e em menores quantidades de cinzas e extrativos. A variação da composição se dá em consequência da espécie, melhoramento genético, clima, entre outros. A Figura 4 demonstra como fibras de celulose se entrelaçam com lignina e hemicelulose, formando uma estrutura complexa, o que favorece a estabilidade e rigidez da célula vegetal. Porém, a complexidade do arranjo ocasiona sérias restrições para a produção de biocombustíveis, sendo necessário conhecer os componentes separadamente (MEIGHAN, 2016).

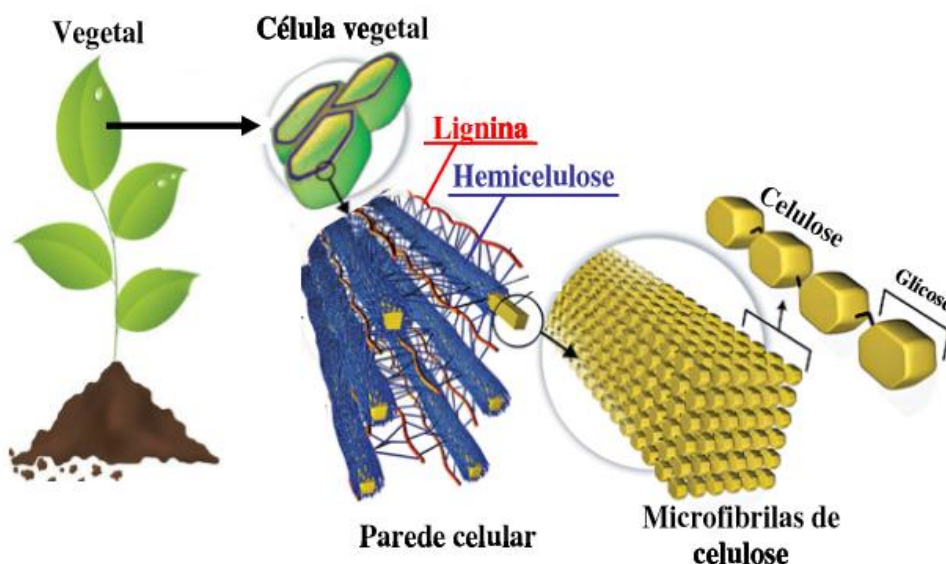


Figura 4 – Composição dos materiais lignocelulósicos (BRAGATTO, 2010; RITTER, 2008).

Com o objetivo de conhecer melhor os componentes que formam a estrutura complexa da biomassa lignocelulósica, ambos foram abordados abaixo em uma descrição mais aprofundada.

3.3.1 Celulose

Dentre os componentes da biomassa, se encontra a celulose como principal polissacarídeo, constituindo cerca de 30-45 % da planta. A celulose pode ser definida como um homopolímero linear de fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$, composta por monômeros de glicose unidos por

uma ligação glicosídica do tipo β -1,4, como mostra a Figura 5. Devido a sua forma e às fortes ligações, a celulose apresenta resistência química e biológica, além de ser insolúvel em água e em grande número de solventes (SANTOS et al., 2012). De acordo com Chin et al. (2014), acredita-se que o que evita com que a celulose seja facilmente dissolvida em solventes comuns, seja a presença das fortes ligações intermoleculares de hidrogênio entre as cadeias de celulose.

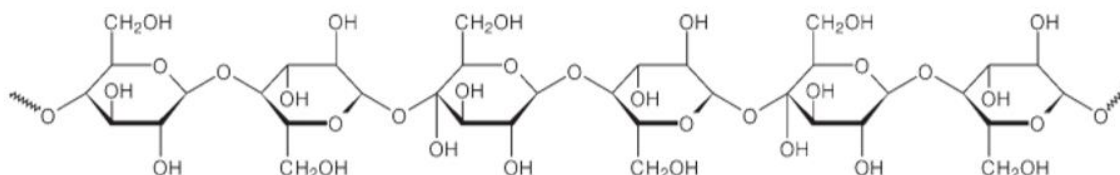


Figura 5 – Estrutura linear da celulose (SANTOS et al., 2001).

Segundo Meighan (2016), a organização, ou seja, o arranjo das microfibrilas de celulose dentro do complexo lignocelulósico é o que confere o grau de cristalinidade de uma determinada biomassa vegetal, o que significa que, quanto maior a organização das microfibrilas em regiões altamente ordenadas maior o grau de cristalinidade da biomassa e maior quantidade de celulose.

3.3.2 Hemicelulose

A fração hemicelulósica constitui cerca de 15-30 % da biomassa lignocelulósica (REYES et al., 2013). Trata-se de heteropolissacarídeos ramificados e amorfos, compostos principalmente por pentoses como xilose e arabinose, além de apresentar hexoses (glicose, galactose, manose, frutose), e ácidos como glicurônico e galacturônico (YANG et al., 2011). Estes polissacarídeos são ligados à celulose se entrelaçando com as microfibrilas e, conseqüentemente, formando a parte estrutural da parede celular (MOSIER et al., 2005). A Figura 6 apresenta os principais açúcares e derivados da hemicelulose:

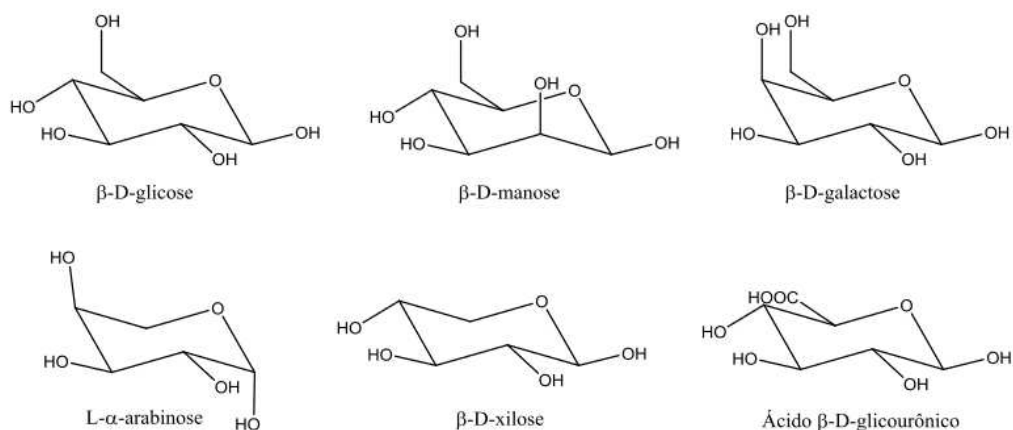


Figura 06 - Representação dos principais constituintes da hemicelulose (Adaptado de HANSEN e PLACKETT, 2008).

A hemicelulose encontra-se em forte associação com a celulose na parede celular, onde a interação ocorre devido às ramificações que proporcionam estabilidade e flexibilidade, impedindo colapso entre moléculas de celulose e de fibras paralelas (MENDES, 2013; OLIVEIRA, 2017). Devido à sua natureza amorfa, as hemiceluloses são facilmente extraídas por pré-tratamentos hidrotérmicos (SAHA, 2003).

3.3.3 Lignina

A lignina é uma macromolécula abundante na biomassa lignocelulósica, representando cerca de 17-30 % de sua composição. É um polímero tridimensional amorfo, sua estrutura é complexa e formada por três unidades diferentes de fenilpropanos sendo: álcool p-cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (Figura 7). A lignina tem papel fundamental na formação estrutural das plantas.

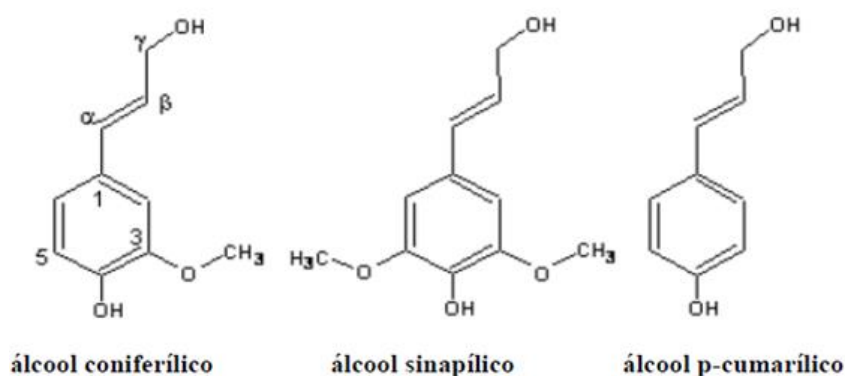


Figura 7 – Unidades de fenilpropanos da lignina (OLIVEIRA, 2016).

A lignina pode ser entendida como um preenchimento dos espaços vazios que existem entre celulose e hemicelulose, logo promovendo o suporte na parede celular e dando resistência e rigidez à estrutura da planta. Além disso, por possuir propriedades hidrofóbicas e ter em sua composição unidades fenólicas, a lignina propicia à planta, resistência biológica contra insetos e microrganismos. (MEIGHAN et al., 2017).

Por se tratar de um componente complexo, a lignina pode ser variável de acordo com sua origem e tipo de vegetal, podendo ser subdividida em três tipos principais, em que o primeiro refere-se às ligninas presentes em gimnospermas (pinheiros, araucárias), o segundo às ligninas de folhosas (angiospermas como o eucalipto) e o terceiro tipo às ligninas de gramíneas (como exemplo, a cana-de açúcar) (SANTOS, 2018).

Nos últimos anos, além do número de estudos envolvendo o uso da lignina, o investimento em tecnologia por parte de grandes empresas tem sido destaque. Com múltiplas aplicações, a lignina pode ser utilizada como combustível sólido para caldeiras, produção de resinas fenólicas, poliésteres, dispersantes, surfactantes, além de ser material precursor para a obtenção de compostos fenólicos de baixa massa molecular (OLIVEIRA, 2016).

3.3.4 Extrativos e cinzas

Além dos principais componentes (celulose, hemicelulose e lignina), as biomassas lignocelulósicas ainda apresentam extrativos e cinzas em sua composição. Os extrativos possuem em sua composição diversos compostos orgânicos como ceras, fenóis, resinas, e estão no grupo das substâncias de baixa massa molecular, que não pertencem à parede celular da biomassa lignocelulósica (FURTADO, 2014). O processo de extração é de extrema importância

para quantificação principalmente da lignina, e são extraídos com facilidade pela água e por solventes orgânicos (SILVA, 2017). O teor e o tipo de extrativos presentes na biomassa lignocelulósica, podem variar significativamente entre as espécies vegetais, sendo geralmente encontrado em espécies folhosas cerca de 3 a 10 % da biomassa lignocelulósica (D'ALMEIDA, 1998).

Outro componente encontrado na biomassa são as cinzas que se trata de resíduos inorgânicos compostos por minerais na forma de óxidos ou metais, apresentando composição heterogênea e partículas de diferentes tamanhos e formas. Os principais elementos químicos que compõem as cinzas de eucalipto são K, Ca, Si, Al, Fe, Mg (SILVA, 2017).

3.4 Pré-tratamentos do material lignocelulósico

O pré tratamento da biomassa lignocelulósica é um processo que visa separar e facilitar o acesso aos principais componentes da biomassa que são celulose, hemiceluloses e lignina (Figura 8). Ele permite alterar a estrutura da biomassa, e o principal objetivo é remover a hemicelulose e a lignina, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade e a área específica dos materiais (SILVA, 2010; BEHERA et al., 2014). Além de promover esses eventos, o pré-tratamento considerado eficiente deve também evitar a degradação ou perda de carboidratos e a formação de bioprodutos que possam inibir os microrganismos fermentadores.

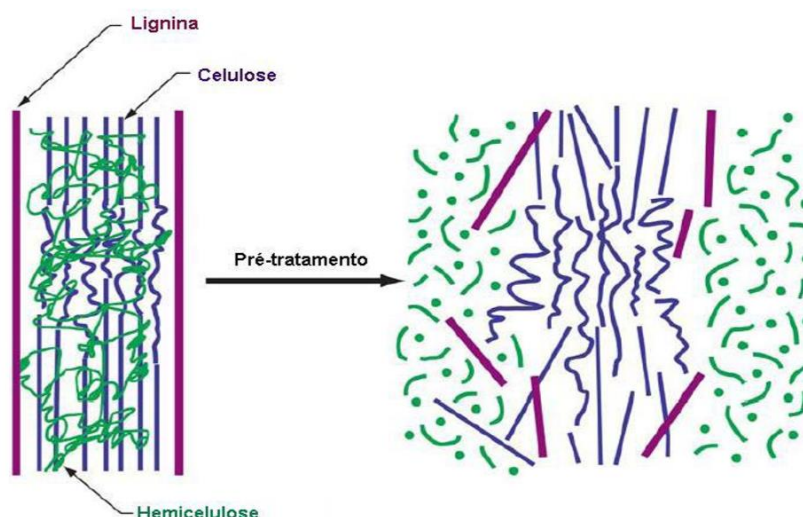


Figura 8 - Efeito do pré-tratamento sobre a estrutura das biomassas (SANTOS et al., 2012).

Diversos tipos de pré-tratamentos são estudados, diferenciando-se pelos rendimentos e efeitos distintos sobre a biomassa. Um pré-tratamento ideal deve ser economicamente viável,

além de possuir a capacidade de fracionar e recuperar a maioria dos principais componentes químicos (isto é, celulose, hemicelulose e lignina) na forma utilizável (SUN et al., 2015).

A escolha de pré-tratamento adequado deve permitir um fracionamento efetivo da biomassa e o uso de material pré-tratado em cargas de alto teor de sólidos nos processos de sacarificação e fermentação (ROMANI et al., 2016). Além disso, também é importante que sua eficácia leve em consideração um baixo custo no processo; facilidade na recuperação de compostos presentes no hidrolisado, ambientalmente correto e de fácil recuperação de reagentes químicos utilizados (CUCCATO, 2012; SILVA, 2015). Atualmente, diversos tipos de pré-tratamentos que apresentam diferentes rendimentos e efeitos sobre a estrutura da biomassa já são conhecidos e estudados, alguns deles melhor detalhados abaixo.

3.4.1 Pré-tratamento físico

O pré-tratamento físico tem como objetivo realizar a desorganização da biomassa, no sentido de desconstruir a estrutura celular e torná-la acessível aos tratamentos químicos e biológicos (DRABER, 2013). Dentre os pré-tratamentos existentes, o físico é um dos tipos que pode ser utilizado para aumentar a reatividade do material lignocelulósico frente à reação das enzimas (BRAGATTO, 2010).

Alguns dos processos envolvem uma lavagem da biomassa e posterior trituração das partículas, ou seja, uma redução na granulometria das partículas. Além disso, essa etapa de moagem ainda aumenta significativamente a área superficial do material, redução da cristalinidade das partículas, permitindo que a superfície e a estrutura da biomassa sejam expostas, favorecendo a hidrólise. (CUCCATO, 2012). Outro pré-tratamento físico que também pode ser utilizado é o hidrotérmico, onde se faz o encharcamento da biomassa triturada com água quente ou vapor (160-180 °C), o que causa a quebra das ligações de hemicelulose-lignina (OLIVEIRA, 2016).

Apesar dos benefícios gerados pelo tratamento físico, deve ser levado em consideração o uso de máquinas para moagem, e consequentemente elevação do custo do pré-tratamento (BEHERA et al., 2014). Além da moagem, tanto de discos quanto de bolas, outros pré-tratamentos físicos podem ser citados como extrusão, micro-ondas e o congelamento (*freeze pretreatment*) (MOOD et al., 2013). Também pode ser utilizada a combinação dos métodos físicos e químicos no pré-tratamento das biomassas onde se destacam a explosão a vapor e de fibras com amônia – AFEX, e água líquida quente.

3.4.2 Pré-tratamentos químicos

Os pré-tratamento químicos são classificados de acordo com o reagente que é utilizado durante o processo, podendo ser ácidos, básicos, orgânicos, entre outros (OLIVEIRA, 2016). Os pré-tratamentos químicos de biomassas lignocelulósicas têm se destacado, logo possuindo ampla utilização devido as suas vantagens técnicas e econômicas.

3.4.2.1 Pré-tratamentos ácidos

Dentre os pré-tratamentos químicos, a utilização de solventes ácidos é bastante estudada. Dos vários efeitos causados nas biomassas que são pré-tratadas quimicamente com ácidos, podemos destacar o aumento da área específica, solubilização das hemiceluloses (melhor nos pré-tratamentos ácidos), e remoção da lignina. (MOOD et al., 2013).

Para o processo, os ácidos sulfúrico, fosfórico, clorídrico, nítrico, entre outros são os mais usuais, podendo ainda ser utilizados de forma concentrada ou diluída. No pré-tratamento que utiliza ácido diluído, podem ser utilizadas condições moderadas de reação, gerando uma produção de xilose elevada, vantagem significativa. Porém, também apresenta pontos negativos como a dificuldade de recuperação do ácido que é corrosivo e caro (SANTOS et al., 2012).

A utilização de ácidos na sua forma diluída tem sido difundida e mais utilizada, pois a corrosão das partes metálicas é reduzida se comparada ao uso de ácidos concentrados (ARAÚJO, 2016). Os benefícios de solubilização da hemicelulose ainda é atingido usando ácido diluído, e devido à ação ácida ocorre o aumento da porosidade do material e recalcitrância da biomassa (MORAES & BROETTO, 2016).

