

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE LIGNINA EM  
BIOMASSA DE *Citrus sinensis* L. Osbeck**

**Deyvid de Souza Porto\***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ORGÂNICA.

**Orientador(a): Profa. Dra. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva**

**\* Bolsista CNPQ**

**São Carlos - SP**

**2017**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química

---

Foiha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Deyvid de Souza Porto, realizada em 20/04/2017:

---

Profa. Dra. Maria Fatima das Graças Fernandes da Silva  
UFSCar

---

Prof. Dr. Lisias Pereira Novo  
EESC/USP

---

Prof. Dr. Caio Marcio Paranhos da Silva  
UFSCar

À Deus, por ser minha rocha inabalável e abrigo seguro, e aos meus pais pelo total apoio.

*“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.”*

*Eclesiastes 3:1*

## AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Química – DQ/UFSCAR, pela oportunidade;

À Profa. Dra. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva pela orientação e oportunidade de trabalhar no grupo de Produtos Naturais;

Aos professores do Laboratório de Produtos Naturais da UFSCar, Dr. João Batista Fernandes, Dr. Paulo Cezar Vieira e Dr. Moacir Rossi Forim pelas contribuições para a conclusão deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Antônio Aprígio da Silva Curvelo pelos experimentos desenvolvidos no Laboratório de Físico-química Orgânica do Instituto de Química de São Carlos – USP e também pelas discussões e contribuições;

Ao Prof. Dr. Caio Marcio Paranhos da Silva do Laboratório de Polímeros, DQ-UFSCar, pelos experimentos e contribuições;

À Dra. Eveline Soares Costa pelos ensinamentos, discussões, paciência e por abraçar as ideias do trabalho;

À Profa. Dra. Barbara Sayuri Bellete pelos ensinamentos e discussões que foram de grande valia;

Ao Dr. Bruno Perlatti pelas colaborações no trabalho com seu extenso conhecimento em produtos naturais e outras áreas;

Ao Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira pelas análises no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do DQ-UFSCar, junto aos técnicos Luciana e Paulo;

Ao Dr. Lísias Pereira Novo pelas contribuições para a finalização do trabalho;

Aos amigos da igreja, que foram meu suporte e me ajudaram grandemente em situações difíceis. E também aos colegas e amigos do Laboratório de Produtos Naturais pela companhia, discussões e amizade;

Aos meus Pais pelo imensurável apoio nas minhas decisões, sendo meu amparo em meio as adversidades;

Ao Conselho Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa concedida;

E a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho;

## LISTA DE TABELAS

TABELA 4.1 – Teor de umidade para as amostras de bagaço de laranja e caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira .....	33
TABELA 4.2 – Teor de cinzas para as amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira.....	33
TABELA 4.3 – Extrativos totais das amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira obtidos a partir da norma T264 cm-97.....	34
TABELA 4.4 – Extrativos das amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira obtidos a partir da norma T280 pm-99 adaptada.....	35
TABELA 4.5 – Teor de lignina nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	36
TABELA 4.6 – Teor de lignina em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97, em relação as massas brutas das amostras.....	38
TABELA 4.7 – Teor de lignina nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira em amostras livre de extrativos pela T280 pm-99.....	39
TABELA 4.8 - Teor de lignina em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99, em relação as massas brutas das amostras.....	40
TABELA 4.9 – Teor de holocelulose nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativo pela norma T 264 cm-97.....	41
TABELA 4.10 – Teor de holocelulose em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97 em relação a massa bruta das amostras.....	42

TABELA 4.11 – Teor de holocelulose em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativo pela norma T280 pm-99.....	42
TABELA 4.12 – Teor de holocelulose nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99 em relação a massa bruta das amostras.....	43
TABELA 4.13 – Balanço de massa para as amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira com extrativos pelas normas T264 cm-97 e T280 pm-99.....	43
TABELA 4.14 – Porcentagem e rendimento da lignina obtida pela polpação alcalina.....	45
TABELA 4.15 - Principais bandas de absorção no IV da lignina.....	48
TABELA 4.16 - Deslocamentos químicos de RMN comumente encontrados em madeiras.....	55
TABELA 4.17 - Composição elementar da lignina de caule, raíz central e raíz secundária de madeira da laranjeira, obtidas pela norma T264 cm-97.....	71
TABELA 4.18 - Composição elementar (C, H, O e N) da lignina de caule, raíz central e raíz secundária de madeira da laranjeira, obtidas pela norma T264 cm-97 com supressão do teor de enxofre.....	72
TABELA 4.19 - Ligninas de caule da madeira de laranjeira obtidos pela norma T280 pm-99 e pela polpação alcalina.....	72

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Perda e desperdícios de frutas no mundo. As cores representam as perdas no cultivo (roxo), pós-colheita (azul), processamento (vermelho), distribuição (verde) e no consumo (cinza).....	3
FIGURA 1.2 – Recursos gerados pela utilização de biomassa como matéria-prima.....	5
FIGURA 1.3 – Distribuição dos pomares de citros no estado de São Paulo. Os estados de São Paulo (vermelho) e Minas gerais (amarelo) e suas plantações de laranja (verde).....	6
FIGURA 1.4 - Precusores da lignina: álcool p-cumarílico (I), álcool coniferílico (II) e álcool sinapílico (III).....	10
FIGURA 1.5 – Tipos de ligações entre os monômeros de lignina. ....	111
FIGURA 1.6 – Representação da estrutura parcial de uma lignina segundo WATKINS et al. (2015).....	12
FIGURA 1.7 – Estruturas de xilanas encontradas em madeira do tipo <i>hardwood</i> e <i>softwood</i> .....	19
FIGURA 4.1 – Espectros de infravermelho para ligninas de caule, raíz central (RC) e secundária (RS) da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	46
FIGURA 4.2 – Espectro de infravermelho da lignina de caule da maneira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	47
FIGURA 4.3 – Espectros de IV das ligninas de caule (TCAC), raíz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99.....	49
FIGURA 4.4 – Espectro de IV da lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.....	50
FIGURA 4.5 – Espectro de infravermelho das ligninas de caule (CA), raíz central (RC) e secundária (RS) de madeira de laranjeira obtidas através da polpação alcalina.....	51

FIGURA 4.6 – Espectro de infravermelho da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida por polpação alcalina.....	51
FIGURA 4.7 – Teste de solubilidade da lignina de caule obtida por hidrólise ácida. Solventes utilizados, da esquerda para a direita: 1,4-dioxano, acetato de etila, metanol, tetrahidrofurano, acetona, clorofórmio, DMSO, diclorometano, dimetilformamida e piridina.....	53
FIGURA 4.8 - Porcentagem de lignina de caule, livre de extrativos pela norma T264 cm-97, solubilizada em solventes comumente utilizados para esta macromolécula.....	54
FIGURA 4.9 – Espectros de $^{13}\text{C}$ RMN das ligninas de caule (TCA), raíz central (TRC) e secundária (TRS) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	56
FIGURA 4.10 – Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	56
FIGURA 4.11 – Espectros de $^{13}\text{C}$ RMN das ligninas de caule (TCAC), raíz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.....	58
FIGURA 4.12 – Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.....	58
FIGURA 4.13 – Espectros de $^{13}\text{C}$ RMN das ligninas de caule (CA), raíz central (RC) e secundária (RS) da madeira de laranjeira, obtidas pela polpação alcalina.....	60
FIGURA 4.14 – Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida pela polpação alcalina.....	60
FIGURA 4.15 – $^1\text{H}$ RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida pela polpação alcalina.....	62
FIGURA 4.16 – Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN de ligninas de caules livre de extrativos pela norma T280 pm-99 (TCAC), livre de extrativos pela norma T264 cm-97 (TC) e obtida por polpação alcalina (LCAIc).....	63



FIGURA 4.17 – DSC do segundo aquecimento das ligninas de caule (TC), raíz central (TRC) e secundária (TRS) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	64
FIGURA 4.18 – DSC do primeiro aquecimento da lignina de raíz central da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	65
FIGURA 4.19 – DSC do segundo aquecimento das ligninas de caule (TCAC), raíz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.....	66
FIGURA 4.20 – DSC do primeiro aquecimento para a lignina de raíz central da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.....	67
FIGURA 4.21 – DSC da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida pela polpação alcalina.....	68
FIGURA 4.22 – DTG das ligninas de caule (TCA), raíz central (TRC) e secundária (TRS) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.....	69
FIGURA 4.23 – DTG das ligninas de caule (TCAC), raíz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) de madeira da laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.....	70
FIGURA 4.24 – Micrografias das ligninas de raíz central (RCa e RCb), raíz secundária (RSa e RSb) e caule (CAa e CAb) obtidas pela polpação alcalina, com aumentos de: 2000x (RCa, RSa e CAa) e 5000x (RCb, RSb e CAb) .....	74
FIGURA 4.25 – Micrografias das ligninas de raíz central (RC), raíz secundária (RS) e caule obtidas pela polpação alcalina, com aumento de: 5000x.....	75