3.4.2.2 Pré-tratamentos básicos

Na escolha de um pré-tratamento básico, o objetivo principal é promover a remoção da lignina, porém manter uma baixa degradação da celulose e hemicelulose, vantagens que são possíveis de se alcançar utilizando o método alcalino (MOOD et al., 2013).

. Geralmente, os reagentes mais utilizados, são hidróxido de sódio, de potássio, de amônia e cálcio (ARAÚJO, 2016). Apesar da vantagem quanto à maior remoção de lignina da biomassa, o tratamento alcalino possui o inconveniente de ser mais caro do que o ácido devido ao processo de tratamento dos resíduos (AKHTAR et al., 2016; OLIVEIRA, 2016).

3.4.2.3 Pré-tratamento organossolve

O método organossolve tem ganhado força nas pesquisas que envolvem sua utilização, principalmente relacionadas à promoção de deslignificação das biomassas. Dentre os inúmeros tipos de pré-tratamento existentes, o organossolve destaca-se devido à eficiência do fracionamento dos componentes da biomassa e ao potencial de expansão no processo de biorrefinaria comercialmente relevante (SUN et al., 2015).

O pré-tratamento organossolve trata-se de um dos processos-chave envolvidos na conversão de carboidratos para açúcares redutores (como glicose) de baixo custo, possibilitando que esses produtos biológicos se tornem competitivos no mercado quando comparado aos convencionais, que são de origem fóssil (SUN e CHENG, 2008). A utilização de solventes orgânicos no pré-tratamento da biomassa pode ser uma excelente solução devido às vantagens como capacidade de fracionar a biomassa em celulose, lignina e hemicelulose, com elevada pureza, além de fácil recuperação e reutilização dos solventes utilizados (ZHANG et al., 2016).

O processo se baseia no cozimento da biomassa lignocelulósica através do uso de temperaturas mais altas utilizando um solvente orgânico, e o que é relatado nos diversos estudos recentes onde o pré-tratamento organossolve, é que essa combinação promove uma alta deslignificação e destruição efetiva de sua estrutura recalcitrante (ROMANI et al., 2016)

Dentre os solventes orgânicos que vêm sendo utilizados, podemos destacar o etanol, o glicerol e o etilenoglicol, sendo que a estrutura polar desses solventes é capaz de penetrar na biomassa proporcionando a deslignificação (MORETTI et al., 2016). Após o processo de pré-tratamento, os solventes podem ser recuperados por destilação ou evaporação, tornando o método ainda mais atrativo. (MEIGHAN et al., 2017).

Além do uso do glicerol puro, alguns estudos vêm investigando o uso de glicerol bruto, que é um subproduto da indústria de biodiesel, de baixo custo, sendo nomeado como um “solvente verde valioso” atraente para o tratamento da biomassa (ROMANI et al., 2016).

Alguns trabalhos recentes vêm utilizando a glicerina no pré-tratamento organossolve de biomassas lignocelulósicas. Em um desses estudos, Santos (2018) utilizou o pré-tratamento organossolve com glicerina bruta para obtenção de açúcares fermentescíveis do bagaço da cana-de-açúcar, alcançando uma taxa de deslignificação de 79 %, e obtendo concentrações elevadas de açúcares redutores totais. Meighan et al. (2017) também utilizaram no fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar, após etapa de hidrólise, a deslignificação organossolve utilizando glicerina pura e bruta e alcançando 64 % de deslignificação em ambas, provando a eficiência de uso da glicerina sem necessidade de purificação. Romani et al. (2016) estudaram o pré-

tratamento organossolve com glicerina pura em biomassa de eucalipto, encontrando valores satisfatórios de deslignificação (65%), além da manutenção da celulose residual na biomassa. Esses trabalhos vêm reforçando a eficiência dos pré-tratamentos organossolve que utilizam a glicerina como solvente, tanto em sua forma pura quanto bruta, sendo o uso da glicerina nessa forma (bruta), importante elemento na redução de custos do processo.

3.5 Conceito de Biorrefinarias

As biorrefinarias, termo relativamente novo, referem-se às indústrias que utilizam e transformam as biomassas e seus resíduos (matéria-prima sustentável e renovável), com o objetivo de produzir biocombustíveis, produtos químicos, energia e outros materiais de interesse comercial (ALVIM et al., 2014).

Essas biorrefinarias são semelhantes às tradicionais, porém fazem uso de biomassas que passam por processo de separação de seus componentes (celulose, hemiceluloses e lignina) com posterior refino e produzindo os biocombustíveis e demais subprodutos (SILVA, 2010). Essa etapa de separação dos componentes é denominada pré-tratamento, e é de extrema importância nos processos de transformação da biomassa, pois promove a quebra das ligações entre os principais componentes da parede celular vegetal (JONSSON e MARTIN, 2015).

De acordo com a Resenha Energética Brasileira (MME, 2019), a oferta total de energia de fontes renováveis, em 2018, corresponde a 45,3 % da matriz energética brasileira, demonstrando a importância do desenvolvimento das biorrefinarias (Figura 9).

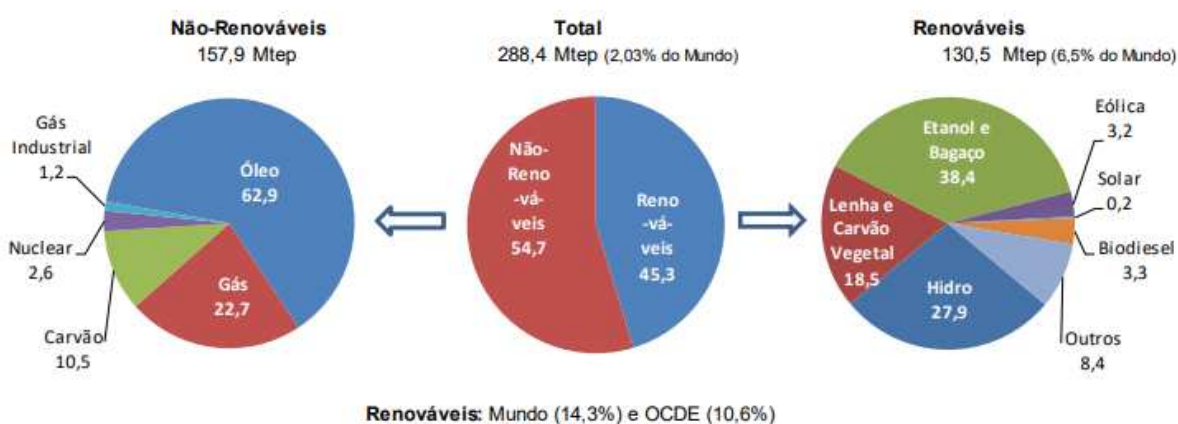


Figura 9 - Oferta Interna de Energia no Brasil 2018 (%) (MME - Resenha Energética 2018).

Uma biorrefinaria, embora seja comparada e até semelhante às refinarias de petróleo, apresenta algumas diferenças importantes que devem ser destacadas. Uma das diferenças é que as biorrefinarias podem utilizar uma variedade enorme de matérias-primas, exigindo assim o desenvolvimento de um maior número de tecnologias de processamento e sistemas de biorrefinaria para lidar com as diferenças de composição na matéria-prima, e a outra diferença seria o volume da matéria-prima de biomassa (tem uma densidade de energia mais baixa) do que os combustíveis fósseis. (MARTINS, 2015).

A Figura 10 apresenta um esquema do conceito de biorrefinarias e dos diversos produtos e coprodutos que podem ser obtidos através das biomassas lignocelulósicas como fontes de alimentação.

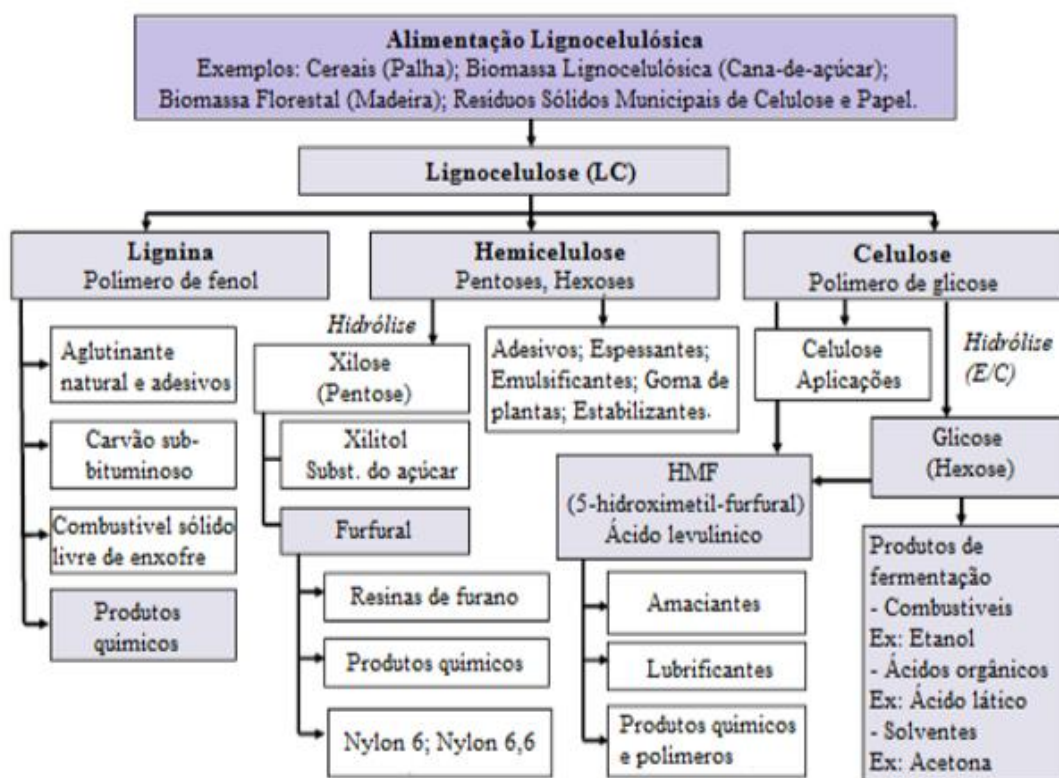


Figura 10 – Produtos e coprodutos das biorrefinarias de materiais lignocelulósicos. (Adaptado de KAMM et al., 2006)

Considerando o desenvolvimento das biorrefinarias, vale a pena ressaltar que a economia e consequente manutenção das biorrefinarias é totalmente dependente da produção e valor de mercado dos seus coprodutos, produtos químicos, polímeros, energia, conseguindo assim obter rendimentos que viabilizem seu funcionamento e compensem os custos de processamento.

3.5.1 Indústria de biodiesel e geração de glicerol bruto

De acordo com a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP, 2019), o biodiesel é definido como um combustível produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais. O biodiesel é produzido em grande parte, pela reação de transesterificação desses óleos com um catalisador básico (ou ácido) e um álcool de cadeia curta, geralmente metanol. A Figura 11 abaixo demonstra a reação de produção do biodiesel:

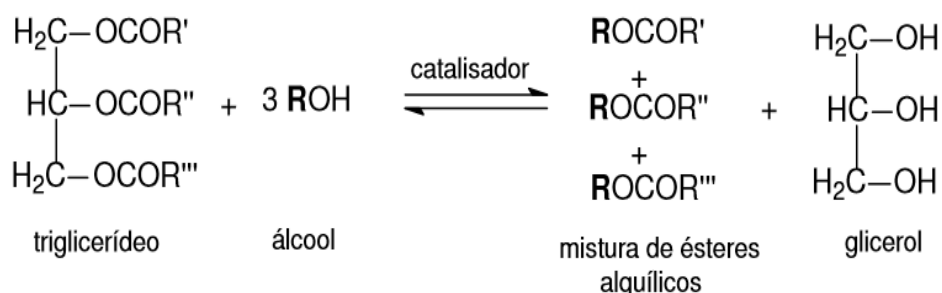


Figura 11 – Reação de transesterificação para produção do Biodiesel (Adaptado de MATTOS, 2014).

De acordo com Boletim Mensal de Energia (Janeiro/2019), a produção de biodiesel continua em alta de expressivos 32,2 % quando comparada aos anos anteriores (Figura 12). No ano de 2017, o biodiesel respondeu a 1,2 % da matriz energética brasileira, e um total de 37 usinas produziram biodiesel.

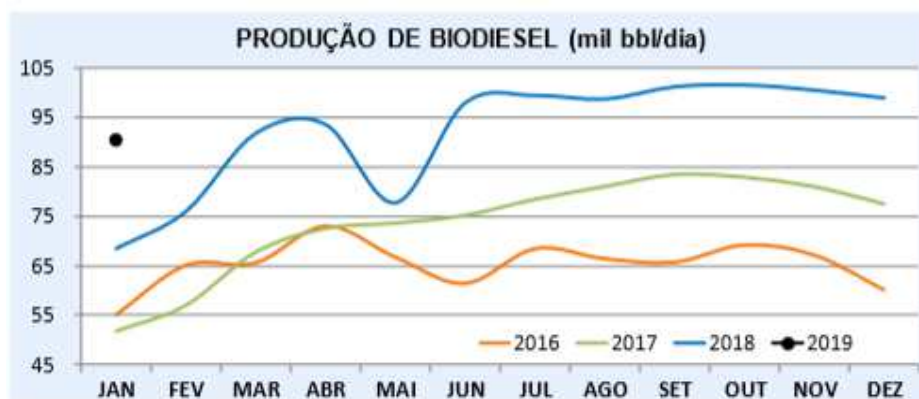


Figura 12 – Produção de Biodiesel nos últimos anos (MME, 2019).

As principais fontes de óleos utilizadas na produção do biodiesel são a soja, mamona, girassol e milho, fontes presentes na produção agrícola nacional, com destaque para soja que é a mais utilizada para produção do biodiesel (SCHULTZ et al., 2014).

A inserção do biodiesel vem aumentando gradativamente, por meio de políticas nacionais para o biodiesel iniciadas em 2003, com objetivo de introduzir o biodiesel na matriz energética nacional. Atualmente, a proporção de biodiesel adicionada ao óleo diesel passou a ser de 10 % (B10), de acordo com regulamento da ANP.

Como principais produtos da reação de transesterificação, tem-se o biodiesel e o glicerol, que são separados por decantação ao fim da reação. O glicerol formado, que corresponde a cerca de 10 % da produção, sai ao fim da reação impuro possuindo em sua composição água, sais, ésteres, excesso de álcool, entre outros (RIVALDI et al., 2007).

Com o desenvolvimento e maiores produções nas biorrefinarias, um volume excedente de glicerina bruta tem sido gerado no mercado, reduzindo significativamente seu preço (Figura 13).

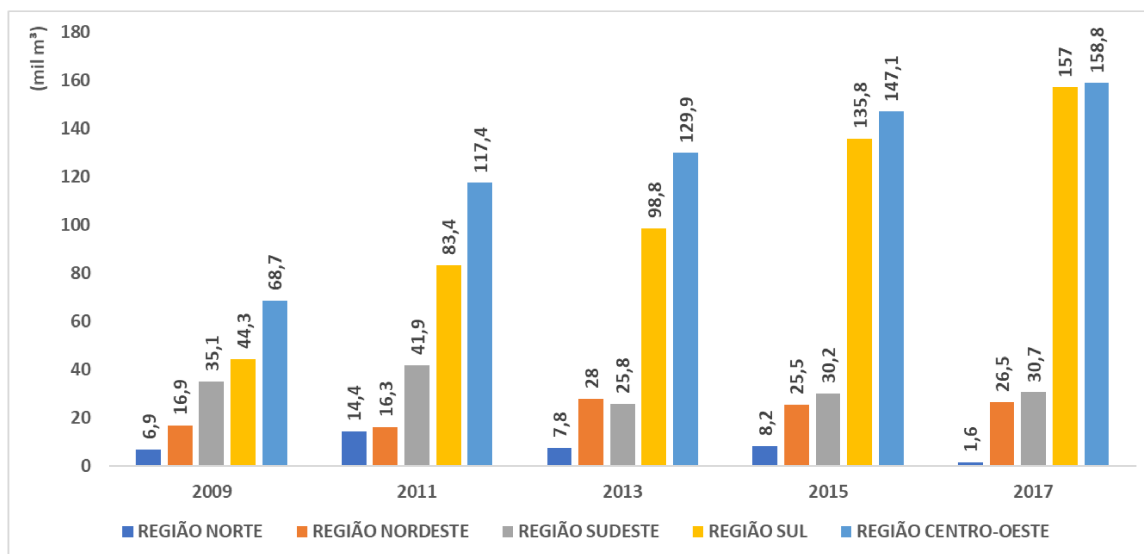


Figura 13 – Glicerina gerada na produção de Biodiesel (B100) de 2009-2017 (Adaptado de ANP, 2018).

Embora se utilize grande quantidade de glicerina na indústria de alimentos, cosméticos e farmacêuticos, para ser destinada a esses fins, a glicerina bruta precisa ser purificada, processo de elevado custo, fazendo com que muitas vezes seja utilizada na geração de energia (SUN et al., 2015).

A aplicação dessa glicerina bruta em processos de pré-tratamento tem sido considerada um caminho importante na busca de aplicações que gerem uma agregação de valor ao produto, e absorva esse excedente das biorrefinarias evitando, assim, seu desperdício e problemas de armazenamento nas indústrias.

3.5.2 Indústria de lignina e suas aplicações

Outro produto gerado nas biorrefinarias que vem ganhando destaque é a lignina. Anteriormente, as indústrias de papel e celulose com objetivo de diminuir os impactos e reduzir o custo operacional, queimavam a lignina dissolvida no licor negro para geração de energia (PEREIRA et al., 2007). Porém, como estudos e desenvolvimentos de tecnologia, essa prática tem se tornado menos frequente dando lugar a um novo mercado de lignina, gerando produtos de valor agregado como dispersantes, emulsificantes, fertilizantes, adesivos, aditivos.

Um esquema que demonstra os diversos usos da lignina é representado na Figura 14, exemplificando sua versatilidade.

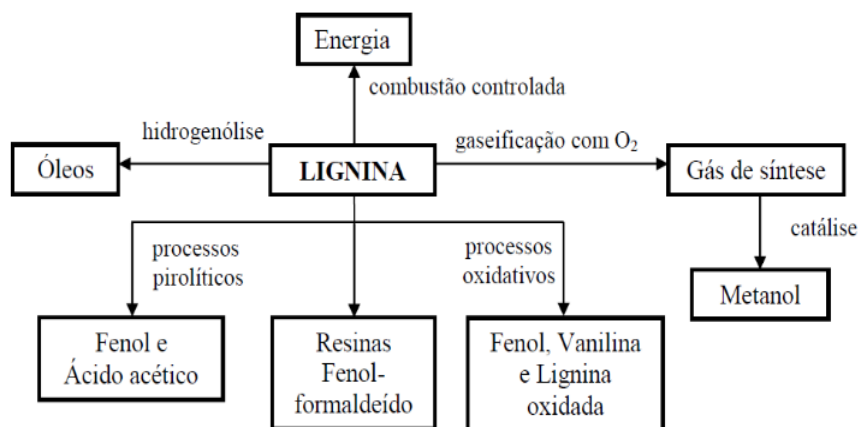


Figura 14 – Usos e produtos obtidos a partir da Lignina (Adaptado de SCHUCHART e RIBEIRO, 2001)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima utilizada no estudo

A biomassa de eucalipto utilizada para realização desse trabalho foi cedida pela empresa Lwarcel Celulose (atual Bracell), e o material de caráter bem heterogêneo refere-se ao rejeito da colheita florestal de eucalipto, composto em sua maioria por cascas e pequenos galhos de eucalipto que geralmente são deixados no campo ou queimados em caldeira. O material foi recolhido em sacos, e após secagem foi triturado e homogeneizado. Em seguida, após secagem natural, realizou-se separação granulométrica por meio do uso de peneiras e agitador, utilizando no trabalho, a fração da biomassa com granulometria compreendida entre 20 e 28 mesh. Após separação da biomassa a ser utilizada, foi realizado o armazenamento da biomassa em sacos plásticos protegidos de luminosidade, para utilização nos experimentos de pré-tratamento.

A glicerina bruta utilizada como solvente no pré-tratamento organossolve, é proveniente da produção de biodiesel da Usina Caramuru sediada em Ipameri-GO. A glicerina bruta disponibilizada pela empresa apresenta um teor de 82 % de glicerol.

Logo, as principais etapas realizadas durante esse estudo estão representadas pelo fluxograma abaixo:

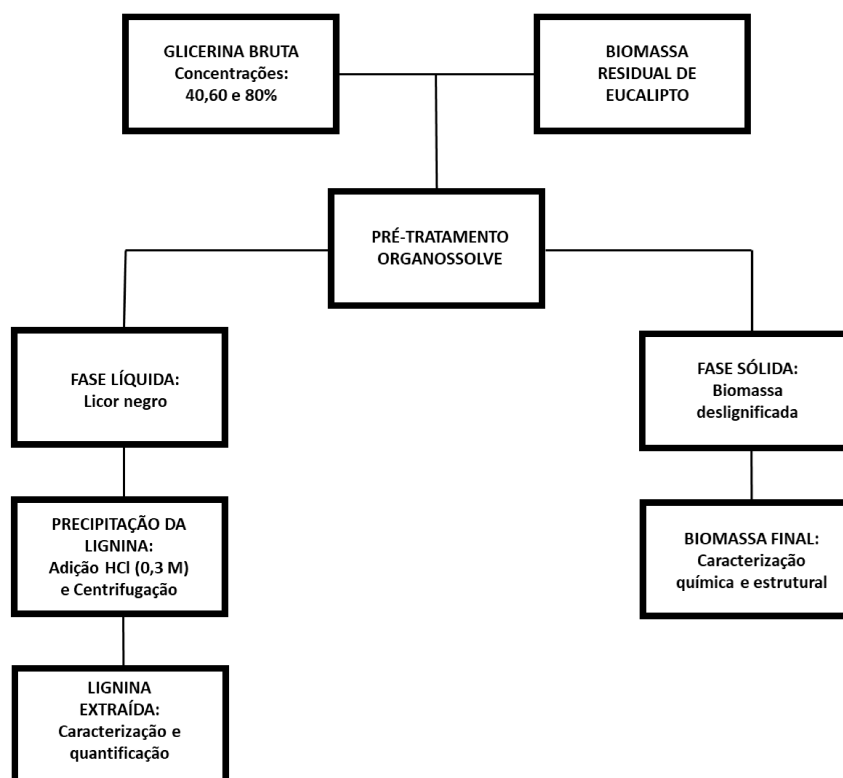


Figura 15 – Fluxograma das etapas realizadas durante o estudo do pré-tratamento

4.2 Planejamento experimental e variáveis significativas

Com o objetivo de analisar determinadas condições de pré-tratamento, e utilizando o software STATISTICA 8.0, foi proposto um planejamento experimental fatorial $2^{(3-0)}$ com triplicata do ponto central. As variáveis analisadas foram temperatura (°C), tempo de reação (min) e concentração de glicerina bruta em solução (%), com valores definidos de acordo com revisão bibliográfica (ROMANI et al., 2013) como mostra a Tabela 1:

Tabela 1: Planejamento experimental do pré-tratamento organossolve

Experimento	Temperatura (°C)	Tempo de Reação (min)	Concentração Glicerina/água (%)
1	180 (-1)	60 (-1)	40 (-1)
2	220 (1)	60 (-1)	40 (-1)
3	180 (-1)	240 (1)	40 (-1)
4	220 (1)	240 (1)	40 (-1)
5	180 (-1)	60 (-1)	80 (1)
6	220 (1)	60 (-1)	80 (1)
7	180 (-1)	240 (1)	80 (1)
8	220 (1)	240 (1)	80 (1)
9	200 (0)	150 (0)	60 (0)
10	200 (0)	150 (0)	60 (0)
11	200 (0)	150 (0)	60 (0)

Fonte: Autoria própria

O planejamento experimental teve como principal objetivo verificar as variáveis que se mostraram significativas no processo de pré-tratamento, dentre as utilizadas. Após essa etapa, foi realizada a análise ANOVA e Testes de Fisher (Teste-F) para constatar se o modelo utilizado no planejamento experimental, foi válido.

4.3 Pré-tratamento organossolve da biomassa

O pré-tratamento organossolve da biomassa de eucalipto foi realizado em reator batelada, fabricado em aço inox e com capacidade total de 230 mL. Com a finalidade de regular a temperatura de reação, um controlador previamente calibrado foi acoplado a um forno e ambos colocados sobre uma chapa de agitação constante (270 rpm). A Figura 16 mostra o reator batelada utilizado no pré-tratamento.

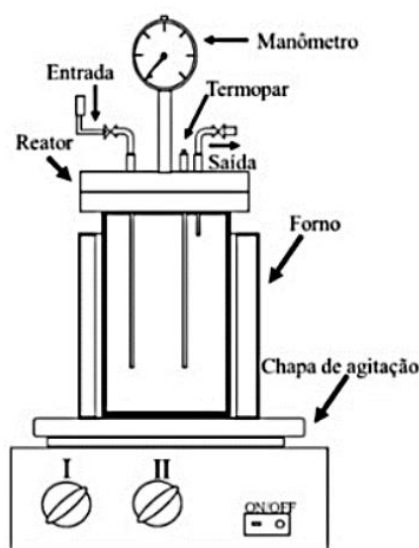


Figura 16 - Reator batelada utilizado no pré-tratamento organossolve (OLIVEIRA, 2016).

Para o pré-tratamento organossolve, foi colocado no reator 5 g da biomassa de eucalipto (base seca) e em seguida, adicionado 150 mL da solução glicerina bruta/água nas diferentes concentrações estabelecidas no planejamento experimental. O tempo de reação começou a ser cronometrado a partir do momento em que o sistema atingia a temperatura estabelecida para cada experimento. Ao fim do tempo de reação determinado, o reator foi resfriado imediatamente em banho de gelo (NOVO et al. 2011). Ao atingir a temperatura ambiente, a válvula para saída de ar foi acionada para aliviar a pressão interna, possibilitando a retirada da tampa do reator. Em seguida, a fração sólida (biomassa pré-tratada) e a fração líquida (licor negro) foram separadas por filtração a vácuo, utilizando papel-filtro quantitativo previamente tarado (ILT, Unifil C40, Ruppichterorth, Alemanha).

Após separação das fases, a fração sólida retida no papel-filtro foi lavada primeiramente com 50mL de uma solução de NaOH (1% p/p) com o objetivo de remover algum resíduo de lignina que possa ter reprecipitado sob o sólido, seguida por lavagem com água destilada a 60 °C até atingir pH = 7, procedimento realizado de acordo com Romani et al., (2016).

A biomassa pré-tratada foi acondicionada em potes plásticos para posterior caracterização e demais análises. O licor negro obtido foi colocado em frascos de vidro envoltos por papel alumínio para evitar a fotodegradação e armazenados em geladeira (4 °C), para posterior recuperação da lignina extraída além de identificação e quantificação dos compostos presentes.

4.4 Caracterização da biomassa *in natura* quanto à sua composição

A biomassa *in natura* foi caracterizada de acordo com os procedimentos descritos abaixo:

4.4.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade de uma amostra refere-se à quantidade de água presente na mesma. Determinou-se o teor de umidade na biomassa pelo método da estufa, seguindo a norma T264 om-88 adaptada (TAPPI, 1996). Para quantificação da umidade, pesou-se 1,00 g de biomassa em cadinho previamente seco por 30 min em estufa a 105 °C e de massa conhecida. A biomassa, então, foi colocada em estufa a 105 ± 3 °C por aproximadamente 2 horas para secagem, com posterior resfriamento em dessecador e pesagem em balança analítica, repetindo esse processo até a obtenção de massa constante (quando as pesagens sucessivas não diferirem por mais de 0,0002 g). A análise do teor umidade foi realizada em triplicata e é determinada pela Equação 1:

$$\text{Teor de Umidade (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (1)$$

onde:

M₁: massa da amostra úmida (g);

M₂: massa da amostra seca (g).

4.4.2 Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas da biomassa foi determinado seguindo a norma T211 om-02 adaptada (TAPPI, 2002). Inicialmente os cadinhos de porcelana vazios foram colocados na mufla a 400 °C por 4 horas, em seguida, passados para dessecador até atingir temperatura ambiente.

Pesou-se 1,000 g de biomassa livre de umidade em cadinho previamente tarado, sendo as análises feitas em triplicata. Os cadinhos contendo as amostras foram colocados na mufla, submetidos a uma temperatura de 800 °C e mantidos a essa condição por 4 horas (tempo contabilizado a partir do momento que temperatura final foi atingida). Ao fim da calcinação, a temperatura da mufla foi reduzida a 150 °C, os cadinhos foram transferidos para dessecador e

depois que atingiram temperatura ambiente, pesados em balança analítica. Com os valores de massas antes e após a calcinação, o teor de cinzas foi calculado, conforme Equação 2:

$$\text{Teor de cinzas (\%)} = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad (2)$$

onde:

M_i : massa inicial de biomassa, livre de umidade (g);

M_f : massa final do resíduo após calcinação (g).

4.4.3 Determinação do teor de extrativos

A quantificação do teor de extrativos presentes na biomassa foi realizada de acordo com a norma T204 cm-97 adaptada (TAPPI, 2007). Primeiramente, utilizou-se papel de filtro qualitativo previamente seco para fazer um cartucho, onde se adicionou 4,00 g de biomassa livre de umidade. As amostras, em triplicata, foram colocadas em um extrator tipo Soxhlet, sendo esse acoplado a um balão de fundo redondo contendo uma mistura de proporção 1:1 de ciclohexano/etanol e a um condensador. O balão foi colocado sobre uma manta de aquecimento e permaneceu, sob refluxo por 24 horas, sendo a contagem do tempo iniciada após primeiro refluxo. Passadas 24 horas, a mistura de ciclohexano:etanol foi substituída por água destilada e o sistema submetido a outras 24 horas sob refluxo. Após extração aquosa, os cartuchos de papel contendo as biomassas livres de extrativos foram lavados com água a 60 °C e colocados em estufa por 12 horas.

O teor de extrativos solúveis em ciclohexano/etanol e água foi determinado pela expressão seguinte (Equação 3):

$$\text{Extrativos (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (3)$$

onde:

M_1 = massa inicial de biomassa, livre de umidade (g);

M_2 = massa final de biomassa seca sem extrativos (g).

4.4.4 Determinação do teor de lignina insolúvel

Para determinação do teor de lignina insolúvel, o método utilizado se baseia na hidrólise ácida onde todos os carboidratos são hidrolisados numa solução de ácido sulfúrico a 72%. A determinação gravimétrica desta fração insolúvel fornece o teor de lignina na amostra, e utilizou-se a norma T222 om-98 (TAPPI, 1999) com adaptações.

Para processo de hidrólise ácida, foram pesadas 2 g da biomassa livre de extrativos e umidade, e colocadas em um becker. Em seguida, o becker contendo a biomassa foi colocado em banho térmico a 45 °C e adicionado 15 mL de ácido sulfúrico 72 %. Com o auxílio de um bastão de vidro, a mistura foi vigorosamente macerada para promover máximo desfibramento da biomassa. Em sequência, adicionou-se água deionizada com o objetivo de cessar a reação, transferindo quantitativamente a amostra digerida com ácido no béquer, para um erlenmeyer de 500 mL. A solução presente foi autoclavada a 120 °C por 30 min e, em seguida, foi filtrada em papel filtro, para separação das fases. A lignina insolúvel presente no papel filtro, após lavagens com água destilada para remoção do ácido, foi seca em estufa e levada à mufla, em cadinhos secos e tarados, por 2 horas a 200°C, 2 horas a 400 °C e por 4 horas a 900 °C. Após esse processo, os cadinhos foram resfriados e o teor de lignina insolúvel foi determinado pela Equação 4:

$$\text{Lignina insolúvel (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_3} * 100 \quad (4)$$

onde:

M₁: massa de lignina insolúvel seca (g);

M₂: massa de cinzas após calcinação (g);

M₃: massa biomassa inicial, livre de umidade e extrativos (g).

A fração líquida resultante da hidrólise ácida foi armazenada para análise de açúcares e lignina solúvel.

4.4.5 Determinação do teor de lignina solúvel

No processo de análise de lignina insolúvel, uma fração da lignina é solubilizada quando submetida à hidrólise ácida e sua determinação é necessária para a obtenção do teor total de lignina presente na biomassa (OLIVEIRA, 2016). Devido a isso, foi recolhida uma alíquota do

filtrado ácido para quantificação do teor de lignina solúvel pela técnica de espectroscopia na região do ultravioleta (UV-VIS) (HATFIELD e FUKUSHIMA, 2005).

Para determinação da lignina solúvel sob adaptação nas normas TAPPI T13m-54 e TAPPI UM-250, foi realizada uma diluição da amostra recolhida da hidrólise ácida com água destilada, seguida pela adição de algumas gotas de uma solução de NaOH 6,5 mol/L, favorecendo a total dissolução da lignina no meio. Como solução de referência (branco), foi utilizada água destilada. Por fim, foram medidas as absorbâncias das soluções no comprimento de onda de 280 nm no espectrômetro de UV visível.

A concentração de lignina Klason solúvel é calculada pela seguinte Equação 5:

$$C_{Lignina\ Solúvel}(\frac{g}{L}) = (4,187 \times 10^{-2} \cdot (A_{t280} \cdot F_{Diluição}) - A_{pd280}) - 3,279 \times 10^{-4} \quad (5)$$

Sendo necessário o uso da Equação 6, abaixo

$$A_{pd280} = (C_{Furf} * \epsilon_{Furf}) + (C_{HMF} * \epsilon_{HMF}) \quad (6)$$

onde:

$C_{Lignina\ solúvel}$: concentração de lignina solúvel em g/L;

A_{t280} : absorbância da solução de lignina em 280 nm;

$F_{diluição}$: fator de diluição;

A_{pd280} = absorbância, em 280 nm, dos produtos de decomposição dos açúcares (furfural e 5-hidroximetilfurfural), cujas concentrações foram determinadas previamente por CLAE e ϵ_{Furf} e ϵ_{HMF} são suas absortividades e valem, respectivamente, 146,85 e 114,00 L/g cm⁻¹, conforme determinado experimentalmente pelo grupo de Rocha (1997).