## RESUMO

AValiação e Caracterização de Lignina em Biomassa de *Citrus sinensis* L. Osberck. A grande produção de resíduo de citrus tem promovido problemas em seu processamento e cultivo, levando a estocagem de biomassa e poluição do meio ambiente. Estima-se que 94 milhões de toneladas de citrus sejam produzidos mundialmente e que 15,6 milhões de resíduos sejam gerados ao ano, tendo o Brasil uma considerável participação, pois é líder na produção de fruto e de suco de laranja. A biomassa cítrica apresenta uma extensa diversidade química como pectina, d-limoneno, flavonoides e lignina, mostrando-se um interessante objeto de estudo na obtenção de químicos. A lignina, polímero estrutural presente na parede celular de vegetais, tem sido utilizada em resinas fenólicas, bioplásticos e em nanoencapsulamento, por exemplo. Pelo fato da lignina apresentar-se como uma valiosa matéria-prima renovável, pela grande quantidade de madeira de laranjeira estocada e à escassa literatura sobre a lignina em *Citrus sinensis* motivaram o presente estudo. O trabalho consistiu em extrair a lignina de caule, raiz central e raiz secundária de laranjeira e do bagaço de laranja utilizando a norma TAPPI, caracterizar a lignina a partir de infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), análise elementar e por análise térmica. Os teores de lignina encontrados para as amostras de laranjeira, livre de extrativos, foram de 19,80% no caule, 21,88% na raiz central, 19,39% na raiz secundária e 1,13% para o bagaço de laranja. A maior abundância de lignina na laranjeira foi encontrada na raiz central, porção responsável pela sustentação da estrutura do vegetal, juntamente a raiz secundária e ao caule. As ligninas das diferentes porções da madeira de laranjeira, livre de extrativo pela norma TAPPI T264 cm-97, apresentaram-se com baixa solubilidade em solventes orgânicos, devido sua compactação e enovelamento que foram observados através <sup>13</sup>C RMN no estado sólido, DSC e TGA. As análises de IV e RMN confirmaram as bandas características da lignina e ainda dos monômeros siringil (1326 e 1115 cm<sup>-1</sup>) e guaiacil (1220 cm-

1), encontrados em madeiras de Folhosas. Os teores de holocelulose encontrados para amostras de bagaço de laranja (70,10%), caule (77,82%), raíz central (78,86) e secundária (76,66%) de madeira de laranjeira, livre de extrativos, apresentaram valores dentro do esperado. As ligninas de caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira obtidas por polpação alcalina apresentaram-se solúveis em solvente orgânico e com sinais característicos de lignina em IV e RMN. O rendimento médio entre 20-24%, a solubilidade e as características encontradas nas análises por MEV para essas ligninas são interessantes na utilização das mesmas para o encapsulamento de substâncias e para compósitos termorrígidos.

## ABSTRACT

EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF LIGNIN FROM BIOMASS OF *Citrus sinensis* L. Osberck. The large production of citrus residue has promoted problems in its processing and cultivation, resulting in biomass storage and environment pollution. It is estimated that 94 million tons of citrus are produced worldwide and 15.6 million residues are generated per year. Brazil has an important participation, due to the country is a world leader in the production of fruit and orange juice. Citrus biomass presents an extensive chemical diversity such as pectin, d-limonene, flavonoids and lignin, being an interesting object of study. Structural polymer present in the plant cell wall, the lignin has been used in phenolic resins, bioplastics and nanoencapsulation, for example. The fact that lignin presents as a valuable renewable raw material for the Brazilian chemical industry, the large amount of stored orange wood and the scarce literature about lignin in *Citrus sinenses* motivated the present study. The study consisted in extracting lignin from stem, central root and secondary root from orange tree, using the TAPPI standard method, characterize lignin by Infrared (IR), Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Elemental Analysis and Termical Analysis. The lignin contents for extractive-free orange samples were 19.80 % in the stem, 21.74% in the central root, 19.39% in the secondary root and 1,13% in the orange bagasse. The greatest amount of lignin in the orange tree was found in central root, responsible for the support of the structure of the plant, following the secondary root and the stem. The lignins from the different portions of the orange tree wood extraction by TAPPI T264 cm-97, presented low solubility in organic solvents, due to their compaction and folding that was confirmed by  $^{13}\text{C}$ NMR in solid state, DSC and TGA. The IR and NMR confirmed the characteristic lignin bands and the siryngil ( $1326$  and  $1115\text{ cm}^{-1}$ ) and guiacyl ( $1220\text{ cm}^{-1}$ ) monomers, which are found in hardwood type. Holocellulose contents found for samples of Orange bagasse (70.10%), stem (77.82%), central root (78.86) and secondary root (76.66%) extractive-free

presented the expected content. The lignins from stem, central and secondary roots of orange tree wood obtained by alkaline pulping were soluble in organic solvent, as well as characteristic lignin signals for IV and NMR. The average yield between 20-24%, the solubility and the characteristics found in the MEV analysis of lignins obtained by alkaline pulping, are of interest for application these polymer in the encapsulation of substances and in Thermosets Composite.

## SUMÁRIO

<b>1 - INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 - Biomassa .....	1
1.2 - Biorrefinaria .....	4
1.3 - Brasil e contexto .....	5
1.4 - Laranja .....	7
1.5 - Ligninas.....	8
1.6 - Métodos de quantificação de lignina.....	12
1.7 - Processos de obtenção de lignina.....	13
1.8 - Métodos de caracterização de lignina.....	16
1.9 - Caracterização da biomassa.....	16
1.9.1- Extrativos.....	16
1.9.2 - Celulose e polioses.....	17
<b>2 - OBJETIVOS</b> .....	21
2.1 - Objetivo específico .....	21
<b>3 - METODOLOGIA</b> .....	22
3.1 - Equipamentos .....	22
3.2 - Matéria-prima.....	23
3.3 - Caracterização das amostras de bagaço da laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira .....	23
3.3.1 - Teor de umidade.....	23
3.3.2 - Teor de extrativos.....	23
3.3.2.1 - Extrativos totais via TAPPI T264.....	23
3.3.2.2 - Extrativos em acetona via TAPPI T280 .....	24
3.3.4 - Granulometria .....	25
3.4 - Determinação do teor de lignina no bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira .....	25
3.5 - Determinação do teor de carboidratos e derivados .....	26
3.5.1 - Teor de holocelulose .....	26

3.6 - Extração da lignina.....	27
3.6.1 - Polpação alcalina.....	27
3.7 - Métodos de caracterização de ligninas .....	28
3.7.1 - Espectroscopia na região do Infravermelho.....	28
3.7.2 - Espectroscopia de RMN.....	29
3.7.3 - Análise Térmica .....	30
3.7.3.1 - Análise Termogravimétrica .....	30
3.7.3.2 - Calorimetria Diferencial de Varredura .....	31
3.7.4 - Análise Elementar .....	31
3.8 - Análise por MEV .....	31
<b>4 - RESULTADOS e DISCUSSÕES.....</b>	<b>33</b>
4.1 - Caracterização das amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira .....	33
4.2 - Determinação da quantidade de lignina nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira.....	36
4.3 - Determinação do teor de carboidratos e derivados .....	40
4.3.1 - Teor de holocelulose.....	40
4.4 - Extração da lignina.....	44
4.5 - Métodos de Caracterização .....	46
4.5.1 - Espectroscopia na região do Infravermelho.....	46
4.5.2 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear .....	52
4.5.3 - Análise térmica.....	63
4.5.3.1 - Calorimetria Diferencial de Varredura .....	63
4.5.3.2 - Termogravimetria .....	68
4.5.4 - Análise Elementar .....	71
4.5.5 - Microscopia Eletrônica de Varredura.....	73
<b>5 - CONCLUSÃO .....</b>	<b>76</b>
<b>6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>78</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>86</b>

## **1 - INTRODUÇÃO**

A sociedade tem sofrido diversas mudanças provocadas pelos muitos avanços tecnológicos no setor industrial, na saúde e na ciência em geral, levando a uma nova dinâmica no consumo de combustíveis e de produtos industrializados. O sistema alimentício tem se destacado, pois o desenvolvimento de novos produtos, a maior conservação, o sistema criado para a mortalidade de pragas e resistência das plantações tem colocado a geração de alimentos como um dos grandes avanços das últimas décadas. Porém esta intensiva produção industrial de alimentos tem também modificado o meio ambiente, alterando o ecossistema pela larga escala de geração de resíduos e de substâncias poluentes do ar.

O impacto ambiental promovido pelos processos industriais sobre a sociedade, como na utilização de substâncias químicas orgânicas derivadas do petróleo, levaram a busca por novas matrizes que promovessem menor agressão à natureza. O petróleo, por exemplo, além de ser responsável pela maior carga poluente do planeta é um recurso finito e tem grandes perdas em suas reservas a cada ano. A problemática do seu uso ainda percorre desastres ambientais, acidentes operacionais e ainda guerras de interesses entre nações e diferentes governos (AVTAR et al., 2016). Além das energias não-renováveis, a utilização de imensa quantidade de pesticidas sintéticos com toxicidade elevada e o desperdício de alimentos sem sua reutilização ou aproveitamento correto do seu poder energético, agravam ainda mais os impactos ambientais.

### **1.1 - Biomassa**

Saindo do intenso uso da industriais química do petróleo do século XX, o novo século tem buscado novos processos indústrias de produção de energia e de compostos químicos orgânicos, agora baseado na utilização de



biomassa como fonte energética disponível, possibilitando a produção em larga escala e com o decréscimo na poluição ambiental (CLARK, 2006).

Segundo Pfaltzgraff e colaboradores (2013), a biomassa representa o material orgânico de organismos vivos e derivados de plantas, que em sua maioria está ligado aos resíduos produzidos no abastecimento da cadeia alimentar. Sua geração perpassa pelo cultivo, processamento, distribuição e venda dos alimentos através de perdas e desperdícios nos diferentes setores do seu caminho ao consumo final.

De acordo com a Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas (FAO, 2011) cerca de um terço da produção global de alimentos para consumo humano ainda é desperdiçado anualmente. O valor da perda é de aproximadamente 1,3 bilhões de toneladas de alimento e promove imensos déficits no acesso aos alimentos, na economia de países desenvolvidos (US\$ 680 bilhões) e em desenvolvimento (US\$ 310 bilhões). A produção mundial de alimento não tem acompanhado o aumento da densidade demográfica das últimas décadas. Além da falta de alimento para o abastecimento da população, esta grande quantidade de biomassa gerada ainda tem sido pouco aproveitada (FAO, 2011).

A perda e desperdício de alimentos de diversas cultivares que ocorrem ao ano são de grande ordem em todos os tipos de produtos. Essas perdas são de 30% para cereais, 45% para raízes e tubérculos, 20% para oleaginosas, carnes e laticínios, 35% para peixes e 45% para frutas e vegetais (FAO,2011).

A perda de frutas e vegetais representa a maior porcentagem em alimentos não utilizados, bem como a perda de raízes e tubérculos. A maior porcentagem das perdas está ligada a colheita, processamento e ao próprio desperdício pelo consumidor (FIGURA 1.1). Na América Latina, por exemplo, é possível verificar que a produção tem grande responsabilidade na geração do resíduo, visto que a partir do cultivo e do pós-cultivo (roxo e azul,

respectivamente) são de 28 %, enquanto para o processamento é de 15% e o consumo representa 5% do percentual de perda total.

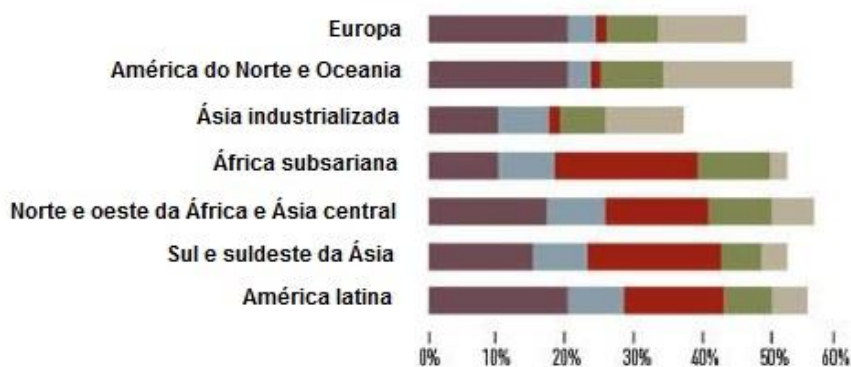


FIGURA 1.1 - Perda e desperdícios de frutas no mundo. As cores representam as perdas no cultivo (roxo), pós-colheita (azul), processamento (vermelho), distribuição (verde) e no consumo (cinza). Adaptado de FAO, 2016.

Reutilizar e valorizar os recursos disponíveis de biomassa são abordagens que tem ganhado crescente atenção dos governos e indústrias na atualidade. Nesse contexto, a utilização de resíduos da produção e consumo de alimentos surgiu como uma fonte interessante na obtenção de substâncias químicas (LIN et al., 2013).

A biomassa representa um conteúdo de grande diversidade química e é capaz de gerar produtos como combustíveis, biomateriais, bioquímicos e energia. Os recursos da biomassa contém um valioso conjunto de moléculas funcionalizadas tais como celulose, polifenólicos, ácidos graxos e aminoácidos. A bioconversão dessas substâncias podem gerar nanocompósitos, surfactantes, solventes e antioxidantes por exemplo, importantes na funcionalização da cadeia industrial (MAHRO e TIMM, 2007; PFALTZGRAFF, 2013)

Devido ao volume em escala global bastante abundante na produção e no descarte, e ainda uma vasta diversidade de componentes químicos funcionais, a biomassa tem um significativo potencial para ser empregado como matéria-prima, possibilitando a geração de valor agregado nesse material e a diminuição dos impactos ambientais promovido pela queima, o armazenamento em locais como campo ou lixões, o descarte em rios, lagoas e outros

reservatórios de despejo (LIN et al., 2013; AVTAR et al., 2016; PFALTZGRAFF, 2013).

## **1.2 - Biorrefinaria**

No panorama do século XXI, além da busca de novas matrizes, uma preocupação gerada é a utilização de sistemas mais sustentáveis e mais limpos, corroborando com o conceito de “Química Verde”. Esta tem como objetivo uma abordagem menos agressiva ao meio ambiente, trabalhando com matérias-primas renováveis e solventes menos perigosos, atuando com o conceito de economia de átomos e de energia, levando a diminuição de etapas de síntese, de processos dispendiosos em energia, de resíduos e de substâncias tóxicas. E sobre esse conceito é possível englobar a biomassa como matéria-prima renovável, pois não requer a incorporação de heteroátomos, como ocorre com o petróleo devido a presença de substâncias heterogênicas (PERLATTI et al., 2014; AVTAR et al., 2016).

A utilização da biomassa tem sido importante na obtenção de metabólitos secundários que apresentam funcionalidades significativas como pesticidas e fármacos. Além disso, a conversão de metabólitos primários podem ser utilizadas na indústria de alimentos, em materiais poliméricos, transformando e agregando valor ao que era considerado resíduo industrial ou de cultivo das plantações (PFALTZGRAFF et al., 2013).

O emprego de recursos advindos de biomassa tem sido crescente, sendo visualizados na produção de biocombustíveis (ex. biodiesel), no uso como fonte energética, bem como fonte de sílica e ainda como ração animal. Além disso, os resíduos das indústrias alimentícias podem ser fontes de outras substâncias interessantes. Como exemplo, as frações lignocelulósicas da indústria de papel podem levar a produção de etanol e a geração de glicerol como co-produto na recuperação de óleos de alimentos para o uso como biodiesel (CLARK, 2006).

Englobando esses avanços, a bioeconomia tem surgido baseada nas práticas da química verde, onde um sistema industrial visando a utilização máxima de biomassa é empregado, chamado de biorrefinarias. Esse sistema trata o resíduo como um recurso com substâncias ricas e heterogênicas, agrega valor econômico e promove a redução do impacto ambiental gerado pelo descarte ao meio ambiente ou pela combustão.

Segundo Cherubini (2010), o conceito de biorrefinarias compreende a utilização de tecnologias capazes de converter a biomassa (carboidratos, triglicerídeos, proteínas e outras macromoléculas) em produtos de valor agregado, como biocombustíveis e diferentes compostos químicos. O conceito de biorrefinarias ainda contempla a produção de energia e aborda toda a produção em um sistema articulado ao sistema agroindustrial de diversas cultivares. A FIGURA 1.2 exemplifica os recursos advindos da biomassa.

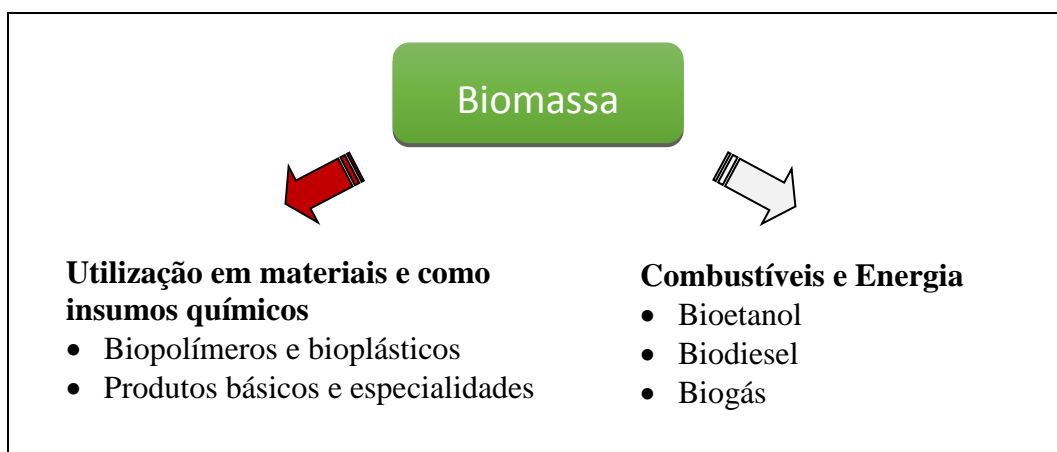


FIGURA 1.2 - Recursos gerados pela utilização de biomassa como matéria-prima. Adaptado de KAMM e KAMM, 2007.

### 1.3 – Brasil e contexto

O Brasil tem se posicionado entre os principais países na produção de alimentos (USDA, 2015) e conseqüentemente é gerador de grande quantidade de biomassa, principalmente advindo do sistema agrícola. O sistema agrícola brasileiro apresenta-se com grande importância na dinâmica alimentar mundial e

tem se destacado como maior produtor de açúcar, café, soja, carne de aves e com produções consideráveis de diversos grãos (BRASIL, 2015).

O país também é responsável pela maior produção de suco de laranja que gira em torno de 65% da produção mundial (BRASIL, 2015b; USDA, 2017), liderando a produção de laranja (aproximadamente 19 milhões de toneladas de frutos em 2016/2017) e como o segundo maior produtor de citrus, apenas atrás da China (USDA, 2017). O maior cinturão citrícola brasileiro está localizado no estado de São Paulo, concentrado na região noroeste (como pode ser observado na FIGURA 1.3), sendo responsável por cerca de 72% da produção de laranja do país (IBGE, 2013).