Logo, a quantidade de lignina solúvel (%) é obtida pela seguinte Equação 7:

$$Lignina\ Solúvel\ (\%) = \left(\frac{C_{Lignina\ Solúvel} \cdot V_{Hidrolisado}}{M_1} \right) \cdot 100 \quad (7)$$

onde:

$C_{Lignina\ Solúvel}$ = concentração da lignina solúvel obtida na análise no UV-Visível (g/L);

$V_{Hidrolisado}$ = é o volume do erlenmeyer com hidrolisado antes de ser autoclavado (L);

M_1 = massa inicial de biomassa livre de umidade e extrativos (g).

A partir da soma dos teores obtidos de lignina solúvel e lignina insolúvel, determina-se a porcentagem de lignina total presente na biomassa (Equação 8):

$$\% \text{ Lignina Total} = \% \text{ Lignina Insolúvel} + \% \text{ Lignina Solúvel} \quad (8)$$

4.4.6 Determinação dos teores de celulose e hemicelulose

Para determinação dos teores de celulose e hemicelulose, utilizou-se método de quantificação via cromatográfica líquida.

A quantificação dos carboidratos e produtos de degradação foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando detectores de índice de refração (RID-10A) e de arranjo de fotodiodo (SPD-M20A). A coluna cromatográfica utilizada para estas análises foi a Supelcogel C-610H 6 %, comprimento 30 cm x D.I. 7,8 mm x partícula 9 µm, Sigma-Aldrich, com recheio de resinas copolímeras de poliestireno sulfonado e divinilbenzeno, própria para realizar a separação de carboidratos, álcoois e ácidos orgânicos presentes na mesma amostra.

As amostras inicialmente foram injetadas em equipamento de HPLC nas condições de 32 °C, vazão de 0,5 mL/min utilizando o detector RID pra quantificar glicose, xilose e arabinose; e detector PDA em 210 nm para quantificar ácido fórmico e acético; utilizando como fase móvel um solução aquosa de H₃PO₄, 0,1 % v/v, em análise por 30 min. Para quantificação de hidroximetilfurfural e furfural, as amostras foram injetadas a 55 °C, vazão de 0,6 mL/min utilizando o detector PDA em 274 nm e como fase móvel uma solução aquosa de H₂SO₄, 5 mM, com duração de 60 min.

Os teores de celulose e hemicelulose, após análise da composição do filtrado em HPLC, foram calculados de acordo com as Equações 9 e 10 (GURGEL, 2010; BAÊTA, 2016).

$$\text{Celulose (\%)} = \left(\frac{0,95.M_{\text{Glicose}} + 1,20.M_{\text{HMF}} + 3,46.M_{\text{AcF}}}{M_B} \right) \cdot 100 \quad (9)$$

onde:

M_{Glicose} = massa de glicose (g);

M_{HMF} = massa de hidroximetilfurfural (g);

M_{AcF} = massa de ácido fórmico (g);

M_B = massa de biomassa livre de umidade e extrativos (g).

$$\text{Hemicelulose (\%)} = \left(\frac{0,88.M_{\text{Xilose}} + 0,88.M_{\text{Arabinose}} + 1,37.M_{\text{Furfural}} + 0,72.M_{\text{AcA}}}{M_B} \right) \cdot 100 \quad (10)$$

onde:

M_{Xilose} = massa de xilose (g);

$M_{\text{Arabinose}}$ = massa de arabinose (g);

M_{Furfural} = massa de furfural (g);

M_{AcA} = massa de ácido acético (g);

M_B = massa de biomassa livre de umidade e extrativos (g).

4.5 Caracterização do pré-tratamento e da biomassa pré-tratada

Após a realização dos pré-tratamentos das biomassas, alguns parâmetros foram utilizados para calcular a eficiência das variáveis, além dos efeitos causados na biomassa submetida ao processo organossolve.

4.5.1 Rendimento do pré-tratamento

Ao fim do processo de pré-tratamento e após a lavagem da fase sólida, a biomassa foi seca à temperatura ambiente, pesada e posteriormente realizado o cálculo do rendimento de cada pré-tratamento, conforme a Equação 11.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad (11)$$

onde:

M_i : Massa inicial da biomassa seca (g);

M_f : Massa final seca da biomassa após o pré-tratamento (g).

4.5.2 Deslignificação promovida pelo pré-tratamento

Como sendo um dos principais objetivos do pré-tratamento organossolve, foi realizado o cálculo de deslignificação das biomassas pré-tratadas, a partir dos valores de rendimento de cada experimento e dos teores de lignina Klason total presentes na biomassa *in natura* e pré-

tratadas. O cálculo da porcentagem de deslignificação seguiu a seguinte expressão (Equação 12), como proposto por Pasquini et al., (2005), e utilizada também por Romani et. al., (2013):

$$\text{Deslignificação (\%)} = \frac{LKb - \left[LKpt \cdot \left(\frac{R}{100} \right) \right]}{LKb} \times 100 \quad (12)$$

onde:

LKb = Lignina Klason Biomassa *in natura* (%);

LKpt = Lignina Klason Biomassa pré-tratada (%);

R = Rendimento do pré-tratamento (%).

4.5.3 Teores de celulose e hemicelulose nas biomassas pré-tratadas

O procedimento utilizado para determinação dos teores de celulose e hemicelulose nas biomassas pré-tratadas foi o mesmo utilizado com a biomassa *in natura*, descrito no item 4.4.6 acima.

4.6 Análise do Licor Negro e separação da lignina extraída

Após o pré-tratamento, além da biomassa deslignificada (fase sólida), foi obtida também uma fase líquida (licor negro) contendo a lignina extraída da biomassa. A partir do licor negro, foi realizada uma extração ácida, tendo sido adicionados a 5 g de licor negro, um volume de 10 mL de uma solução de HCl 0,3M, a fim de separar a lignina presente.

Depois do preparo inicial, os tubos foram tampados e levados à centrífuga, a uma rotação 4000 rpm, durante 40 minutos. As amostras foram, então, deixadas em repouso durante uma noite e, no dia seguinte, foi retirado o sobrenadante e o precipitado seco em estufa a 50 °C até massa constante, segundo o procedimento utilizado por Romani et al. (2016). Após essa etapa, foi quantificada a lignina extraída em cada experimento.

Além disso, o licor negro diluído foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) visando identificar produtos derivados da decomposição dos componentes das biomassas. As análises avaliaram a presença de furfural, hidroximetilfurfural, glicose, xilose, arabinose, ácido acético, ácido fórmico, presentes nas frações líquidas.

4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Por se tratar de uma técnica versátil de observação e análise de características microestruturais, foi realizada análise de imagem das biomassas pré-tratadas e *in natura*, utilizando um microscópio de varredura eletrônica, do Laboratório Multiusuário do Instituto de Química, da Universidade Federal de Uberlândia.

As amostras de biomassa foram fixadas em suportes de alumínio com fita de carbono e metalizadas com ouro, sendo geradas imagens de MEV obtidas nas seguintes ampliações: 100x, 500x, 1000x e tensão de aceleração de 5.0 kV. As imagens mostrarão melhor alguns efeitos estruturais nas biomassas ocasionados pelo pré-tratamento.

4.8 Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A lignina organossolve que foi obtida do licor negro e uma lignina padrão comercial (Sigma Aldrich) foram analisadas no Espectrômetro FT-IR para sua caracterização. As análises para obtenção dos espectros de FT-IR foram obtidas com uma resolução de 4 cm^{-1} , 32 varreduras e frequência na faixa de $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$, de acordo com Gonçalves et al. (2014). As bandas de infravermelho foram analisadas e identificadas por comparações com dados encontrados na literatura.

4.9 Difração de Raio-X (DRX)

A análise de difração de raio-X foi realizada com intuito de identificar as fases cristalinas da fase sólida, onde o processo ocorre pela incidência de um feixe de radiação sobre a amostra provocando raios de difração quando o ângulo de incidência do feixe (θ) e a distância interplanar de uma determinada série de plano cristalográficos.

As análises das amostras *in natura* e pré-tratadas foram realizadas utilizando um difratômetro Shimadzu XRD - 6000 LabX, programado para incidir Raios-X a partir de uma fonte de CuK α ($\lambda = 1,54060\text{ \AA}$) sobre a amostra com variação de ângulos 2θ entre $4-45^\circ$, numa velocidade de varredura de $2^\circ/\text{min}$, contagem de 40 kV e corrente de 30 mA. (THYGESEN et al., 2005; SAMBUSITI et al., 2015).

O cálculo do índice de cristalinidade das amostras foi determinado através da Equação 13, proposta por Segal et al., (1959), utilizando as alturas máximas do pico referente à região cristalina ($22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$) e do vale localizado entre os picos referentes à região amorfa (18°

$\leq 2\theta \leq 19^\circ$), com o auxílio do software Origin.® 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, USA).

$$I_{cr}(\%) = \frac{(I_{002} - I_{amf})}{I_{002}} * 100 \quad (13)$$

onde:

I_{cr} : (%) é o índice de cristalinidade da biomassa;

I_{002} : é a intensidade do pico que representa as regiões cristalinas da biomassa

($22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$);

I_{amf} : é a intensidade do vale que representa as regiões amorfas ($18^\circ \leq 2\theta \leq 19^\circ$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição química da biomassa *in natura*

A biomassa *in natura* foi caracterizada e sua composição, quanto aos teores de celulose, hemicelulose, lignina total (solúvel e insolúvel), extrativos e cinzas está detalhada na Tabela 2, sendo os valores obtidos no presente trabalho comparados aos valores encontrados na literatura em estudos que também utilizaram a biomassa de eucalipto.

Tabela 2: Composição da biomassa *in natura* utilizada e o comparativo com outros trabalhos

AMOSTRA	Este trabalho		Referências	
	Biomassa <i>in natura</i>	Romani et al., 2016	Carrol & Somerville, 2009	Trugilho et al., 2003
Celulose (%)	43,28 ± 1,12	44,70	48,07	-
Hemicelulose (%)	13,41 ± 1,98	17,10	12,69	-
Lignina Total (%)	27,82 ± 0,57	27,70	26,91	31,77
Extrativos (%)	7,86 ± 1,50	2,00	4,15	6,71
Cinzas (%)	1,01 ± 0,23	1,20	1,22	0,17
Umidade (%)	5,87 ± 0,34			
TOTAL (%)	99,25			

Fonte: Autoria própria.

Na biomassa *in natura*, o teor obtido de 7,86 % para extrativos, é mais semelhante ao descrito por Trugilho et al., (2003), que em seu trabalho caracterizou a madeira de eucalipto com casca. Dependendo do material lignocelulósico, os teores de extrativos podem ser extremamente variáveis, representando uma variação de 0 até 20 %, (FOELKEL, 2011).

O valor encontrado para as cinzas de 1,01 % está de acordo com os demais trabalhos. Segundo Silva (2010), geralmente, os teores de cinzas na madeira de eucalipto variam entre 0,2 e 1,2 %.

Na composição da biomassa utilizada, cerca de 43,28 % correspondem à celulose e 27,82 % à lignina total, valores próximos aos reportados na literatura, como também no estudo de Demirbas (2003), que encontrou cerca de 45 % de celulose e 22 % de lignina total para madeira dura.

Apesar da biomassa de eucalipto utilizada nesse trabalho se tratar de um resíduo cuja composição é bastante heterogênea, os valores encontrados para cada componente se mostraram próximos aos descritos pela literatura.

5.2 Pré-tratamento organossolve da biomassa de eucalipto

Com a realização do pré-tratamento organossolve da biomassa residual de eucalipto utilizando como solvente a glicerina bruta, ao fim de cada processo foi realizada a caracterização das fases obtidas e foram analisados a composição das fases formadas e o efeito das variáveis de processo na deslignificação.

5.2.1 Caracterização das biomassas de eucalipto pré-tratadas

Após o pré-tratamento e a separação das fases líquida e sólida, a biomassa obtida foi caracterizada quanto aos seus teores de celulose, hemicelulose e lignina total, a fim de verificar os efeitos do pré-tratamento na biomassa final. A Tabela 3 traz quantificação dos principais componentes das biomassas (celulose, hemicelulose e lignina) para os 11 experimentos realizados.

Tabela 3 – Composição das biomassas de eucalipto após pré-tratamento organossolve

Experimento	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina Total (%)
1	67,66	4,17	21,75
2	82,45	1,53	15,06
3	69,08	0,98	19,03
4	75,45	1,18	13,59
5	71,01	2,42	21,79
6	69,98	3,91	16,22
7	70,54	4,45	17,74
8	68,77	3,06	22,47
9	72,96	2,31	15,47
10	74,13	2,73	17,28
11	71,99	2,16	16,56

Fonte: Autoria própria.

De acordo com os dados obtidos, pode-se concluir que o pré-tratamento se mostrou eficiente tanto na solubilização da hemicelulose e remoção da lignina, quanto na manutenção da fração celulósica na biomassa, sendo esses resultados desejáveis. Quanto maior o teor de celulose na biomassa, melhor será para uma subsequente etapa de fermentação e produção de etanol de segunda geração (2G).

5.2.2 Teores de celulose e hemicelulose nas biomassas pré-tratadas

Com a caracterização das biomassas pré-tratadas, foi possível verificar uma elevada taxa de degradação da fração hemicelulósica pelo pré-tratamento. Enquanto na biomassa *in natura* foi encontrado um teor de cerca de 13,8 % de hemicelulose, após o pré-tratamento, para todas as condições de variáveis submetidas, esse teor não ultrapassou o valor de 4,45 % (Experimento 7), tendo sido atingida uma degradação máxima no Experimento 3, que possui apenas 0,98 % de hemicelulose. Segundo El-Naggar (2014), as hemiceluloses se degradam com uma maior facilidade devido à sua estrutura amorfa e ao seu baixo grau de polimerização. A degradação da hemicelulose em todos os pré-tratamentos também foi confirmada através da análise cromatográfica do licor negro, onde se detectou a presença de furfural.

Já em relação ao teor de celulose, que antes era representado por 43% da biomassa *in natura*, todos os pré-tratamentos se mostraram eficientes em relação à manutenção dessa fração, importante resultado, pois é desejável que a biomassa permaneça com o maior teor de celulose possível para o processo subsequente de fermentação e produção de etanol 2G (ROMANI, et al. 2013). Dentre os pré-tratamentos realizados, considerando os fatores desejáveis de deslignificação e manutenção da celulose na biomassa, destacam-se o Experimento 4 e o Experimento 2, ambos realizados a 220 °C, 40 % glicerina bruta/água, variando apenas no tempo de pré-tratamento de 240 e 60 min, respectivamente. Nesses dois experimentos, altos teores de celulose e menor presença de lignina podem ser notados (Experimento 4 com 75,45 % de celulose e 13,59 % de lignina, e Experimento 2 com 82,45 % de celulose e 15,06 % de lignina).

Esses valores corroboram, e em alguns dos experimentos superam os valores encontrados na literatura em estudos que realizaram pré-tratamentos organossolve. Romani et. al. (2013), encontraram para a biomassa de eucalipto pré-tratada com glicerol, teor de 68 % de celulose e apenas 7 % de hemicelulose na biomassa pré-tratada em condições semelhantes (200 °C, 40 % glicerol/água, 60 min). Em trabalho com pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar, Martin et al. (2011), conseguiram uma biomassa pré-tratada com 72% de celulose.

Dessa forma, os resultados obtidos no presente trabalho mostram que o pré-tratamento organossolve da biomassa residual de eucalipto utilizando como solvente a glicerina bruta, foi eficiente na remoção de lignina presente na biomassa, além da manutenção da celulose na fração sólida pré-tratada.

5.2.3 Deslignificação obtida das biomassas pré-tratadas

Tendo como objetivo principal do pré-tratamento a deslignificação da biomassa, o planejamento experimental fatorial $2^{(3-0)}$ foi proposto com o intuito de identificar as variáveis significativas no processo de deslignificação, tendo como variáveis do processo, a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), a concentração de glicerina bruta em água (%) e o tempo de reação (min).

A matriz com 8 experimentos foi gerada, adicionando ao planejamento 3 experimentos no ponto central a fim de verificar o erro experimental, totalizando os 11 experimentos realizados. A Tabela 4 abaixo apresenta a matriz do planejamento experimental $2^{(3-0)}$ e os resultados obtidos para a deslignificação da biomassa pré-tratada.

Tabela 4. Porcentagem de deslignificação do material pré-tratado.

Experimento	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Concentração (%)	Tempo (min)	Deslignificação (%)
1	180	40	60	48,29
2	220	40	60	74,28
3	180	40	240	55,98
4	220	40	240	83,09
5	180	80	60	42,30
6	220	80	60	67,85
7	180	80	240	55,82
8	220	80	240	72,08
9	200	60	150	69,49
10	200	60	150	64,49
11	200	60	150	65,75

Fonte: Autoria própria.

Os valores de deslignificação encontrados foram bastante satisfatórios, chegando a atingir 83,09 % de deslignificação (Experimento 4), valor superior ao de 65 % encontrado por Romani et al. (2016), para a biomassa de eucalipto nas condições experimentais de temperatura a 200°C , concentração glicerina pura/água de 56 %, por um tempo de 69 minutos . Esse valor também é superior ao descrito por Meighan et al. (2017) que, ao utilizarem a glicerina bruta para deslignificar o bagaço de cana-de-açúcar, alcançaram a taxa de 64% de deslignificação.