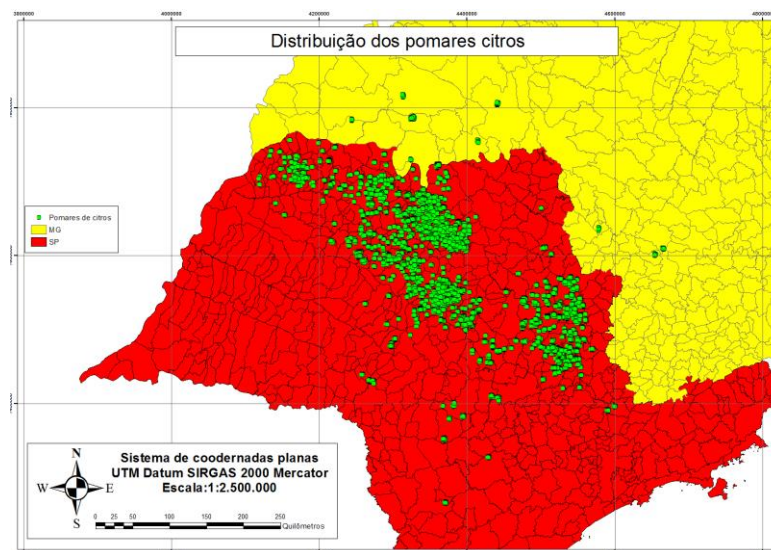


FIGURA 1.3 – Distribuição dos pomares de citros no estado de São Paulo: o território (vermelho) e as plantações de laranja (verde). Adaptado de ANDRADE e SANTOS, 2007.

A crise do café no final da década de 20, as condições edafoclimáticas (como solo e clima), bem como o apoio governamental, favoreceram o amplo cultivo da laranja no estado de São Paulo. O clima foi um dos fatores essenciais, pois o estado apresenta média de precipitação hídrica de 1400 mm/ano (o mínimo para laranja é de 1300 mm) e com o crescimento da plantação diversos sistemas de irrigação foram implantados, melhorando o cultivo (FERNANDES, 2010; ALVES E MELO, 2017). A região centro-norte (chamada de tradicional) foi pioneira na produção de laranja, que se estendeu à

região sul (conhecida como região nova) como a expansão citrícola no Brasil (VICENTE et al., 2009).

A produção de citrus no mundo ultrapassa a quantidade de 94 milhões de toneladas e é estimado que 15,6 milhões de toneladas de resíduos são gerados por ano (LIN et al., 2013). O Brasil também é gerador de grande quantidade de resíduo advindos do cultivo e produtos da laranja. Se a relação da produção de resíduo/ frutos for estimada para o Brasil, é possível encontrar o valor mínimo de 2,65 toneladas ao ano, tendo em vista que esse valor pode ainda ser maior.

## 1.4 - Laranja

A laranjeira, cujo nome científico é *Citrus sinenses*, pertence à família Rutaceae e faz parte do gênero *Citrus*, incluindo as tangerinas, uvas, limões e limas, com muitas espécies derivadas de hibridizações (KHAN, 2007). A origem do gênero está relacionada às regiões tropicais do sul, subtropicais e do sudeste da Ásia e ainda áreas da África e Austrália. A distribuição da laranja na Europa ocorreu na época das Cruzadas e após anos, no século XVI, foram levadas ao Brasil através dos portugueses (IAC, 2005; RAUF et al., 2014).

A *Citrus sinenses* é a espécie mais cultivada e comercializada entre as espécies do seu gênero, sendo amplamente consumida no mundo. A grande produção de laranja tem promovido a oferta do fruto e também do suco, principal produto do processamento de laranja (RAUF et al., 2014).

Segundo Braddock (1990, apud ZANELLA, 2013, p. 5) a laranja apresenta em sua composição açúcares solúveis (glicose, frutose, sacarose, xilose e ramnose), fibras (pectina, hemicelulose, celulose e lignina), aminoácidos e proteínas, ácidos orgânicos (ascórbico, cítrico, málico, oxálico), flavonoides, minerais (potássio, fósforo, cálcio e magnésio), óleos (terpenos) e lipídeos (ácidos linoleico e linolênico). A diversidade química tem revelado a laranja como promissora para o isolamento de moléculas funcionais.

O processamento da laranja gera cerca de 40 a 60% de resíduo do fruto em sua forma integral (LICANDRO e ODIO, 2002). Um dos principais problemas que as indústrias citrícolas enfrentam é em como descartar a grande quantidade de resíduos sólidos e líquidos produzidos. O resíduo sólido é chamado de bagaço e é composto pelas cascas, sementes e polpas. O resíduo líquido, também chamado de água amarela, é derivado do processo de extração do suco e posterior compressão, constituído por óleos essenciais, açúcares, pectina, proteínas e sais minerais (OLIVEIRA, 2016; ZANELLA, 2013).

O alto índice de matéria orgânica dos resíduos do processamento de laranja é de grande preocupação, pois são poluidores da água, sendo problemas para a indústria. Parte dessa biomassa é utilizada para produção de ração animal (sólidos) e de óleo essencial (líquidos), porém uma grande parte ainda configura-se como resíduo (ZANELLA, 2013).

Outro tipo de resíduo derivado da laranja é gerado a partir do cultivo do fruto, envolvendo a dinâmica de plantação e aumento de produtividade. O manejo das plantações é decorrente da necessidade de melhorias na produção do fruto, renova a própria plantação e visa o aumento de produção. Quando o manejo ocorre, dezenas de hectares de árvores são derrubadas e essa área é tratada para a revitalização do solo. As árvores cortadas são levadas a incineração para a produção de energia elétrica, que abastece o sistema empregado no cultivo e/ou processamento. Porém a quantidade de árvores ultrapassa ao que é necessário para queima e essas são destinadas a uma área de estocagem, sendo também um grande problema.

Assim, desenvolver estratégias para o uso da biomassa de laranja como subprodutos é de grande interesse. Estes tem mostrado de grande valor comercial, com destaque para a produção de pellets, de d-limoneno, da pectina comercial, a aplicação como material adsorvente e na produção de papel, sendo ainda possível a obtenção de lignina (VERVERIS et al., 2007; ARAMI et al., 2005; AVTAR et al., 2016; ZANELLA, 2013).

## 1.5 - Ligninas

A lignina (do latim *lignum*, que significa madeira) é uma macromolécula não-carboidrato, de natureza aromática, presente como um dos principais constituintes da madeira. Este, presente na parede celular vegetal, junto a celulose e hemiceluloses, tem importante papel no transporte de nutrientes e água dentro dos vasos condutores, pela proteção mecânica e contra o ataque de microrganismos nos tecidos (SALIBA et al., 2001).

Macromolécula aromática mais abundante e a segunda mais abundante (atrás apenas da celulose), a lignina está presente em grande quantidade no meio ambiente (LEISOLA et al., 2012). Apesar de ser amplamente estudada por muitos anos, a caracterização total da sua estrutura amorfa ainda é uma dúvida. Segundo MORAIS (1992), a diversidade de estruturas da lignina entre diferentes espécies vegetais e até mesmo dentro da mesma espécie (em partes diferentes do vegetal), são contribuintes na indeterminação estrutural. Além disso a constituição da lignina de uma espécie de árvore pode ser diferente quando comparamos ambientes diferentes, devido as condições de solo e clima, por exemplo. A complexidade de formação de sua estrutura, através de unidades fenilpropanóides (lignóis) interligadas por diferentes tipos de ligações e as modificações estruturais que ocorrem a partir do seu isolamento, tem sido um dos principais entraves em sua elucidação estrutural (SALIBA et al., 2001).

A lignina é constituída por unidades aromáticas de fenilpropanóides (C6-C3), podendo ser formada pelo acoplamento oxidativo de três diferentes álcoois: coniferílico (unidade guaiacila), sinapílico (unidade siringila) e cumarílico (unidade p-hidroxifenila). As estruturas estão apresentadas na FIGURA 1.4.



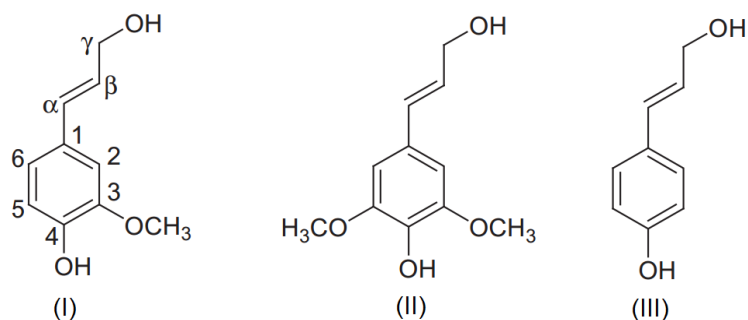


FIGURA 1.4 – Precursores da lignina: álcool coniferílico (I), álcool sinapílico (II) e álcool p-cumarílico (III). Adaptado de PU et al., 2013.

Os monômeros p-hidroxifenila (H), siringila (S) e guaiacila (G) são diferenciados pelo grau de metoxilação nos carbonos C<sub>3</sub> e C<sub>5</sub> e estão presentes ou não em proporções diferentes em diferentes espécies. As madeiras de Conífera, também conhecidas como *softwood*, são mais homogêneas e apresentam quase que somente unidades guaiacilas (tipo G). As madeiras de Folhosas, conhecidas como *hardwood*, são constituídas por quantidades aproximadamente equivalentes de unidades guaiacila e siringila, com uma pequena porcentagem de unidades p-hidroxifenila (tipo GS). Em madeiras de Gramíneas é encontrado maior quantidade de unidades p-hidroxifenila comparado as Coníferas e Folhosas, porém sua constituição é estabelecida pelos três monômeros (tipo GSH) (ALVES, 2011; MARABEZI, 2009).