A Tabela 5 mostra os resultados dos efeitos das variáveis estudadas para o processo de deslignificação da biomassa:

Tabela 5 - Respostas dos efeitos de cada variável explorada no planejamento experimental $2^{(3-0)}$ para a variável resposta deslignificação (%).

Fator	Efeitos	Desvio-padrão	t(2)	p-valor
Média/Interações	63,5836	0,7841	81,0937	0,0001
(1) Temperatura (°C)	23,7275	1,8388	12,9036	0,0059
(2) Concentração (%)	-5,8975	1,8388	-3,2072	0,0850
(3) Tempo (min)	8,5625	1,8388	4,6565	0,0431
Interação 1 x 2	-2,8225	1,8388	-1,5349	0,2646
Interação 1 x 3	-2,0425	1,8388	-1,1108	0,3823
Interação 2 x 3	0,3125	1,8388	0,1699	0,8807
R ² ajustado = 0,95				
Erro Puro = 6,76				

Fonte: Autoria própria.

Pela análise de deslignificação, foi observado que o melhor resultado para a deslignificação da biomassa foi obtido no Experimento 4. Esse experimento é caracterizado por temperatura de 220 °C e tempo de reação de 240 min, que significa que valores mais altos de temperatura e tempo de reação promovem uma maior deslignificação da biomassa, assim como foi mostrado pela tabela de efeitos acima.

As variáveis que se mostram significativas para a deslignificação da biomassa também podem ser visualizadas no Gráfico de Pareto apresentado (Figura 17):

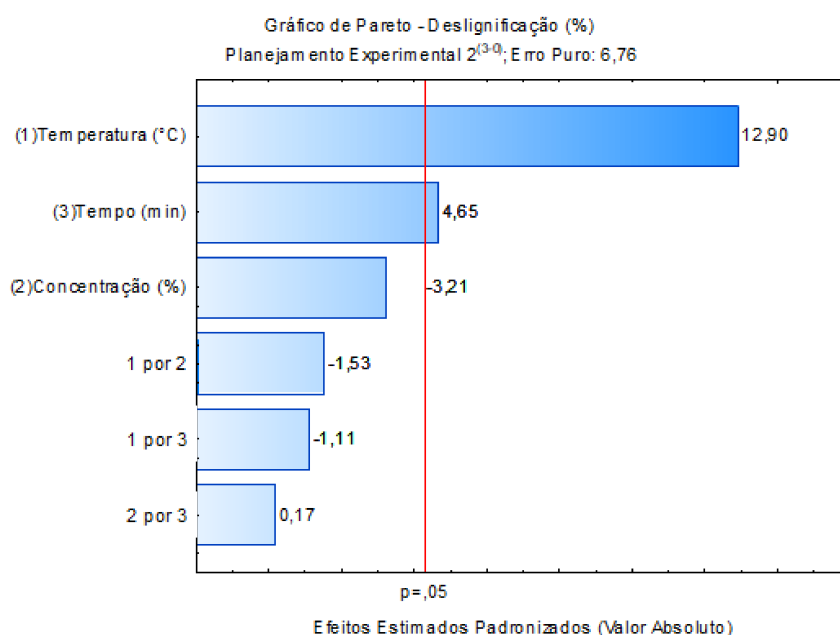


Figura 17. Gráfico de Pareto para a variável resposta deslignificação (%).

Através dos dados apresentados na Tabela 5 e no Gráfico de Pareto, foi possível verificar que as variáveis temperatura (°C) e tempo de reação (min) foram significativas (com 95 % de confiança), com efeito positivo no processo de deslignificação da biomassa residual de eucalipto. Já a variável concentração de glicerina bruta em água (%), não foi significativa para a deslignificação, na faixa estudada. As interações entre as variáveis também não foram significativas para a deslignificação. Através do modelo estatístico utilizado, foi gerada a Equação abaixo:

$$\text{Deslignificação (\%)} = 0,86T + 0,71C + 0,12t - 0,003TC - 0,001Tt + 0,00009Ct - 116,36 \quad (14)$$

onde:

T: temperatura (°C);

C: concentração de glicerina bruta/água (%);

t: tempo de reação (min).

Através da Equação obtida pelo modelo foi possível gerar os gráficos de superfície, sendo a Figura 18, superfície de resposta da Deslignificação (%) com as variáveis significativas Temperatura (°C) e Tempo de reação (min):

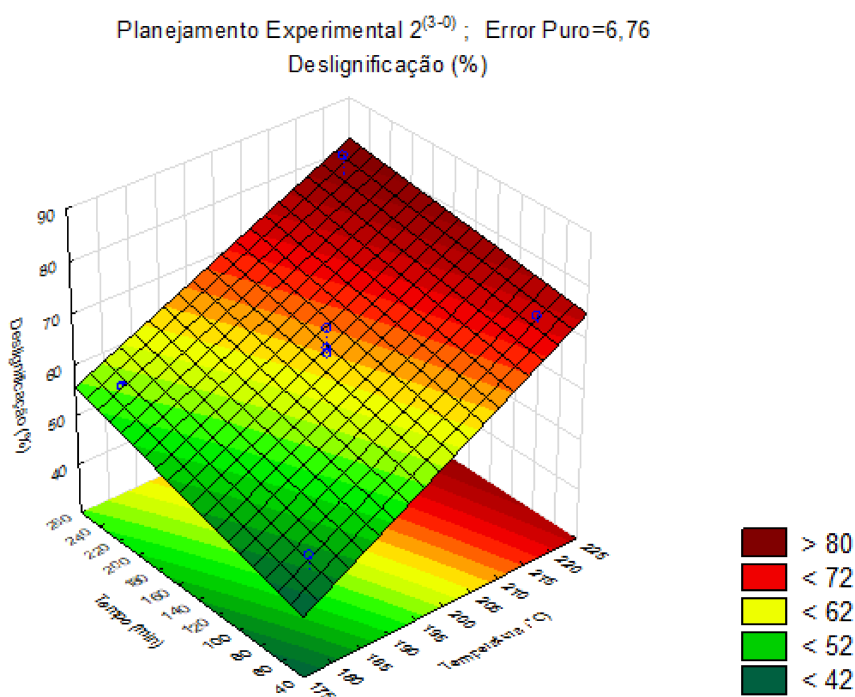


Figura 18. Superfície de Resposta da Deslignificação (%) em função da Temperatura (°C) e Tempo (min).

Ainda com a finalidade de determinar se o modelo era estatisticamente significativo, foram realizadas análise de variância ANOVA e Testes F, que se referem ao cálculo da razão de variâncias.

- 1) Teste F_1 - dado pela Equação 15, utilizado na determinação da significância estatística da regressão, sendo que o valor de F_1 calculado deve ser maior que o valor de F_1 tabelado (porém, não deve ser superior a 10 vezes):

$$F_{1(6,4)} = \frac{MQ_{Regressões}}{MQ_{Resíduos}} \quad (15)$$

- 2) Teste F_2 - calculado pela Equação 16, sendo que o valor de F_2 calculado deve ser menor que o valor de F_2 tabelado:

$$F_{2(2,2)} = \frac{MQ_{Falta\ de\ ajuste}}{MQ_{Erro\ puro}} \quad (16)$$

A Tabela 6, a seguir, apresenta os resultados para a análise de variância ANOVA e para os dois Testes F realizados nesta etapa da análise estatística.

Tabela 6 - ANOVA para a variável de resposta deslignificação (%)

ANOVA	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	F _{Tabelado}
Regressão	1366,6543	6	227,7757	$F_1 = 14,23$	$F_1 = 6,16$
Resíduos	64,0238	4	16,0059		
Falta de ajuste	50,4987	2	25,2493	$F_2 = 3,73$	$F_2 = 19,00$
Erro puro	13,5251	2	6,7625		
Total	1430,6781	10			

$R^2 = 0,95$
 Erro Puro = 6,76

SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: médias dos quadrados.

Ao analisar os resultados da Tabela 6, foi possível verificar que as condições de F_1 e F_2 foram satisfeitas, sendo $F_{1Calculado} > F_{1Tabelado}$ e $F_{2Calculado} < F_{2Tabelado}$, e que o coeficiente de determinação é muito próximo de 1,00 ($R^2 = 0,95$). Portanto, pode-se dizer que o modelo proposto na análise estatística do planejamento experimental $2^{(3-0)}$ consegue explicar 95 % dos resultados obtidos experimentalmente para a variável deslignificação da biomassa (%).

A Figura 19 traz o gráfico dos resultados obtidos experimentalmente *versus* os resultados obtidos pelo modelo proposto para a variável resposta, deslignificação (%).

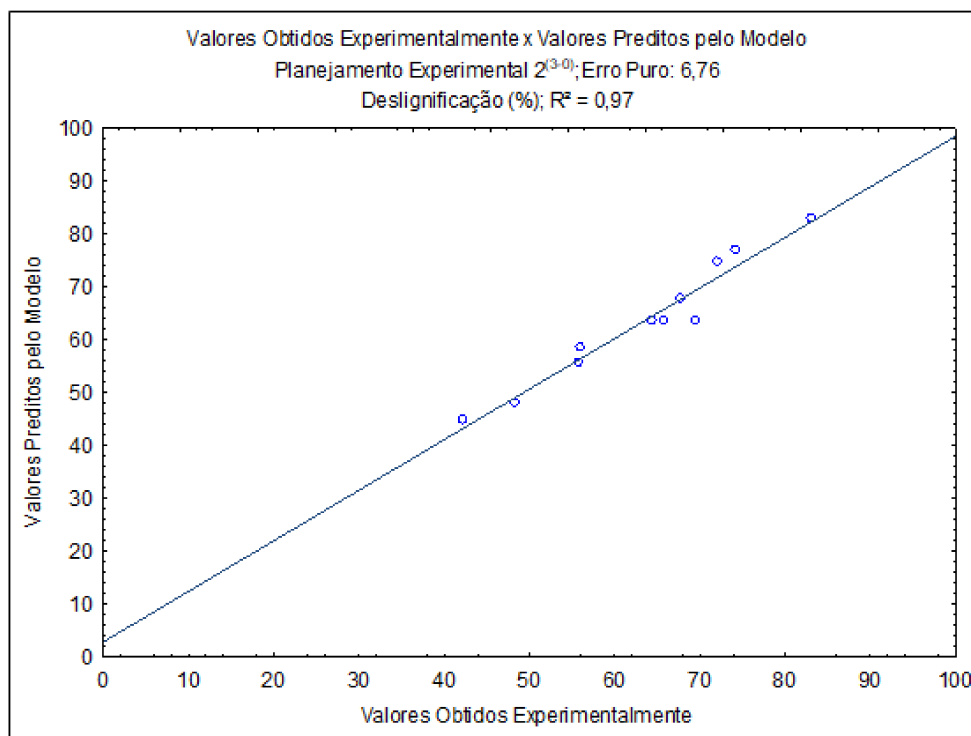


Figura 19 - Gráfico dos resultados obtidos experimentalmente *versus* os resultados obtidos pelo modelo proposto para a variável resposta deslignificação (%).

Ao analisar a Figura 19, verificou-se uma boa concordância entre os valores experimentais e os valores preditos pelo modelo. O modelo quadrático foi significativo para informar que as variáveis temperatura (°C) e tempo de reação (min) são as variáveis significativas no processo de deslignificação da biomassa.

5.2.4 Validação do potencial de uso da glicerina bruta

Com o intuito de verificar o potencial de uso da glicerina bruta como solvente do pré-tratamento organossolve, foram realizados novos experimentos empregando as mesmas condições que demonstraram maior de deslignificação e preservação da celulose (Experimento 4 e Experimento 2) com a glicerina bruta, porém utilizando glicerina pura comercial como

solvente. A Tabela 7 abaixo traz as principais informações quanto à caracterização das biomassas e do percentual de deslignificação obtido:

Tabela 7. Caracterização das biomassas pré-tratadas com glicerina pura e suas comparações

	Experimento A (equivalente ao Experimento. 4)	Experimento 4 (Glicerina Bruta)	Experimento B (equivalente ao Experimento 2)	Experimento 2 (Glicerina Bruta)
Deslignificação (%)	63,02	83,09	66,48	74,28
Celulose (%)	64,41	75,45	74,82	82,45
Hemicelulose (%)	1,49	1,18	0,65	1,53
Lignina Total (%)	24,36	13,59	18,97	15,06

Fonte: Autoria própria.

Com base nos resultados encontrados, foi possível verificar a potencialidade de uso do glicerina bruta como solvente do pré-tratamento organossolve da biomassa de eucalipto. Quando se utilizou o glicerol puro, foram obtidos, nos dois experimentos, valores menores de deslignificação do que quando se utilizou a glicerina bruta. Esse evento pode ser explicado pelo fato de a glicerina bruta possuir em sua composição resíduos da reação de transesterificação do biodiesel, podendo ter colaborado com a deslignificação da biomassa, ou seja, pode ter ocorrido um efeito catalítico resultante da presença de uma base por exemplo, alvo importante de estudo para trabalhos futuros. Além disso, no Experimento A, que é equivalente ao Experimento 4 (glicerina bruta), o teor de celulose na biomassa pré-tratada com glicerina pura foi menor (64,41 %) do que o obtido usando a glicerina bruta (75,45 %).

Os dados comprovam que o uso da glicerina em sua forma bruta é de alta potencialidade, pois além dos melhores valores encontrados, ela representa uma redução significativa no custo do pré-tratamento, além de ser uma oportunidade para os excedentes de produção das biorrefinarias. Sua eficiência no fracionamento e deslignificação foi confirmada por Santos (2018) e Meighan et al. (2017), que empregaram a glicerina bruta no pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar, e obtiveram resultados satisfatórios.

5.3 Aspecto físico visual das biomassas *in natura* e pré-tratadas.

As imagens mostram o aspecto visual das biomassas após pré-tratamento nas diferentes condições (Figura 20). Nota-se que, onde foram utilizadas condições mais severas de temperatura e menores concentrações glicerol/água, a estrutura foi mais afetada (Exp.4 e2).

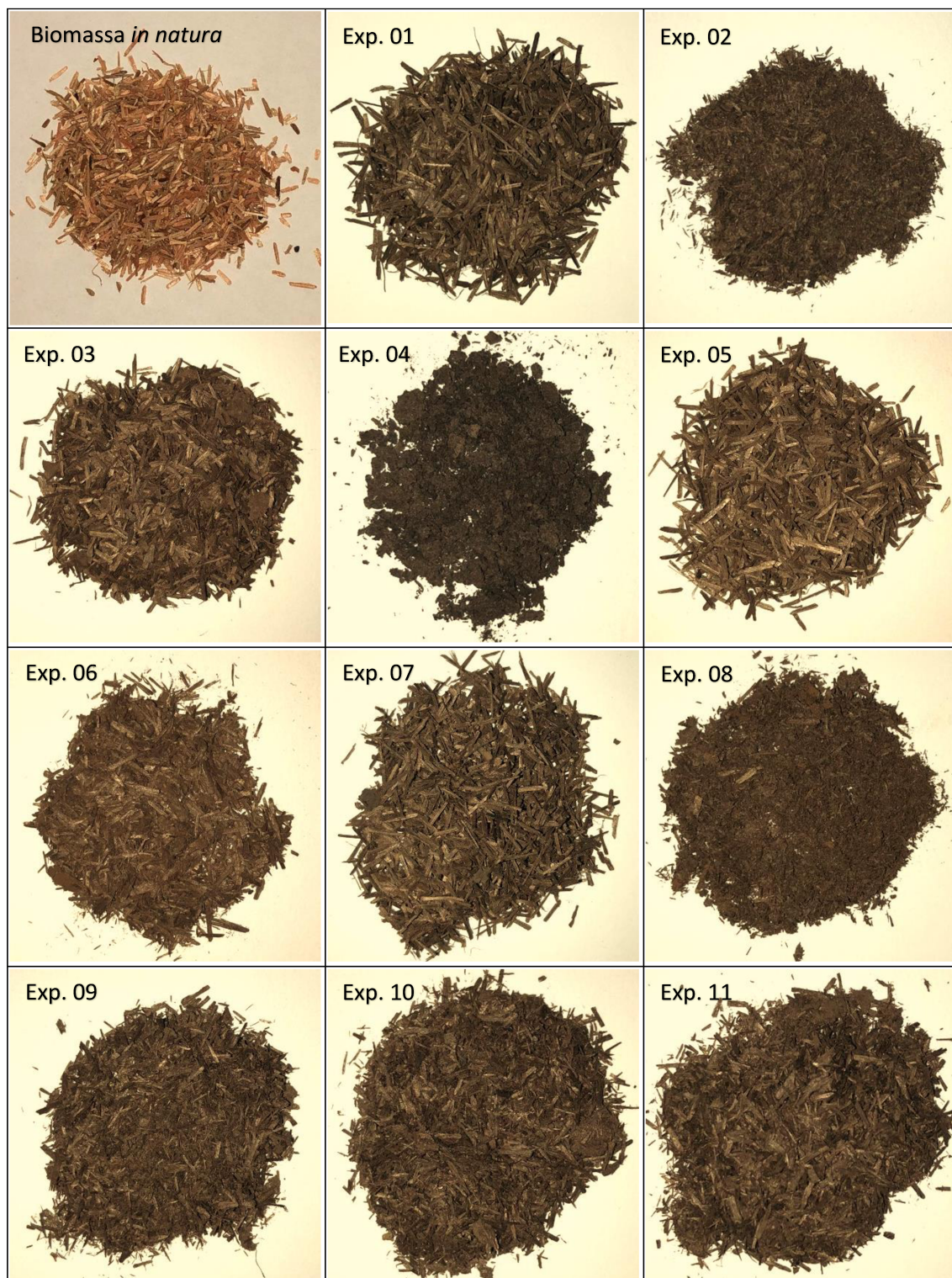


Figura 20 – Aspecto visual das biomassas *in natura* e pré-tratadas.