Segundo Novaes e colaboradores (2010), a lignina de madeiras do tipo *softwood* equivale de 15-40% da madeira, enquanto a lignina de *hardwood* apresenta-se com o valor médio de 20% da madeira, embora algumas espécies desse grupo tenham apresentado 40% de lignina.

O acoplamento oxidativo entre as unidades monoméricas da lignina pode levar a formação de diferentes ligações, como as do tipo  $\beta$ -O-4,  $\alpha$ -O-4 (fenílicas-propanóides),  $\beta$ -5, piroresinol (propanóides-propanóides) e 5-5 (fenílicas-fenílicas) (FIGURA 1.5). Essas ligações e outras são responsáveis pela complexidade estrutural da lignina, podendo caracterizar a diferença de solubilidade e rigidez da estrutura (RUGGIERO et al., 2006; PU et al., 2013).

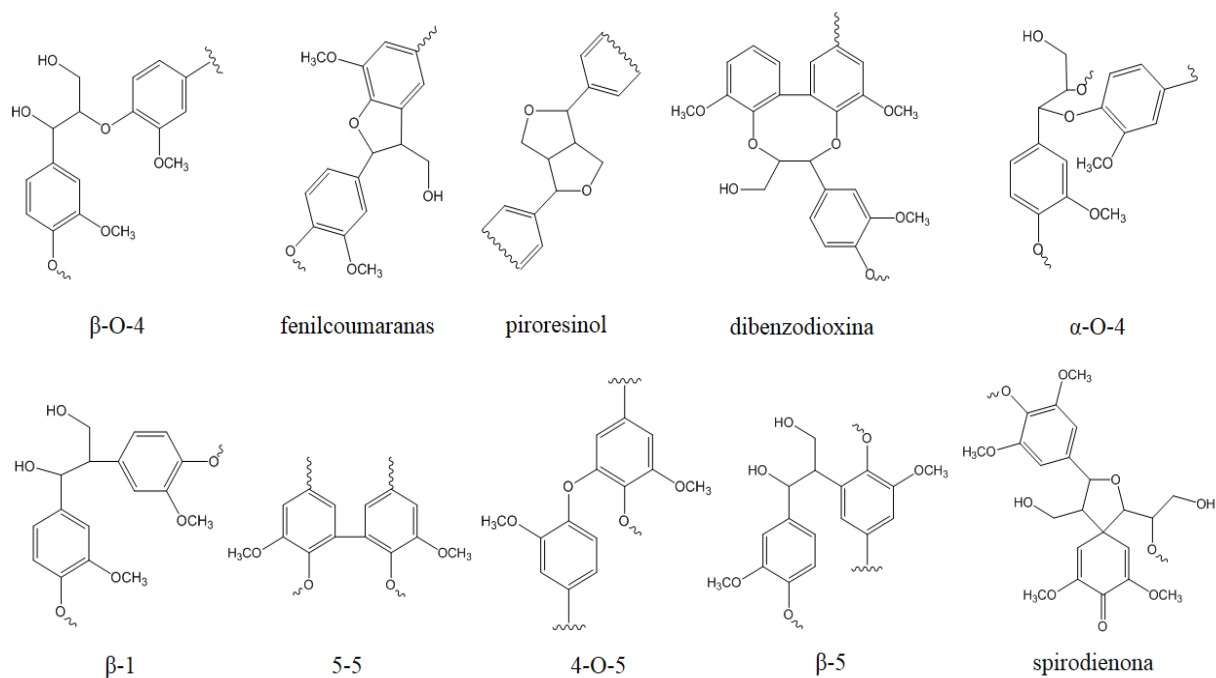


FIGURA 1.5 – Tipos de ligações entre os monômeros de lignina. Adaptado de PU et al., 2013.

A grande parte das ligações entre os monômeros da lignina está relacionada com a formação de ligações do tipo éter, como as ligações  $\beta$ -O-4 e  $\alpha$ -O-4, apresentando ainda ligações entre átomos de carbono. A dinâmica dos diferentes grupos funcionais encontrados na lignina rege o comportamento químico da mesma. Em sua estrutura é possível encontrar a presença de grupos éteres (alifáticos e aromáticos), álcoois alifáticos e benzílicos, fenóis e ainda grupos carbonílicos como aldeídos, cetonas e ésteres (MARABEZI, 2009). A representação estrutural parcial da lignina pode ser observada na FIGURA 1.6.

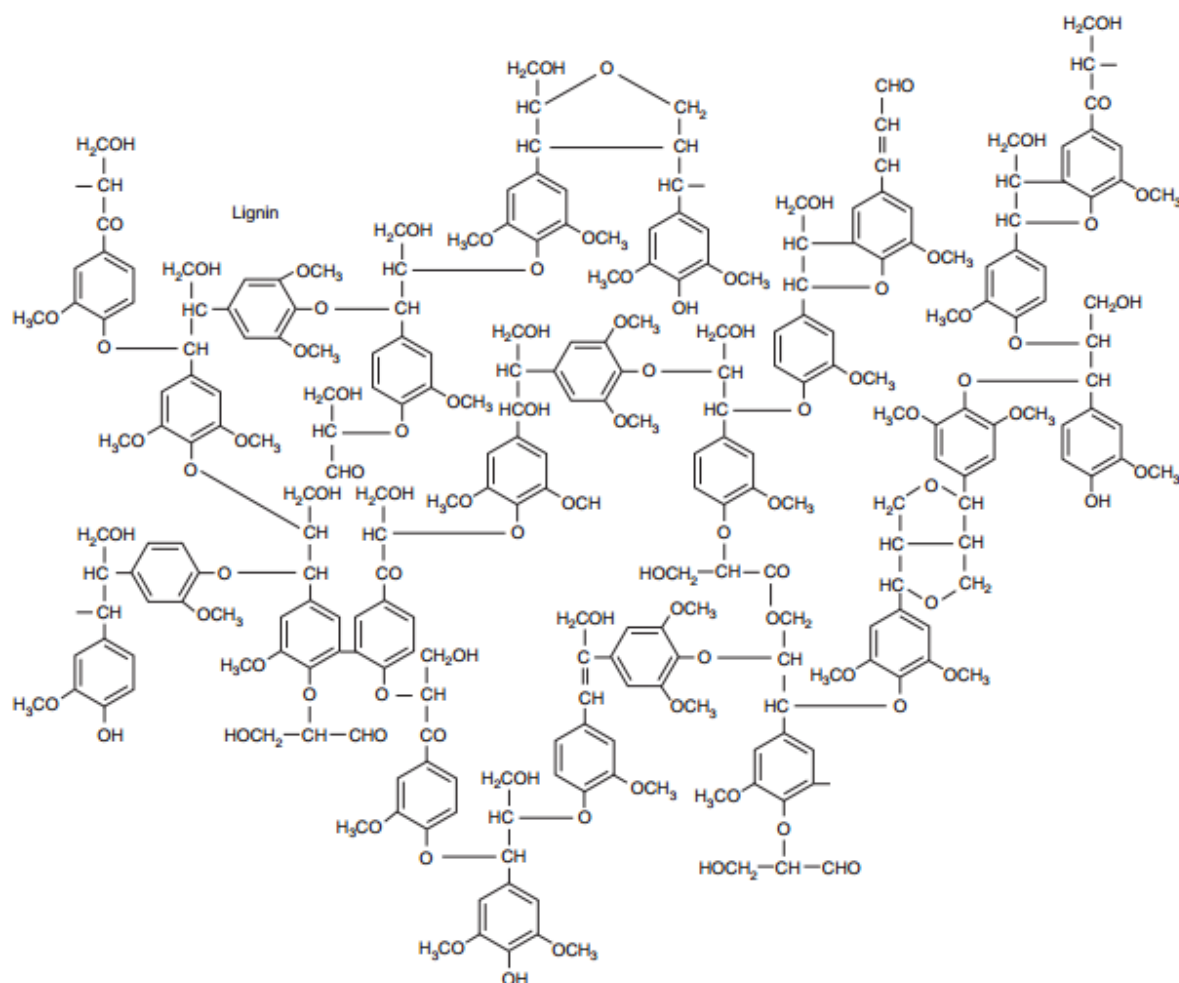


FIGURA 1.6 – Representação da estrutura parcial de uma lignina de folhosas (*hardwood*) segundo WATKINS et al. (2015).

Apesar das características estruturais da lignina e a presença de diversos grupos funcionais, sua utilização principal ainda é como fonte de energia, através da queima desta. A principal fonte de lignina isolada está relacionada a indústria de papel, onde a chamada “lignina industrial” é obtida como co-produto na produção de polpa celulósica para posterior fabricação de papel. Estima-se que a produção de lignina no mundo, derivada deste processo, seja de 70 milhões de toneladas por ano e que apenas 2% dessa quantidade seja efetivamente utilizada como produto. O restante é queimado para a produção de energia e recuperação do material inorgânico (BELGACEM e GANDINI, 2008).

A produção de lignina atualmente está ligada a três principais processos de polpação, nomeados Kraft, Sulfito e Soda. Grande parte da lignina industrial é obtida através do processo Kraft e do processo Sulfito, no qual a lignina sofre modificações durante seu processamento dando origem a produto chamado lignossulfonatos. Apesar da queima de grande parte da produção, a utilização dos lignossulfonatos tem encontrado novos campos de aplicação, baseados principalmente nas propriedades adesivas e dispersante da lignina. A utilização dos diferentes tipos de lignina comerciais tem envolvido o uso como dispersante em concretos, agroquímicos, corantes, pigmentos, produtos cerâmicos e ainda como emulsificante em óleos e látex, aglutinante para *pellets*, em resinas fenólicas, como antioxidante, na produção de vanilina, entre outros (SANTOS e CURVELO, 1999; FAUSTINO et al., 2010; BELGACEM e GANDINI, 2008; CLARK, 2006).

## **1.6 - Métodos de quantificação de lignina**

A determinação da lignina pode ser realizada através de diferentes tipos de análises. Essas análises podem ser diretamente relacionadas a quantificação, no caso de obter a lignina sólida, ou indiretamente, sendo quantificada por exclusão quando analisados os outros componentes da madeira, como carboidratos e minerais, ou ainda pela lignina solúvel (COSTA, 2014).

O principal método de quantificação direta de lignina é de hidrólise ácida, capaz de promover a solubilização total ou parcial dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose, em conjunto são conhecidas como holocelulose), obtendo a lignina como um resíduo insolúvel que é quantificado por gravimetria. A hidrólise dos polissacarídeos é realizada com um ácido forte, principalmente com ácido sulfúrico 72%, chamado de processo Klason, ou ainda com ácido clorídrico (GONÇALVES, 2011).

O método Klason envolve duas etapas, onde o primeiro o material vegetal fica em contato com o ácido a 72% e uma segunda etapa onde ocorre

uma diluição do ácido para 3% e a solução é levada ao aquecimento. O método Klason está presente na norma TAPPI (Technical Association of Pulp and Paper Industry), que tem sido utilizada mundialmente como norma oficial na determinação quantitativa de lignina em material vegetal. O método Klason também é utilizado em outras normas como ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) NBR 7989, Documentos 236 da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e a NREL/TP-510-42618 (National Renewable Energy Laboratory).

Entre os métodos de quantificação indireta pode-se citar a análise por espectroscopia na região do UV, pois a estrutura da lignina apresenta absorções máximas de energia em 205 e 280 nm, sendo assim possível encontrar sua concentração. Este método é utilizado junto a análise da lignina insolúvel, afim de encontrar o valor integral da concentração desta no material analisado. Outro método também indireto é através da análise de polissacarídeos, onde agentes oxidantes (clorito de sódio na presença de ácido acético, por exemplo) são capazes de promover a degradação da lignina e manter os polissacarídeos como resíduos (BELGACEM e GANDINI, 2008; MARABEZI, 2009).

## **1.7 - Processos de obtenção da lignina**

A lignina está presente na parede celular em um emaranhado de estruturas, principalmente com a celulose e a hemicelulose, podendo ainda estar junto a pectina e proteínas. A biomassa lignocelulósica também apresenta materiais não-estruturais solúveis em água ou solventes orgânicos, como os açúcares de pequena cadeia, material nitrogenado, clorofila e graxa, além do chamado teor de cinzas que refere-se aos minerais. Estes são chamados de extrativos, pois são obtidos a partir de extrações com diferentes solventes (ALVES, 2011).

Na obtenção da lignina tem-se a necessidade de retirar possíveis contaminantes, como todos os outros polímeros, macromoléculas e compostos

presentes na biomassa, de modo que esta seja obtida com grande pureza. Por isso, o tratamento da amostra é necessário inicialmente, para a retirada de extrativos e de outras moléculas.

O emprego de diferentes métodos são feitos no isolamento de lignina, envolvendo bases, ácidos, solventes orgânicos e até mesmo enzimas. Como já citados, destacam-se os métodos utilizando sulfito, método Soda (com hidróxido de sódio) e o método Kraft.

O método Kraft é intensamente utilizado pela indústria de papel, de onde uma grande parte da lignina é obtida, e emprega o uso de hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na<sub>2</sub>S) na temperatura de 170°C. O processo de digestão promove diversas reações, as ligações entre a lignina e carboidratos são rompidas e a própria despolimerização da lignina ocorre. Apesar da efetividade do processo Kraft para a obtenção de polpa de celulose e até mesmo extração de lignina (até 95%), a geração de poluentes a partir do seu uso vem sendo questionado por órgãos governamentais e por entidades ambientalistas (COSTA, 2014). A empresa Suzano Papel e Celulose S.A, tem empregado o método Kraft para a obtenção de lignina, com destaque a primeira planta-piloto de extração de lignina da América do Sul, em Limeira – SP.

A polpação pelo método sulfito emprega o uso de solução aquosa de sulfito (MSO<sub>3</sub>, M = grupo ou metal) ou sal de bissulfito (MH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) de sódio, amônio, magnésio ou cálcio, na temperatura de digestão de 140-179 °C. Na obtenção da lignina, como lignossulfonatos, os carboidratos são separados e é possível ainda obter etanol por fermentação e vanilina até o fim do processo. Da mesma forma que o método Kraft, a utilização do sulfito é um problema para o meio ambiente, visto que os resíduos gerados com enxofre são grandes poluidores (BELGACEM e GANDINI, 2008).

O método Soda, conhecido como polpação alcalina, utiliza uma solução de hidróxido de sódio com a temperatura de 160°C ou menor. Durante a polpação as ligações lignina-carboidratos são rompidas, ocorrendo também a

despolimerização de porções das ligninas. Esta ocorre principalmente pela quebra das ligações  $\alpha$  e  $\beta$  aril éter ( $\beta$ -O-4 e  $\alpha$ -O-4, por exemplo), primeiramente nas unidades fenólicas. A redução parcial do pH, usualmente com ácido mineral, e o uso de solvente como etanol é capaz de separar a lignina dos carboidratos. Uma segunda redução de pH promove a precipitação da mesma (OLIVEIRA, 2015; BELGACEM e GANDINI, 2008).

Processos chamados Organosolve, utilizam solventes orgânicos (que são passíveis de recuperação) para a deslignificação do material vegetal, podendo ser empregado o uso de uma solução ácida ou básica como auxílio na hidrólise. Entre os mais comuns estão o processo Alcell, que utiliza uma mistura etanol/água, e o processo Organocel que utiliza de uma solução hidro-alcóolica seguido pela adição de solução de hidróxido de sódio e antraquinona. Os processos Organosolv, utilizando somente solvente orgânico, se mostram muito eficientes no pré-tratamento que antecede à hidrólise, sendo utilizado na obtenção dos extrativos (HERNÁNDEZ, 2007).

A utilização de processos ácidos recebe destaque no isolamento de lignina. O método Klason, anteriormente citado, utiliza ácido sulfúrico e tem envolvido diversos estudos de seu uso em madeiras (ALVES, 2011; GURGEL, 2010; MARABEZI, 2014; OLIVEIRA, 2015). Este processo promove a hidrólise da celulose e polioses presentes na madeira, mantendo insolúvel a macromolécula da lignina. Outro método é o chamado Pepper, ou lignina dioxano, sendo obtida a partir do material vegetal com uma solução de dioxano e ácido clorídrico aquoso (MARABEZI, 2009).

O emprego de processo enzimáticos também tem sido utilizados. A lignina liberada é obtida através de enzimas (como as celulasas) que atacam somente os polissacarídeos, tornando a lignina acessível e possível de ser adquirida por filtração (SALIBA, 2001).

O emprego dos diferentes métodos possíveis para a lignina promovem a mudança estrutural do polímero nativo. A despolimerização muitas

vezes pode ser seguida de uma recondensação de suas porções ou até mesmo de carboidratos. As ligninas obtidas a partir de processos com reagentes contendo enxofre possuem esses grupos como substituintes em algumas porções, o que ocorre durante a digestão ou polpação (OLIVEIRA, 2015).

## **1.8 - Métodos de caracterização de lignina**

A caracterização de lignina podem ser realizado por métodos químicos ou físicos. A determinação dos grupos funcionais e dos monômeros são frequentemente realizadas a partir da espectroscopia na região do Infravermelho, por Ressonância Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$  RMN e  $^{13}\text{C}$  RMN), Espectrometria de Massas aliada a Cromatografia Gasosa, métodos de derivatização dos grupos funcionais com posterior análise no RMN, também por Espectroscopia na região do Ultravioleta e a verificação da composição a partir da Análise Elementar. As características físicas como transições do material e degradação podem ser obtidas através da Análise Térmica, ainda sendo possível caracterizar a morfologia do polímero por Microscopia Eletrônica de Varredura (WATKINS et al., 2014; COSTA, 2014).

## **1.9 - Caracterização da biomassa**

A caracterização da biomassa é um processo importante para encontrar a composição do material vegetal e para a quantificação da porção real da lignina na madeira. As principais análises em madeira são para celulose, polioses e lignina, onde a verificação de extrativos são essenciais, pois a presença de graxas, monossacarídeos e outros podem interferir na avaliação da madeira como material lignocelulósico.

### **1.9.1 - Extrativos**

Segundo a norma TAPPI T-264 cm-97, os extrativos são substâncias solúveis em solventes orgânicos e geralmente não são considerados



como parte da madeira. Sendo assim, esses grupos de substâncias precisam ser removidos antes da análise da composição da madeira, exceto o processo de extração no qual o pré-tratamento possa interferir nas análises químicas.