5.4 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Com a finalidade de analisar os efeitos causados pelo pré-tratamento organossolve na morfologia das fibras das biomassas de eucalipto pré-tratadas, a partir das imagens geradas por MEV, foi possível notar algumas mudanças e observações puderam ser feitas.

De acordo com as micrografias, a biomassa *in natura* quando comparada as demais pré-tratadas, apresenta uma superfície mais contínua, com fibras melhor ordenadas, sem muitas rupturas. Ao passar pelo pré-tratamento, as imagens mostram biomassas com fibras mais curtas, quebradas e mais expostas, ou seja, uma abertura na amostra, fator que, aliado à deslignificação causada e solubilização da hemicelulose, facilitam o processo de sacarificação enzimática na produção de etanol 2G, por exemplo (ROMANÍ, et al 2013).

Também, essas modificações na estrutura fibrosa das biomassas pré-tratadas podem ser entendidas como uma vantagem do pré-tratamento, uma vez que estaria gerando um aumento da área específica dessas biomassas (SANTOS, 2018). As figuras abaixo (Figura 21a, 21b e 21c) mostram as análises de imagem para cada pré-tratamento.

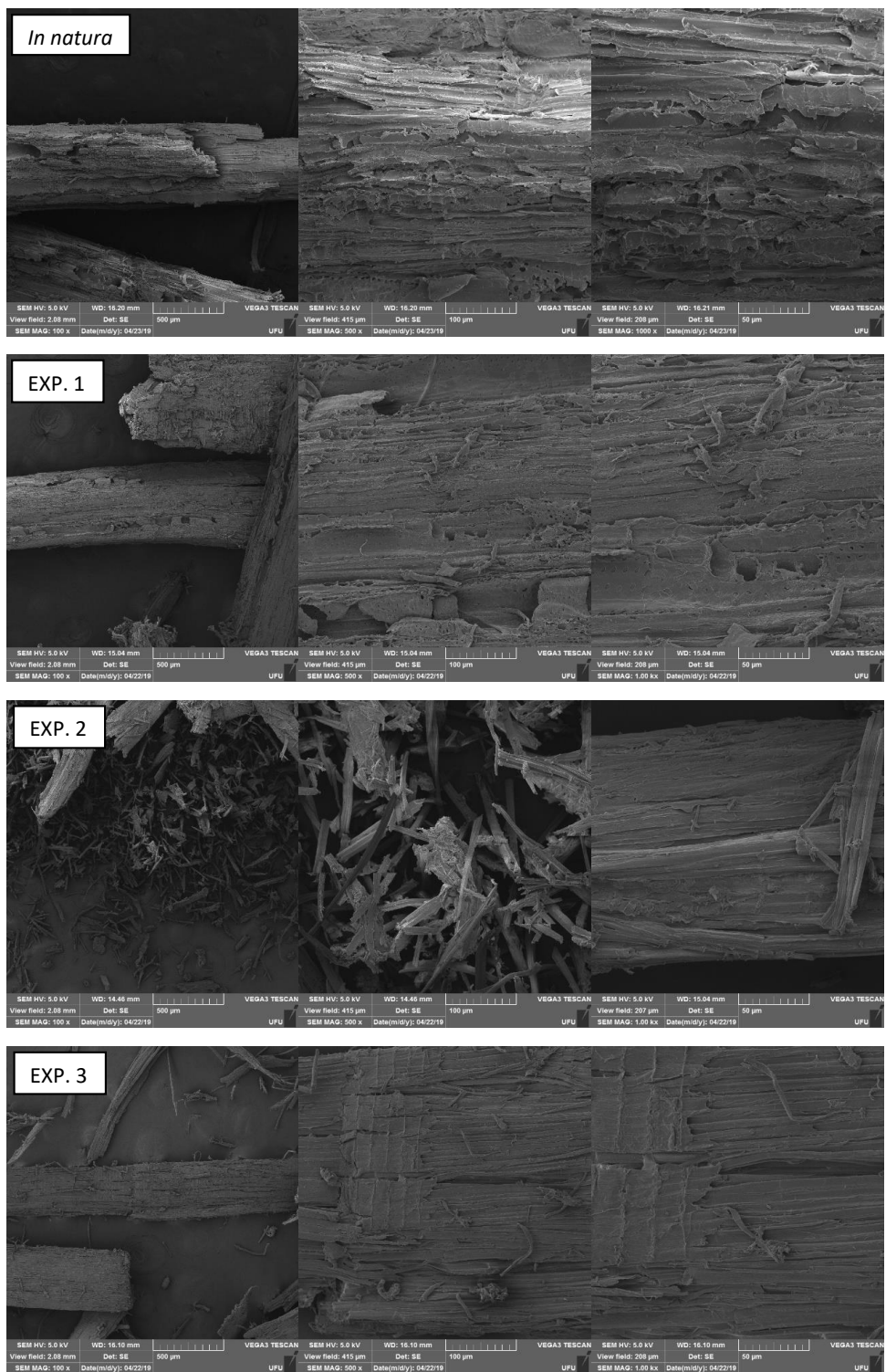


Figura 21a – Imagens de MEV das biomassas *in natura* e pré-tratadas ampliadas 100x, 500x, 1000x, respectivamente.

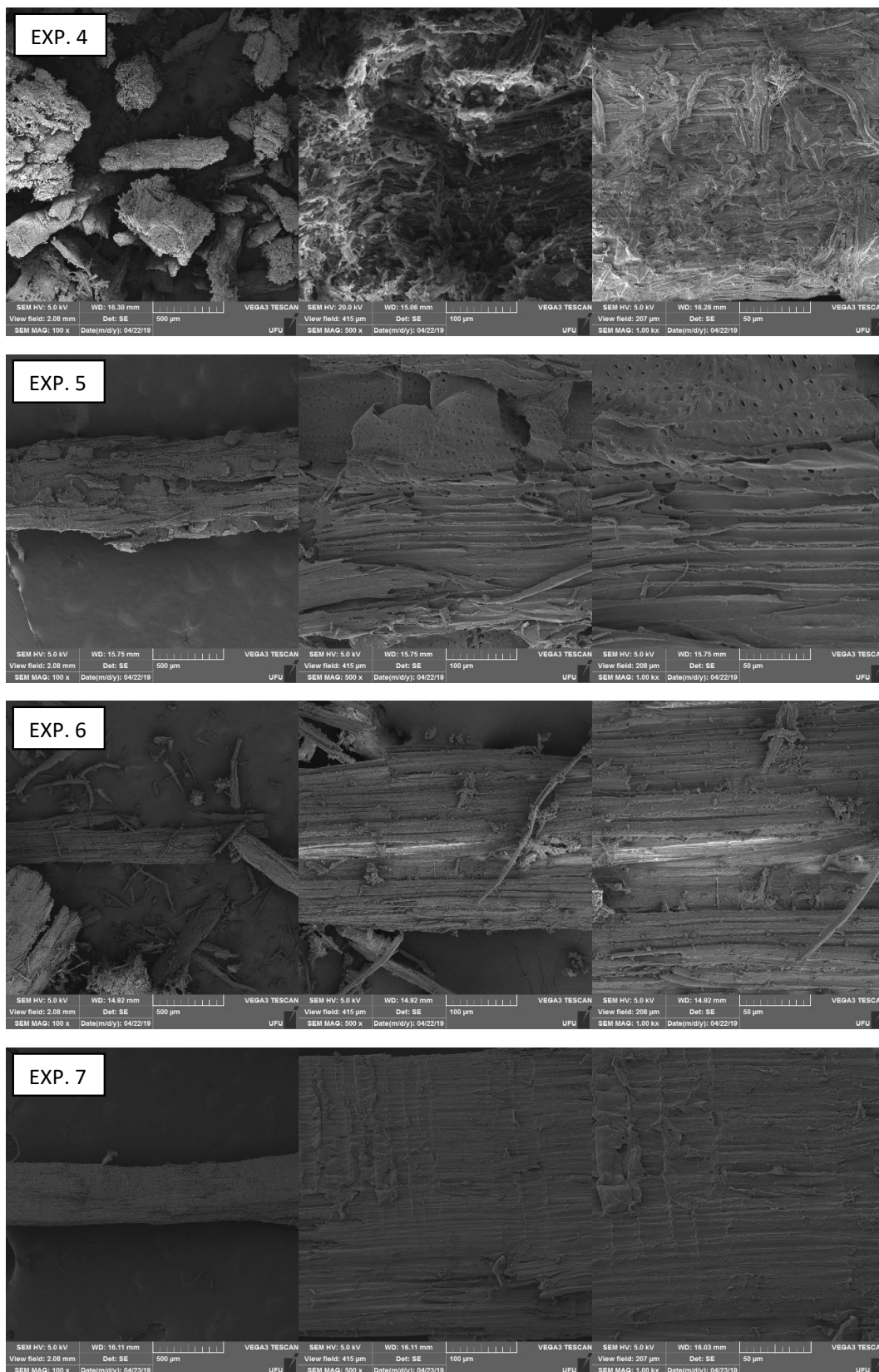


Figura 21b – Imagens de MEV das biomassas *in natura* e pré-tratadas ampliadas 100x, 500x, 1000x, respectivamente.

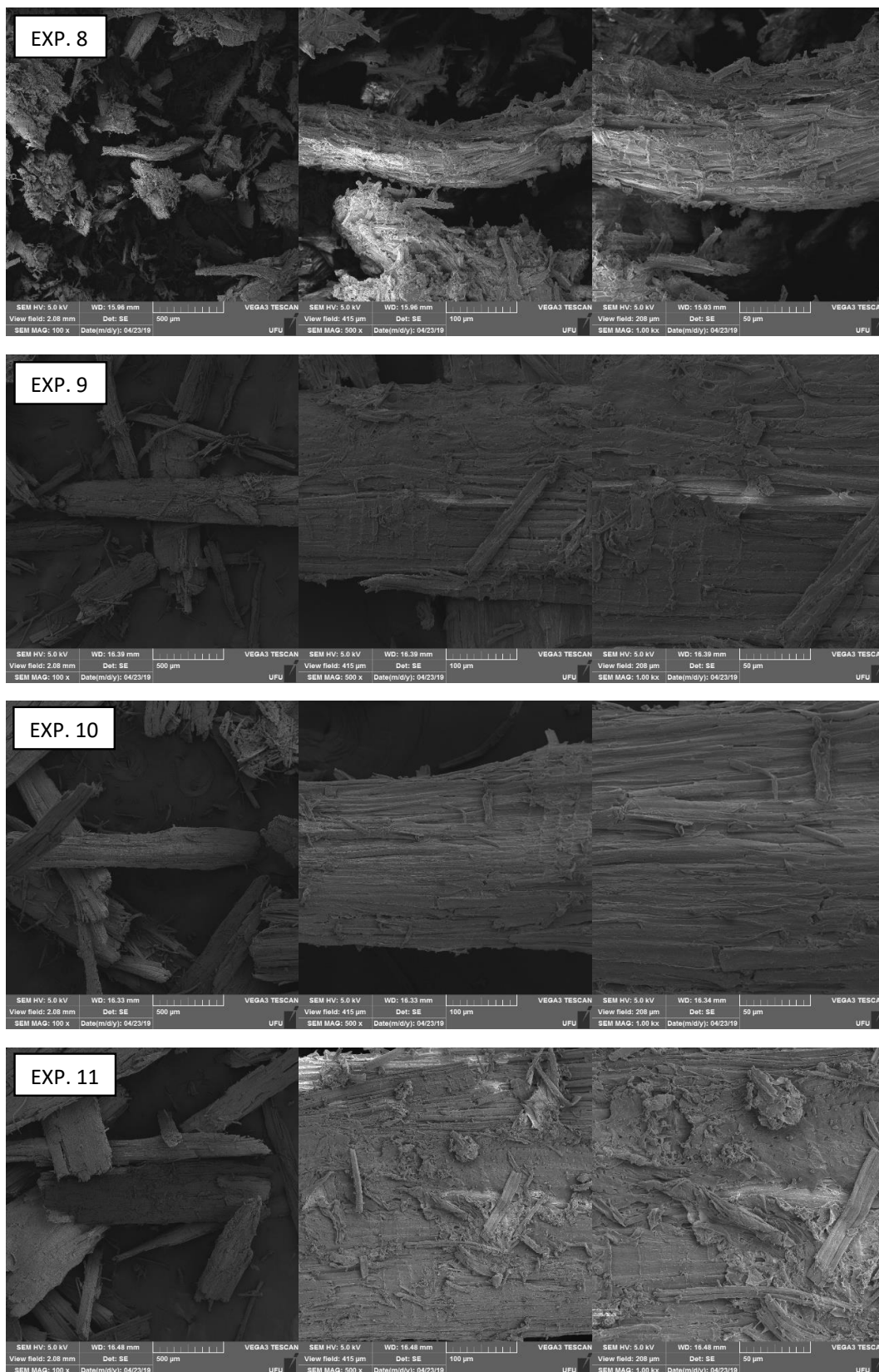


Figura 21c – Imagens de MEV das biomassas *in natura* e pré-tratadas ampliadas 100x, 500x, 1000x, respectivamente.

5.5 Quantificação de lignina obtida do licor negro, após o pré-tratamento

Após a extração ácida de lignina presente no licor negro, fase líquida resultante do pré-tratamento, foi realizada a quantificação dessa lignina para cada pré-tratamento, dados apresentados na Tabela 8:

Tabela 8. Lignina obtida após extração ácida do licor negro (g lignina/100g biomassa)

Experimento	Condições	g lignina/100 g biomassa
1	180 °C, 40%, 60 min	3,83
2	220 °C, 40%, 60 min	5,67
3	180 °C, 40%, 240 min	2,99
4	220 °C, 40%, 240 min	6,42
5	180 °C, 80%, 60 min	5,51
6	220 °C, 80%, 60 min	11,25
7	180 °C, 80%, 240 min	6,46
8	220 °C, 80%, 240 min	9,56
9	200 °C, 60%, 150 min	6,65
10	200 °C, 60%, 150 min	7,18
11	200 °C, 60%, 150 min	6,68

Fonte: Autoria própria.

São raros os trabalhos que se destinam a recuperar a lignina extraída presente no licor negro após o pré-tratamento. Um estudo que pode ser citado é o de Romani et. al., (2016), que realizou procedimento semelhante de quantificação onde obtiveram, após o pré-tratamento organossolve utilizando glicerina pura como solvente nas condições de 200 °C, tempo de reação de 69 minutos e concentração de 56 % glicerol-água. No estudo, os autores encontraram cerca de 15 g de lignina a cada 100 g de biomassa de eucalipto, ou seja, valores um pouco superiores aos quantificados neste trabalho.

Esse fato pode estar relacionado com a utilização de glicerina bruta como solvente no pré-tratamento, uma vez que essa apresenta impurezas, sais, entre outros. Logo, é necessário buscar métodos que potencializem a recuperação da lignina extraída, viabilizando assim o pré-tratamento a partir da geração de mais um produto de interesse econômico.

Além da lignina extraída pelo pré-tratamento presente no licor, ao injetar amostras da fase líquida (licor negro) para análise de cromatografia líquida (HPLC) foi possível detectar a presença de furfural e hidroximetilfurfural, dois outros produtos de interesse comercial.

5.6 Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) da lignina extraída do processo organossolve

Como foi discutido ao longo do trabalho, sabe-se da importância da utilização de todos os componentes biomassa na viabilização do processo organossolve atrelado ao conceito das biorrefinarias. Em especial, o uso da lignina como material de valor agregado é extremamente promissor, uma vez que, em sua maioria, a lignina ainda é queimada para obtenção energia na biorrefinaria (SANTOS et al., 2015). Logo, a fim de viabilizar o uso e avaliar possíveis aplicações nobres da lignina, foi realizada a análise de infravermelho, uma vez que as condições de processamento moldam a pureza e características químicas da lignina extraída.

A Tabela 9 abaixo traz os principais interpretações dos espectros em análises de infravermelho (FT-IR) para madeiras duras, como é classificada a madeira do eucalipto.

Tabela 9. Interpretação dos espectros em análise de Infravermelho (FT-IR)

Localização da banda de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de vibração - Lignina de madeira dura
3500 – 3100	Estiramento das ligações OH dos grupos
1715 – 1710	Estiramento de ligações C=O na localização β e no grupo COOH carboxila
1665 – 1655	Estiramento das ligações C=O na localização α e γ - carbonila
1605 – 1595	Vibrações das ligações C=C dos anéis aromáticos
1515 – 1500	
1430 – 1425	
1340 – 1330	Estiramento de ligações C-O do grupo siringila
1272 – 1265	Estiramento de ligações C-O do grupo guaiacila
1225 – 1220	
1150	Deformação de ligações C-H em anéis guaicílicos
1125	Deformação de ligações C-H em anéis de siringila
1085	Deformação de ligações C-O dos álcoois secundários e éteres alifáticos
1035 – 1130	Deformação de ligações C-H dos anéis aromáticos e de ligações C-O em álcoois primários
945	Deformação de ligações C-H associadas a anéis aromáticos
870 – 850	
780	

Fonte: Adaptado de Bykov, 2008.