Os extrativos envolvem substâncias de pequenas cadeias como graxas, gorduras, açúcares (como glicose e frutose), substâncias nitrogenadas (como proteínas), clorofila, algumas resinas e corantes (ALVES, 2011; TAPPI T264 cm-97). Essas substâncias são normalmente extraídas a partir de solventes orgânicos, em mistura ou não, e água, para uma eficiência na extração de substância de baixa, média e alta polaridade.

### **1.9.2 - Celulose e polioses**

As fibras vegetais são constituídas por uma junção entre polímeros que conferem a característica ao tecido vegetal. A celulose, lignina e a hemicelulose são os três principais constituintes da parede celular e são responsáveis pela estrutura do vegetal (SALIBA et al., 2001).

A análise da celulose e de hemiceluloses, é de extrema importância para a composição da madeira, visto que essas duas macromoléculas equivalem a mais de 50% da estrutura da madeira. A obtenção de lignina com alta pureza envolve processos de degradação (comumente hidrólise) de celulose e de polioses promovendo a extração dessas estruturas em processos anteriores a precipitação de lignina. O conjunto celulose e hemicelulose são chamados de holocelulose (ALVES, 2011).

A celulose é o polímero mais abundante na natureza e apresenta em sua estrutura unidades de glicose ligadas por uma ligação conhecida como glicosídica. A união dos monômeros pela ligação  $\beta$ -1-4-glicosídica, resulta em um polímero de alta massa molar (ALVES, 2011). Além disso, os grupos hidroxilas (-OH) da celulose são capazes de formar interações de hidrogênio. O processo de polimerização e a quantidade de monômeros também são responsáveis por sua organização cristalina característica (MARABEZI, 2009).

As polioses, também denominada hemiceluloses, são o segundo polissacarídeo mais abundante nos vegetais. A composição das hemiceluloses está relacionada à mistura de pentoses (D-xilose e L-arabinose), hexoses (principalmente D-manose, D-galactose e D-glicose) e ácidos urônicos (SILVA et al., 1998). As hemiceluloses diferem-se da celulose por não apresentarem apenas um monômero e nem um padrão estrutural, com uma configuração irregular e com baixa cristalinidade, que contribui para o aumento da flexibilidade das fibras e para o aumento da área específica ou de ligação das fibras (CHEN, 2014).

Segundo Lochab e colaboradores (2014), a hemicelulose em madeiras do tipo *hardwood* apresentam em sua composição, principalmente, unidades xilana (O-acetil-4-O-metilglicoronoxilana), enquanto madeiras do tipo *softwood* apresentam unidades galactoglicomana, como componente majoritário, e baixa porcentagem de xilana (arabino-4-O-metilglicoronoxilana). A madeira *hardwood*, normalmente, apresenta maior porcentagem de grupos acetil do que a madeira *softwood*. As diferentes unidades de xilanas podem ser visualizadas na FIGURA 1.7.

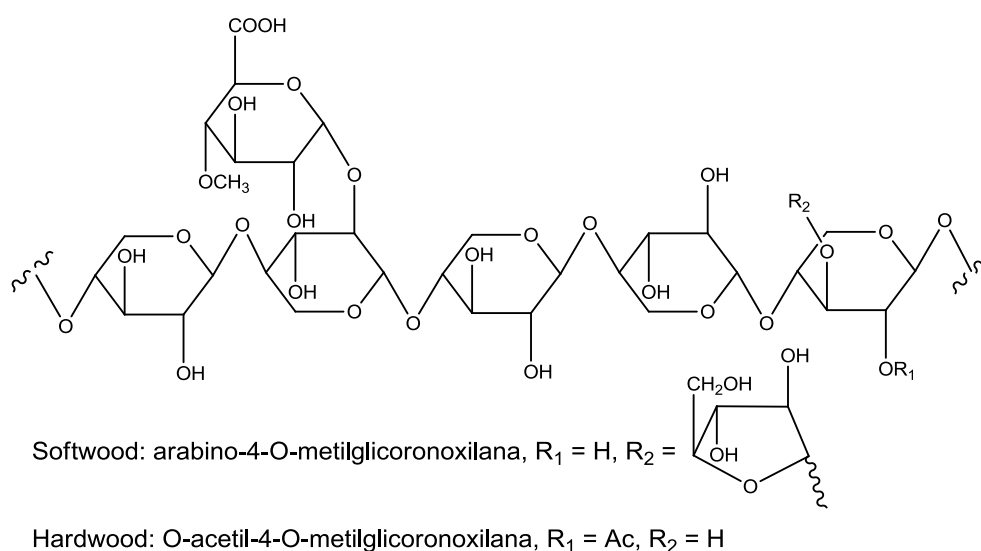


FIGURA 1.7 – Estruturas de xilanas encontradas em madeira do tipo *hardwood* e *softwood*. Adaptado de LOCHAB et al., 2014

Para a quantificação de hemiceluloses e celulose, normalmente é empregado a utilização de ácido ou a oxidação da lignina e posterior precipitação dos carboidratos. A degradação por hidrólise ácida é capaz de quebrar as ligações glicosídicas e levar a formação de glicosídeos, dissacarídeo, oligossacarídeo e polissacarídeo (HALL, 2007), tendo o método de Klason como um dos principais utilizados. No método de oxidação é comumente utilizado clorito de sódio ( $\text{NaClO}_2$ ) em meio ácido, promovendo a separação da lignina da celulose e polioses (MORAIS et al., 2010).

## 2 – OBJETIVOS

A biomassa gerada da plantação e do processamento de laranja tem promovido diversos problemas através do seu acúmulo e descarte. O objetivo deste trabalho é avaliar a lignina nas amostras de caule, raiz central e raiz secundária da laranjeira e do bagaço de laranja, buscando a quantificação, caracterização e a extração industrialmente viável dessa macromolécula natural, afim de verificar a disponibilidade de lignina em *Citrus sinensis* L. Osbeck e mostrar que está biomassa é de grande interesse para obtenção de tal produto.

### 2.1 – Objetivo específico

Extrair a lignina de caule, raiz central e raiz secundária da madeira de laranjeira e do bagaço de laranja, utilizando processos de extração total e parcial.

Quantificar a lignina em *Citrus sinenses* através de metodologias consolidadas na análise desta em madeira.

Determinar o teor de holocelulose e extrativos no caule, raiz central e raiz secundária de laranjeira e do bagaço de laranja para a caracterização dessas porções.

Encontrar um método de extração com bom custo benefício e simplicidade no processo para a extração de lignina em laranjeiras, a partir de técnicas já conhecidas para outros tipos de madeira.

Avaliar e caracterizar as ligninas obtidas, em relação às suas características físicas e químicas na verificação dos monômeros a partir de infravermelho, ressonância magnética nuclear, análise térmica, entre outras técnicas.

## **3 - METODOLOGIA**

### **3.1 - Equipamentos**

Autoclave vertical, PRISMATEC, modelo CS

Balanças analítica e semi-analítica BEL ENGINEERING

Purificador de água por osmose reversa, modelo PRO 4000, KEMFLO

Estufa de ar circulante, TECNAL, modelo TE 394/3

Estufa NOVA ÉTICA

Moinho IKAA11 basic

Moinho Martelo de MML 980 para cavacos

Liquidificador Industrial Basculante METVISA 15 Litros Copo Inox LQL.15

Chapa de aquecimento com sistema de agitação magnética MARCONI MA 471

Medidor de pH METROHM, modelo 827, eletrodo Pt 1000

Rotaevaporador BUCHI R-200

Ultrassom Soni-Tech modelo Soni-top 404A

Ressonância magnética nuclear, BRÜKER DRX 400MHz (9,4 T) usando TMS como padrão interno

Infravermelho SHIMADZU Tracer-100 com Transformada de Fourier

Espectrofotômetro PERKIN ELMER Lambda 35

Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE) SHIMADZU, modelo CR 7A com detector de Índice de Refração SHIMADZU RID - 20A

Termobalança SHIMADZU TGA-50

Microscópio eletrônico de varredura marca FEI INSPECT S50

Equipamento CE instruments para análise elementar

DSC 8000, PERKIN ELMER

PERKIN ELMER, Pyris 1 TGA

Mufla SP LABOR, SP-1200 DM/F

## **3.2 - Matéria-prima**

As amostras utilizadas foram de diferentes partes de laranjeiras (*Citrus sinencis* L. Osbeck) de manejo com 22 anos de idade, sendo estas o caule, raiz central, raiz secundária e do bagaço do fruto de laranja advindo da produção de suco. Todas as amostras foram coletadas e adquiridas junto a empresa Agroterenas S.A. Citrus, localizada no município Santa Cruz do Rio Pardo – SP. As matrizes de madeira foram lavadas em água corrente e todas foram secas em estufa de ar circulante a 40°C por 9 dias e então recolhidas em sacos plásticos. O bagaço foi triturado em liquidificador industrial e as amostras obtidas a partir da madeira foram cortadas em serra circular e então trituradas em moinho de cavacos.

## **3.3 - Caracterização das amostras de bagaço da laranja, caule, raiz central e raiz secundária da madeira de laranjeira**

### **3.3.1 - Teor de umidade**

O teor de umidade das amostras foi determinado em termobalança utilizando 0,5g de material, com o aquecimento a 105°C pelo tempo necessário até a estabilização da massa medida. A subtração do valor inicial pelo valor final revela a quantidade de água presente nas amostras.