A Figura 22 apresenta os espectros de duas ligninas, sendo (a) lignina obtida no licor negro após o pré-tratamento e (b) lignina comercial padrão.

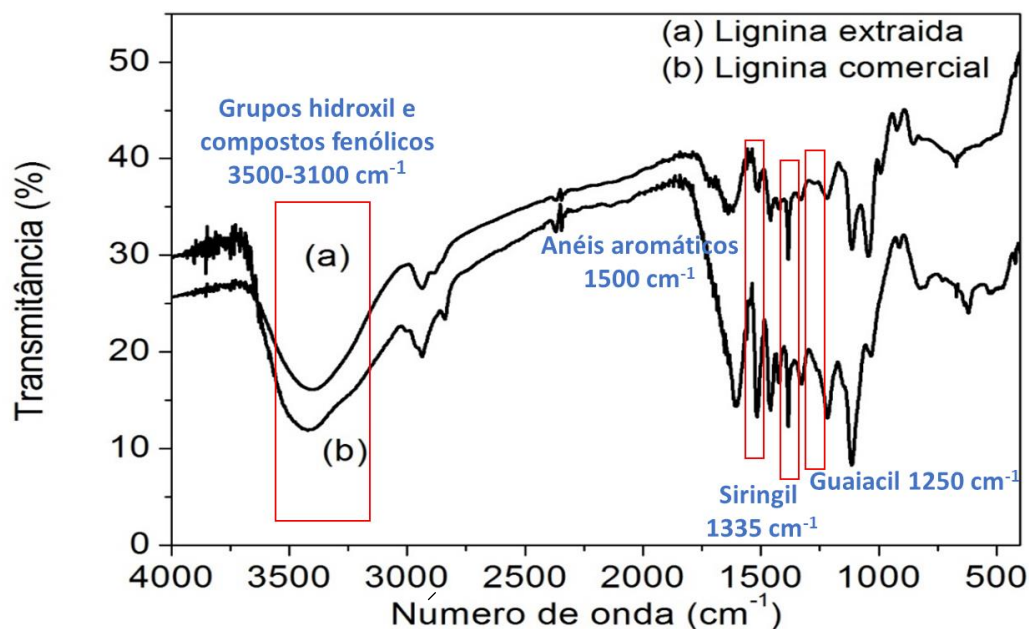


Figura 22 – Análise de Espectrômetro de Infravermelho (FT-IR) das Ligninas.

Os espectros obtidos exibiram padrões típicos de grupos funcionais presentes em lignina de biomassas lignocelulósicas. Entre eles podem ser citados os grupos hidroxila e compostos fenólicos envolvidos em ligações de hidrogênio entre 3500 e 3100 cm^{-1} , grupos carbonila e carboxila na região de 1700 cm^{-1} (vibrações de estiramento de ligações C=O na localização β e no grupo COOH), e anéis aromáticos na banda de 1500 cm^{-1} (ROMANI et al., 2016). No espectro de lignina extraída, é possível ainda notar uma maior intensidade nas bandas referentes ao siringil (1329 cm^{-1}) do que as unidades guaiacil (1265 cm^{-1}), o que é típico da madeira (IBARRA et al., 2005). Vê-se através da análise dos espectros de FT-IR que as ligninas apresentam semelhanças quanto à composição química.

Além da análise da lignina extraída do licor diretamente, foi realizada outra avaliação onde essa mesma lignina extraída passou por um processo posterior de lavagem com água a 60 °C, com o objetivo de retirar resíduos de glicerina bruta e demais impurezas. Com a análise de infravermelho da lignina extraída (pós-lavagem), foi possível detectar que a partir de um procedimento simples, a lignina se tornou ainda mais semelhante, quanto à composição química, com a lignina comercial (Figura 23).

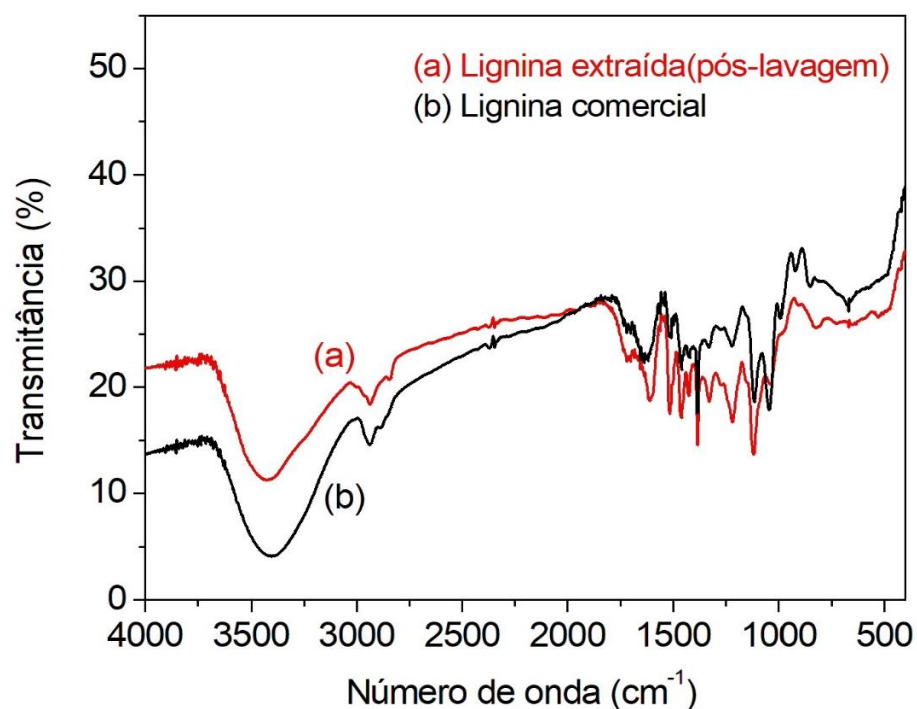


Figura 23 – Análise de Espectrômetro de Infravermelho (FT-IR) da lignina pós-lavagem.

5.7 Difratometria de raios X (DRX)

A partir das análises de difração de raios X das biomassas *in natura* e pré-tratadas, foram gerados os seguintes difratogramas (Figura 24). Em uma comparação inicial dos resultados, é possível notar que as imagens mostram que os picos obtidos para a biomassa *in natura* e pré-tratadas são característicos de celulose, sendo a região amorfa entre $18^\circ \leq 2\theta \leq 19^\circ$ e o pico cristalino localizado entre os ângulos e $22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$.

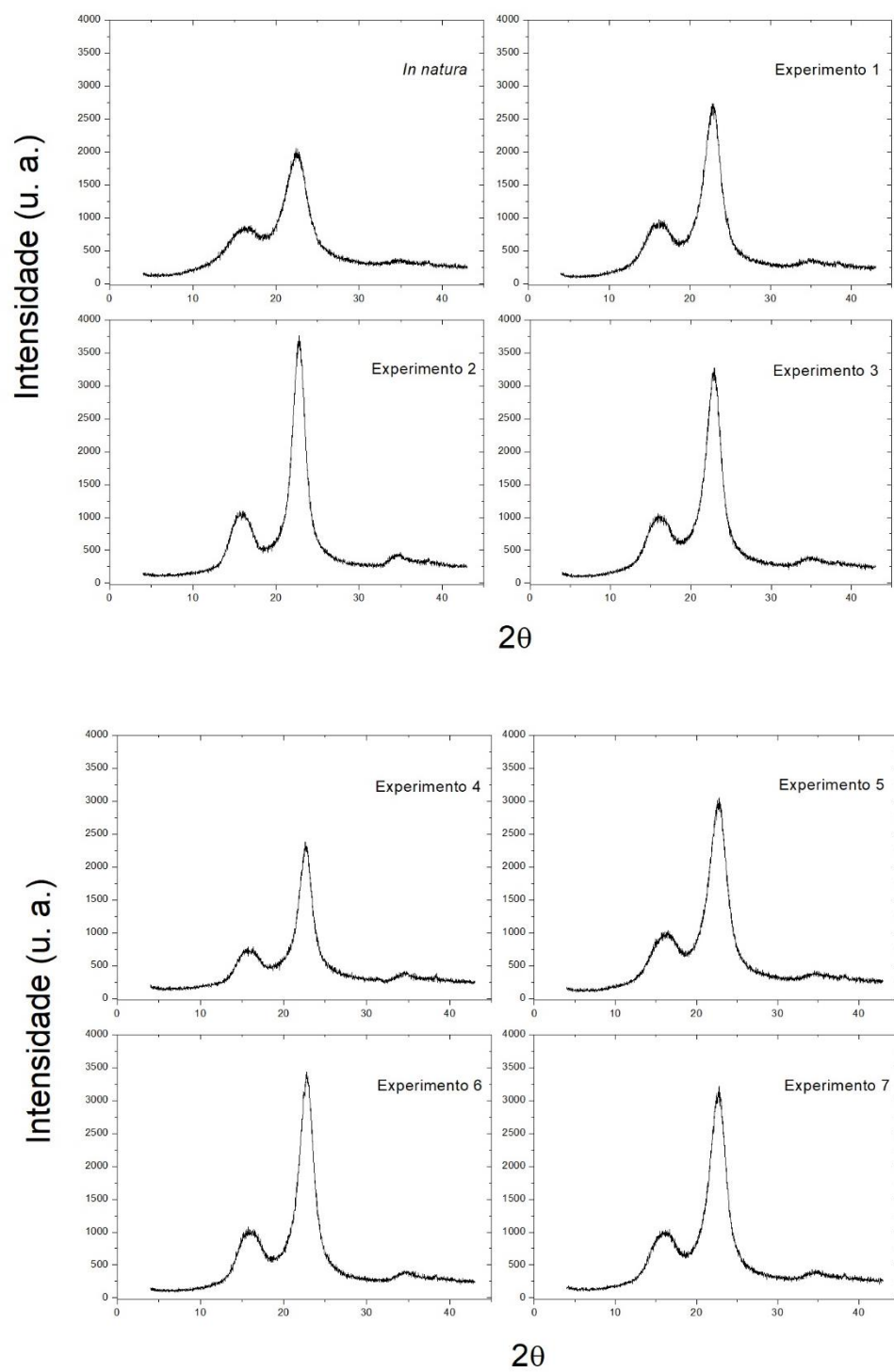


Figura 24a – Difrátogramas de Raio-X da biomassa de eucalipto *in natura* e após os pré-tratamentos.

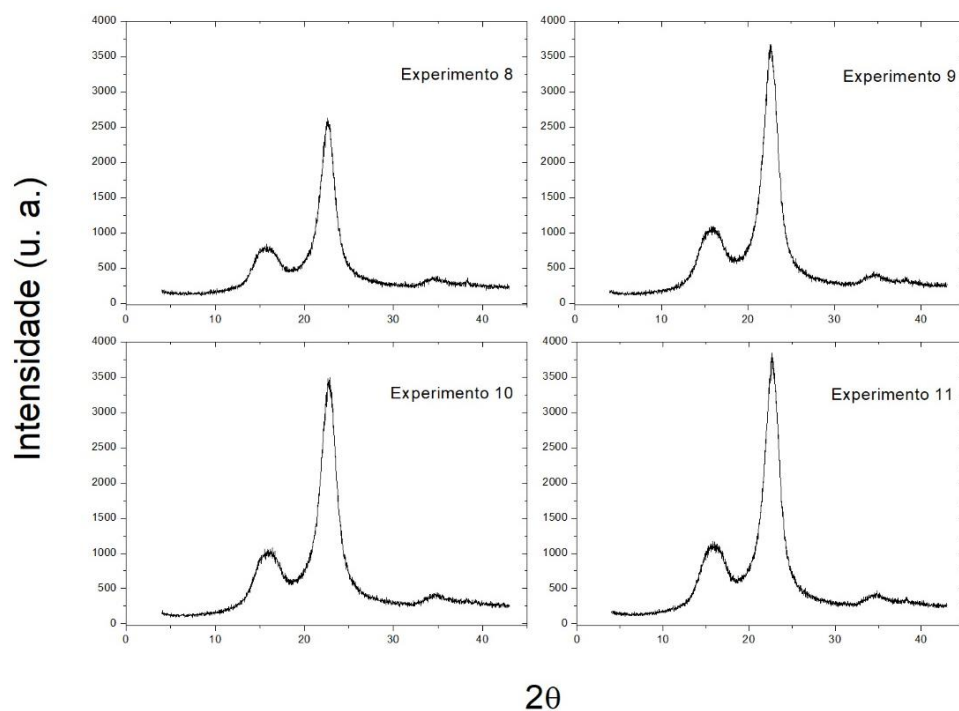


Figura 24b – Difratogramas de Raio-X da biomassa de eucalipto *in natura* e após os pré-tratamentos.

A partir das intensidades dos picos cristalinos e amorfos, foram obtidos os valores dos índices de cristalinidade para as biomassas *in natura* e pré-tratadas (Tabela 10).

Tabela 10 - Índice de cristalinidade da biomassa *in natura* e após os pré-tratamentos.

Experimento	ICr (%)
Biomassa <i>in natura</i>	64,59
Experimento 01	77,38
Experimento 02	84,66
Experimento 03	80,24
Experimento 04	77,85
Experimento 05	77,28
Experimento 06	81,76
Experimento 07	78,65
Experimento 08	80,99
Experimento 09	83,05
Experimento 10	82,72
Experimento 11	81,92

Ocorreu aumento do Índice de Cristalinidade em todas as biomassas pré-tratadas quando comparadas à *in natura*. A elevação da cristalinidade em material lignocelulósico pré-tratado é relatado na literatura, e esse aumento ocorre devido à solubilização das frações amorfas do material lignocelulósico, tais como lignina e hemiceluloses. (SILVA, 2017).

6 CONCLUSÃO

Com a realização do pré-tratamento utilizando a biomassa residual de eucalipto e a glicerina bruta como solvente, verificou-se um enorme potencial para o uso desse processo quando se deseja deslignificar a biomassa.

A partir dos resultados encontrados, concluiu-se que o pré-tratamento organossolve é eficiente para a deslignificação da biomassa lignocelulósica, apresentando porcentagens de deslignificação elevadas (chegando a 83 %). O planejamento experimental permitiu identificar que as variáveis mais significativas, com efeitos positivos na deslignificação, foram temperatura e o tempo de reação.

A utilização da técnica de difração de Raio-X, possibilitou comprovar a eficiência do pré-tratamento organossolve na remoção de lignina e hemicelulose da biomassa, pois os índices de cristalinidade sofreram aumento médio de 20 % quando comparados aos da biomassa *in natura*, devido ao fato da celulose ser cristalina.

Além disso, com a caracterização das biomassas pré-tratadas com glicerina bruta, e a repetição de experimentos 4 e 2, que se mostraram bastante eficientes, utilizando a glicerina pura, foi possível detectar que utilizando a glicerina bruta como solvente, obteve-se uma maior deslignificação, e melhor preservação da celulose na biomassa. Esses efeitos devem ser estudados em trabalhos futuros. Esse teste foi importante para a validação do potencial uso da glicerina em sua forma bruta, o que além de reduzir custos, gera benefícios às biorrefinarias.

Na fração líquida, a lignina que foi extraída da biomassa e separada no licor negro, apresenta composição química semelhante à lignina comercial, aumentando ainda mais o benefício de se usar o pré-tratamento organossolve. A quantidade de lignina obtida no processo demonstra o potencial de obtenção desse produto de interesse comercial. Além disso, foi detectado no licor negro a presença de produtos de grande interesse e valor agregado como o furfural e o HMF.

A utilização de resíduos, tanto a biomassa florestal quanto a glicerina bruta, podem viabilizar economicamente o processo, gerando produtos de apreciável valor agregado e interesse econômico.

7 SUGESTÕES E TRABALHOS FUTUROS

- Fazer a otimização do processo de pré-tratamento organossolve com base nas variáveis estudadas nesse trabalho;
- Pelo resultado das variáveis, sendo a concentração não significativa para a deslignificação da biomassa, sugere-se realizar novos pré-tratamentos reduzindo os teores de glicerina bruta;
- Realizar estudo referente a logística do processo com base nos resíduos utilizados (florestal e glicerina bruta), e análise da viabilidade econômica para aplicação em larga escala do pré-tratamento estudado, além de testes com demais biomassas como o bagaço da cana-de-açúcar.
- Investigação do possível efeito catalítico da glicerina bruta no pré-tratamento;
- Realizar análises específicas da lignina extraída obtida – RMN, CHN, Poder Calorífico, entre outras;
- Análise de identificação e quantificação dos demais compostos presentes no licor negro;
- Testar o uso na biomassa pré-tratada deslignificada em etapas de subsequentes para produção de etanol 2G;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKHTAR, N.; GUPTA, K.; GOYAL, D.; GOYAL, A. Recent advances in pretreatment technologies for efficient hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Environmental Progress and Sustainable Energy**, v. 35, p. 489-511, 2016. <https://doi.org/10.1002/ep.12257>
- ALVIM, J. C.; ALVIM, F. A. L. S.; SALES, V. H. G.; SALES, P. V. G.; OLIVEIRA, E. M. D.; COSTA, A. C. R. Biorrefinarias: Conceitos, Classificação, Matérias Primas E Produtos. **J. Bioenergy Food Sci**, 2014.
- ANP. **Produção de Biodiesel no Brasil**. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/biodiesel>. Acesso em 19 de janeiro de 2019.
- ANP. **Anuário Estatístico Brasileiro de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2018**. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/images/central-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/2018/anuario-2018-versao-impressao.pdf>. Acesso em 20 de janeiro de 2019.
- ARAÚJO, C. K. C. **Avaliação da influência de surfactantes químico e biológico na hidrólise da casca do coco verde após pré-tratamento ácido/alcalino e com peróxido de hidrogênio alcalino**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal/RN.
- AYHAN, D. Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. **Energy Convers Manage**, v.49, p. 2106-2116, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.02.020>
- BAÊTA, B. E. L.; LIMA, D. R. S.; ADARME, O. F. H.; GURGEL, L. V. A.; AQUINO, S. F. Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolyzates in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 137-146, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.003>
- BRAGATTO, J. **Avaliação do potencial da casca de *Eucalyptus spp* para a produção de bioetanol**. 2010. Tese (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Piracicaba/SP.
- BEHERA, S.; ARORA, R.; NANDHAGOPAL, N.; KUMAR, S. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 91-106, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.047>
- BYKOV, I. **Characterization of natural and technical lignins using FTIR spectroscopy**. 2008. Master thesis, Luleå University of Technology, Luleå.
- CAVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; GÍRIO, F. M. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 67, p. 849-864, 2008.

CARROLL, A.; SOMERVILLE, C. Cellulosic Biofuel. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, vol.60, p. 165-182, 2009. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092125>

CHIN, S. X.; CHIA, C. H.; FANG, Z.; ZACARIA, S.; LI, X. K.; ZHANG, F. A kinetic study on acid hydrolysis of oil palm fruit bunch fibers using a microwave reactor system. **Energy & Fuels**, v. 28, p. 2589-2597, 2014. <https://doi.org/10.1021/ef402468z>

CUCCATO, M. T. **Estudo dos processos de hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar**. 2012. Monografia (graduação). Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba/SP.

CYBULSKA, I.; BRUDECKI, G. P.; ZEMBRZUSKA, J.; SCHIDT, J. E.; LOPEZ, C. G. B.; THOMSEN, M. H. Organosolv delignification of agricultural residues (date palmfronds, *Phoenix dactylifera* L.) of the United Arab Emirates. **Applied Energy**. v. 185, p. 1040-1050, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.01.094>

D'ALMEIDA, M. L. O. Celulose e papel: tecnologia de fabricação de pasta celulósica. 2. ed. v. 1. São Paulo: IPT-SENAI, 1981.

DEMIRBAS, A. Relationships between lignin contents and fixed carbon contents of biomass samples. **Energy Conversion Management**, v. 44, p. 1481-1486, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0196-8904\(02\)00168-1](https://doi.org/10.1016/S0196-8904(02)00168-1)

DIAS, M. O. S.; JUNQUEIRA T. L.; JESUS C. D. F.; ROSSELL C. E. V.; MACIEL FILHO R.; BONOMI, A. Improving second generation ethanol production through optimization of first generation production process from sugarcane, **Energy**, v. 43, p. 246-252, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2012.04.034>

DRABER, K. M. M. Etanol de segunda geração já é realidade. 2013. **Monografia (graduação)**. Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP.

EL-NAGGAR, N.; DERAZ, S.; KHALIL, A. Bioethanol production from lignocellulosic feedstocks based on enzymatic hydrolysis: current status and recent developments. **Biotechnology**, 2014.

EMBRAPA. **Tecnologias do eucalipto**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/florestas/transferencia-de-tecnologia/eucalipto/>. Acesso em 15 de fevereiro de 2019.

FOELKEL, C. Resíduos sólidos industriais do processo de fabricação de Celulose Kraft de Eucalipto: Resíduos Minerais. **Eucalyptus Online Book** v. 25, n. 5, 2011.

FURTADO, F. B. **Estudo químico, análise do óleo essencial e atividades biológicas de *Inga Laurina* (Sw.) Willd.** 2014. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Química na Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG.

GONÇALVES, F. A.; RUIZ, H. A.; NOGUEIRA, C. C.; SANTOS, E. S.; TEIXEIRA, J. A.; MACEDO, G. R. Comparison of delignified coconuts waste and cactus for fuel-ethanol production by simultaneous and semi-simultaneous saccharification and fermentation strategies. **Fuel**, 131, p. 66-76, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.04.021>

GURGEL, L. V. A. **Hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar: estudo cinético de sacarificação de celulose para produção de etanol**. 2010. Tese (Doutorado). Instituto de Química. Universidade Federal de São Paulo, São Carlos/SP.

HANSEN, N. M. L.; PLACKETT, D. Sustainable films and coatings from hemicelluloses: a review. **Biomacromolecules**, v. 9, p. 1493–505, 2008. <https://doi.org/10.1021/bm800053z>

HATFIELD, R.; FUKUSHIMA, R. S.; Can lignin be accurately measured? **Science**, v. 45, p. 832-839, 2005. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.0238>

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

IBARRA, D.; DEL RIO, J. C.; GUTIERREZ, A.; RODRIGUEZ, I. M.; ROMERO, J. R.; MARTINEZ, M. J.; MARTINEZ, A. T. Chemical characterization of residual lignins from eucalypt paper pulps. **Journal Anal. Appl. Pyrol**, v. 74, p. 116-122, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2004.12.009>

IBÁ – **Anuário Estatístico da Indústria Brasileira de Árvores – Ano Base 2017**. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/digital-sumarioexecutivo-2018.pdf>. Acesso em 21 de novembro de 2018.

IPEF – **Relatório Anual do IPEF 2018 – Ano base 2017**. Disponível em: https://www.ipef.br/publicacoes/relatorio_anual/relatorio_anual/. Acesso em 20 de dezembro de 2018.

JONSSON, L. J.; MARTIN, C. Pretreatment of Lignocellulose: Formation of Inhibitory By-Products and Strategies for Minimizing Their Effects. **Bioresource technology**, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.009>

KAMM, B.; GRUBER, P. R.; KAMM, M. Biorefineries: Industrial Processes and Products. **Wiley Online Library**, 2006. https://doi.org/10.1002/14356007.l04_l01

LI, T.; REMÓN, J.; JIANG, Z.; BUDARIN, V. L.; CLARK, J. H. Towards the development of a novel “bamboo-refinery” concept: selective bamboo fractionation by means of a microwave assisted, acid-catalyzed, organosolv process. **Energy Convers Manage**, v. 155, p. 147-160, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.10.077>

LIGERO, P.; VAN DER KOLK, J. C.; DE VEGA, A.; VAN DAM, J. E. G. Production of xylooligosaccharides from *Miscanthus x giganteus* by autohydrolysis. **Bioresources**, v. 6, p. 4417-4429, 2011.

MATTOS, A. P. **Caracterização termoquímica do glicerol bruto e aproveitamento energético da queima do glicerol em uma planta de médio porte de produção de biodiesel**. 2014. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá/MG.

MARTÍN, C.; JÜRGEN, P.; SAAKE, B.; SCHREIBER, A. Effect of glycerol pretreatment on component recovery and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. **Cellulose Chem. Technol.**, v. 45, p. 487-494, 2011.

MARTINS, L H. S. **Avaliação de diferentes pré-tratamentos do bagaço de cana de açúcar considerando altas cargas de sólidos**. 2015. Tese (doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP.

MEIGHAN, B. N. **Fracionamento de bagaço de cana-de-açúcar por processo hidrotérmico e organossolve no contexto da biorrefinaria lignocelulósico**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto/MG.

MEIGHAN, B. N.; LIMA, D.; CARDOSO, W.; BAÊTA, B.; ADARME, O.; SANTUCCI, B.; PIMENTA, M.; DE AQUINO, S.; GURGEL, V. Two-stage fractionation of sugarcane bagasse by autohydrolysis and glycerol organosolv delignification in a lignocellulosic biorefinery concept. **Industrial crops & Products**, v. 108, p. 431- 441, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.049>

MENDES, K. C. S. **Estudo do processo de pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar para otimização de produção de xilose com reduzida formação de produtos de degradação**. 2013. Dissertação (Mestrado). Programa de pós-graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PB.

MME. **Boletim Mensal de Energia – Mês referência Janeiro/2019**. Ministério de Minas e Energia. Disponível em <http://www.mme.gov.br/web/guest/secretarias/planejamento-e-desenvolvimento-energetico/publicacoes-e-indicadores/boletins-mensais-de-energia>. Acesso em 20 de janeiro de 2019.

MME. **Resenha Energética Brasileira 2018**. Ministério de Minas e Energia. Disponível em: <http://www.mme.gov.br/documents/1138787/1732840/Resenha+Ener%C3%A9tica+Brasileira+-+edi%C3%A7%C3%A3o+2019+v2.pdf/66a837a8-4164-4b37-be4a-59a5ad270c50?version=1.0>. Acesso em 30 de maio de 2019.

MOOD, S. H.; GOLFESHAN, A. H.; TABATABAEI, M.; JOUZANI, G. S.; NAJAFI, G. H.; GHOLAMI, M.; ARDJMAND, M. Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, a Comprehensive Review with a Focus on Pretreatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 77–93, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.033>

MORAES, A. P. S.; BROETTO, F. Pré-hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar e sua caracterização físico-química. **Revista Energia na agricultura**, v. 27, p. 01-12, 2012. <https://doi.org/10.17224/EnergAgric.2012v27n4p01-12>

MORETTI, M. M. S.; PERRONE, O. M.; NUNES, C. C. C.; TABOGA, S.; ROSCOLO, M.; SILVA, R. Effect of pretreatment and enzymatic hydrolysis on the physical-chemical composition and morphologic structure of sugarcane bagasse and sugarcane straw. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 773-777, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.075>

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 673-686, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025>

NOVO, L. P.; GURGEL, L.V. A.; MARABEZEI, K.; CURVELO, A. A. D. Delignification of sugarcane bagasse using glycerol-water mixtures to produce pulps for saccharification. **Bioresour. Technol.**, v. 102, p. 10040–10046, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.050>

OLIVEIRA, C. A. P. **Estudo de pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com ácido acético em sistema pressurizado**. 2016. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Biocombustíveis da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG.

OLIVEIRA, D. C. **Função de produção de etanol de cana-de-açúcar sob diferentes lâminas de irrigação e doses de nitrogênio**. 2017. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Energia da Biomassa da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo/AL.

PASQUINI, D.; PIMENTA, M.T. B.; FERREIRA, L. H.; CURVELO, A. A. S. Extraction of lignin from sugarcane bagasse and *Pinus taeda* wood chips using ethanol-water mixtures and a carbon dioxide at high pressures. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 36, n.1, p. 31-39, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2005.03.004>

PEREIRA, A. A.; MARTINS, G. F.; ANTUNES, P. A.; CONRADO, R.; PASQUINI, D.; JOB, A. E. Lignin from sugar cane bagasse: extraction, fabrication of nanostructured films, and application. **Langmuir**, v. 23, p. 6652-6659, 2007. <https://doi.org/10.1021/la063582s>

REYES, P.; MENDONÇA, R. T.; AGUAYOI, M. G.; RODRÍGUEZ, J.; VEGA, B.; PEDRO FARDIM, P. Extraction and characterization of hemicelluloses from *Pinus radiata* and its feasibility for bioethanol production. **Revista Árvore**, v. 37, n. 1, p. 175-180, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000100018>

RITTER, S. K. Lignocellulose: A complex biomaterial. **Chemical and Engineering News**. Washington, v.8, n.49, p. 10-15, 2008.

RIVALDI, J. D.; SARROUH, B. F.; FIORILO, R.; SILVA, S. S. Glicerol de biodiesel. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 37, p.44-51. 2007.

ROCHA, G. J. M.; SILVA, F. T.; CURVELO, A. A. S.; ARAUJO, G. T. A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC. In: Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignin and other wood components. **Anais**. Curitiba UFPR, 1997.

- 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, pp. 14342–52, 2013. <https://doi.org/10.1021/ie402177f>
- ROMANÍ, A.; RUIZ, H. A.; TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, L. Valorization of Eucalyptus wood by glycerol-organosolv pretreatment within the biorefinery concept: an integrated and intensified approach. **Renew. Energy**, v. 95, p. 1-9, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.106>
- SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v. 30, p. 271-291, 2003. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0049-x>
- SAMBUSITI, C.; LICARI, A.; SOLHY, A.; ABOULKAS, A.; CACCIAGUERRA, T.; BARAKAT, A. One-Pot dry chemo-mechanical deconstruction for bioethanol production from sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**. v. 181, p. 200-06, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.058>
- SANTOS, C. P.; REIS, I. N. M. Papel: Como Se Fabrica? **Química nova na Escola**, 2001.
- SANTOS, F. A.; QUEIROZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T. Potencial da palha da cana-de-açúcar para produção de etanol. **Revista Química Nova**, v. 35, p. 1004- 1010, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000500025>
- SANTOS, F. A. **Avaliação de pré- tratamento hidrotérmico de palha de cana- de- açúcar para produção de etanol de segunda geração**. 2013. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG.
- SANTOS, J. I.; MARTÍN-SAMPEDRO, R.; FILLAT, U.; OLIVA, J. M.; NEGRO, M. J.; BALLASTEROS, M.; EUGENIO, M. E.; IBARRA, D. Evaluating lignin-rich residues from biochemical ethanol production of wheat straw and olive tree pruning by FTIR and 2D-NMR. **Int. J. Polym. Science**, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/314891>
- SANTOS, R. V. **Pré-tratamento organossolve do bagaço da cana-de-açúcar com glicerina bruta para obtenção de açúcares fermentescíveis**. 2018. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG.
- SCHUCHARDT, U.; RIBEIRO, M. L. A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima? **Revista Química Nova**, v. 24, p. 247-251, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000200016>
- SCHULTZ, E. L.; DE SOUZA, D. T.; DAMASO, M. C. T. The glycerol biorefinery: a purpose for Brazilian biodiesel production. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1–9, 2014. <https://doi.org/10.1186/s40538-014-0007-z>
- SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN Jr., A. E.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**. v. 29, p. 786-94, 1959. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>

SILVA, G. M. **Avaliação de diferentes configurações de hidrólise enzimática e fermentação utilizando bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol 2G**. 2015. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP.

SILVA, L. N. C. **Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose**. 2010. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.

SILVA, P. **Fracionamento da biomassa lignocelulósica pelo processo organosolv**. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Química e Biológica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

SILVA, T. A. L. **Avaliação do pré-tratamento de explosão a vapor catalisado por ácido cítrico e hidróxido de sódio sobre a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar**. 2017. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis UFVJM/UFU, Uberlândia/MG.

SUN, F. F.; WANG, L.; HONG, J.; REN, J.; DU, F.; HU, J.; ZHANG, Z.; ZHOU, B. The impact of glycerol organosolv pretreatment on the chemistry and enzymatic hydrolyze ability of wheat straw. **Bioresour. Technol.**, 187, 354-361, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.051>

SUN, F. F.; CHEN, H. Organosolv pretreatment by crude glycerol from oleochemicals industry for enzymatic hydrolysis of wheat straw. **Bioresour Technol**, v. 99, p. 5474-5479, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.001>

TAPPI - Technical Association of The Pulp and Paper Industry. **TAPPI test methods T13m-54: "Acid-soluble lignin in wood and pulp"**. Atlanta: Tappi Technology Park, v. 1, 1999.

TAPPI - Technical Association of The Pulp and Paper Industry. **TAPPI test methods T264 om-88: "preparation of wood for chemical analysis"**. Atlanta: Tappi Technology Park, v. 1, 1996

TAPPI - Technical Association of The Pulp and Paper Industry. **TAPPI test methods T T211 om-02: "Ash in wood, pulp, paper and paperboard"**. Atlanta: Tappi Technology Park, v. 1, 2002

TAPPI - Technical Association of The Pulp and Paper Industry. **TAPPI test methods T204 cm-97: "Solvent extractives of wood and pulp"**. Atlanta: Tappi Technology Park, v.1, 2007.

THYGESEN, A.; ODDERSHEDE, J.; LILHOLT, H.; THOMSEN, A. B.; STAHL, K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibers. **Cellulose**. v. 12, p. 563-76, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10570-005-9001-8>

TRUGILHO, P. F.; LIMA, J. T.; MORI, F. A. Correlação canônica das características químicas e físicas de clones de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*. **Revista Cerne**, v. 9, n. 1, p. 66-80, 2003.

YANG, B.; DAI, Z.; DING, S.; WYMAN, C. Enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. **Biofuels**, v. 2, n. 4, p. 421–450, 2011. <https://doi.org/10.4155/bfs.11.116>

ZHANG, K.; PEI, Z.; WANG, D. Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and biochemicals: a review. **Bioresource Technol**, v. 199, p. 21-30, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.102>