### **3.3.2 - Teor de extrativos**

#### **3.3.2.1 - Extrativos totais via TAPPI T264**

As amostras foram submetidas a extração em extrator Soxhlet seguindo a norma T 264 cm-97, afim de remover extrativos orgânicos solúveis em tolueno/etanol (1:1 v/v), etanol e água. Cada extrativo foi colocado em recipientes de vidro previamente tarados e colocados na estufa a 60°C. Após a

secagem, os recipientes foram pesados e os extrativos orgânicos determinados pela diferença de massa. A porcentagem de extrativos totais nas amostra foi determinada pela Equação 1:

$$E_{\text{total}} = (E_{\text{te}} + E_{\text{e}} + E_{\text{a}}/M_{\text{amostra}}) * 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Na qual,

$E_{\text{te}}$  – Extrativos Tolueno/Etanol

$E_{\text{e}}$  – Extrativos Etanol

$E_{\text{a}}$  – Extrativos água

$M_{\text{amostra}}$  – Massa da amostra

### 3.3.2.2 - Extrativos em acetona via TAPPI T280

As amostras também foram submetidas a extração em extrator Soxhlet seguindo a norma TAPPI T280 pm-99 adaptada, afim de remover extrativos orgânicos solúveis em acetona e água. A adaptação desta norma adicionando uma extração utilizando água foi realizada afim de extrair substâncias com alta polaridade e promover uma extração mais completa, tendo em vista o caráter de média polaridade da acetona. Cada extrativo foi colocado em recipientes de vidro previamente tarados e colocados na estufa a 60°C. Após a secagem, os recipientes foram pesados e os extrativos orgânicos determinados pela diferença de massa. As porcentagens de extrativos totais nas amostra foram determinada pela Equação 2:

$$E_{\text{ac}} + E_{\text{a}}/M_{\text{amostra}} * 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Na qual,

$E_{\text{ac}}$  – Extrativos Acetona

$E_{\text{a}}$  – Extrativos água

$M_{\text{amostra}}$  – Massa da amostra

### 3.3.3 - Teor de cinzas

Os teores de cinzas foram realizados segundo a norma ISSO 3451-1:2008. Para a análise, 1g de amostra foi colocada em cadinho previamente tarado e levado à mufla a temperatura de 600 °C por 1h. Após o resfriamento, o cadinho foi pesado e o teor de cinzas foi encontrado através da subtração da massa do cadinho. A temperatura do laboratório foi mantida em 23°C com 50% de umidade do ar. As análises do teor de cinzas foram realizadas pela empresa AFINKO de São Carlos – SP.

### **3.3.4 - Granulometria**

Após o processo de moagem das partes da madeira e do bagaço de laranja, descrito anteriormente, as amostras passaram por uma segunda moagem em moinho analítico. Então as mesmas passaram por peneiras de diferentes granulometrias (35, 60 e 100 mesh) a fim de ser avaliado o efeito do diâmetro dos diferentes materiais utilizados na extração de lignina pelo método Klason.

### **3.4 - Determinação do teor de lignina no bagaço de laranja, caule, raiz central e raiz secundária da madeira de laranjeira**

A determinação de lignina insolúvel em ácido foi estabelecida segundo a norma T222 om-02, a partir de hidrólise ácida (método Klason) com ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), para as amostras livres de extrativos de caule, raiz central e secundária da madeira de laranjeira e do bagaço de laranja obtidas pelas normas T264 cm-97 e T280 pm-99. A massa de 1g de amostra, foi colada em almofariz com adição de 15 mL de solução de  $H_2SO_4$  72%. A mistura foi então macerada a cada 40 min. durante 2h, transferida para um erlenmeyer e completado ao volume de 575 ml com água destilada. A mistura foi aquecida a 110°C por 4h, com adição constante de água para a manutenção do volume anteriormente citado, em seguida a solução foi retirada e então filtrada em papel de filtro após 12h de descanso. A quantidade de lignina insolúvel foi adquirida a



partir da subtração da massa do papel de filtro com amostra e apenas o papel de filtro.

A lignina solúvel em meio ácido foi determinada pela técnica de UV no comprimento de onda de 205 nm utilizando espectrofotômetro. A concentração da lignina solúvel é determinada como segue a Equação 3 de Lambert-Beer abaixo:

$$A = \varepsilon.c.l \quad (\text{Equação 3})$$

Na qual:

A: absorvância

$\varepsilon$ : Absortividade molar ( $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$ )

l: caminho ótico (cm)

c: concentração ( $g \cdot L^{-1}$ )

### **3.5 - Determinação do teor de carboidratos e derivados**

A determinação do teor de polissacarídeos é complementar a determinação da lignina. Diferentes métodos são possíveis para determinação da holocelulose e eventuais carboidratos, podendo ser a partir da precipitação da lignina e análise dos solúveis ou pela transformação desta em produtos solúveis e a análise dos carboidratos como resíduo sólido. O método gravimétrico de precipitação foi empregado neste trabalho, segundo a norma Documentos 236 da Embrapa para análise insolúvel de carboidratos nas amostras de caule, raiz central e secundária de laranjeira e do bagaço de laranja livres de extrativos pela TAPPI T264 cm-97 e T280 pm-99.

#### **3.5.1 - Teor de holocelulose**

A determinação de holocelulose (celulose e polioses) pela norma Documentos 236 da Embrapa promove a oxidação da lignina (MORAIS et al., 2010). Para a análise, 3g de cada material vegetal foram colocadas em erlenmeyer de 500 mL, seguido da adição de 120 mL de água destilada. Os

recipientes foram colocados em banho maria a 70°C com agitação magnética, foi adicionado 2,5g do agente oxidante clorito de sódio (NaClO<sub>2</sub>), com pureza de 80%, e 1 mL de ácido acético glacial, com pureza  $\geq 99,00$ . As mesmas adições de reagentes foram feitas após 1h e 2h, tendo o processo a duração total de 5h.

Ao término do processo inicial, os erlenmeyer foram colocados em banho de gelo por 30 min., a solução foi filtrada e o precipitado foi lavado com água destilada até alcançar pH 7.

### **3.6 - Extração da lignina**

Na obtenção de lignina em madeira comumente é empregado processos de hidrólise, seja ácida ou básica, para promover a sua degradação e solubilização ou sua deposição e solubilização dos carboidratos. Esses processos utilizam da gravimetria para a avaliação do rendimento e quantificação do produto obtido.

#### **3.6.1 - Polpação alcalina**

Para o processo de polpação alcalina foi utilizado o método descrito por Costa (2014), com modificações na quantidade de amostra vegetal inserida. Assim, a quantidade de 11g foi colocada em erlenmeyer de 500 ml com posterior adição de 150 mL de solução de NaOH a 0,5 mol.L<sup>-1</sup>. Em seguida, o recipiente foi levado a auto-clave a 2 atm (120°C) por 1h e a solução foi filtrada, sendo lavada com 100 mL de solução de NaOH a 0,1 mol. L<sup>-1</sup>. O pH então foi regulado para 5,5 (com HCl) e a solução foi levada ao rotaevaporador, até reduzir o volume a 90 mL. O volume de 270 mL de etanol 96% foi adicionado à solução que permaneceu em repouso por 12h, que então foi filtrada para obter a hemicelulose. Por fim, a solução final sofreu redução do seu volume com o auxílio do rotaevaporador, para a retirada do etanol adicionado. Após esse processo, a solução sofreu redução de pH para 1,5, afim de promover a

precipitação da lignina. Esta foi filtrada no sistema de filtração a vácuo, com papel de filtro previamente tarado, e levada a estufa a 60°C.

### **3.7 - Métodos de caracterização de ligninas**

Para a caracterização das ligninas obtidas a partir do caule, raíz central e secundária da laranjeira pelos diferentes processos empregados, foram realizadas análises espectroscópicas na região do infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), bem como análises térmicas, análise elementar e Microscopia eletrônica de Varredura (MEV).

#### **3.7.1 - Espectroscopia na região do Infravermelho**

A espectroscopia na região do infravermelho está relacionada a região de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  do espectro eletromagnético. Essa análise ocorre a partir absorção de radiação por ligações covalentes que apresentam um momento dipolo que altera-se como uma função do tempo. Como os diferentes tipos de ligações apresentam sua própria frequência de vibração, devido a absorção, é possível identificar diferentes grupos funcionais e até mesmo o tipo de ligação em compostos distintos, pois os tipos de ligações vizinhas influenciam na região de absorção de energia de uma ligação.

A técnica de IV tem seu grande uso em produtos naturais, síntese e em transformações orgânicas, devido a identificação dos grupos funcionais presentes em um analito. Nas análises de polímeros o IV tem sido comumente utilizado para a confirmação e o entendimento dos tipos de ligações presentes e dos monômeros (MARABEZI, 2009).

As amostras de lignina previamente secas foram analisadas por um espectrofotômetro de infravermelho com varredura de 32 corridas. Aproximadamente 1 mg de lignina foi adicionada a 100 mg de brometo de potássio (KBr), triturados em almofariz para adquirir homogeneidade e para

produção de pastilhas. Os espectros foram adquiridos na região espectral de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.7.2 - Espectroscopia de RMN

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é um método espectroscópico de elucidação de estruturas, pois é capaz de revelar grupos funcionais, tipo de ligações e o número de átomos de determinada substância. Essa técnica utiliza da região de radiofrequência do espectro eletromagnético, que possibilita um núcleo atômico ressonar ao absorver a energia fornecida nessa região.

As análises amplamente utilizadas em RMN são as de hidrogênio ( $^1\text{H}$  RMN) e de carbono ( $^{13}\text{C}$  RMN), pois esses dois átomos estão presentes na maioria das substâncias orgânicas. O cruzamento das informações obtidas em espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN são muitas vezes suficientes na elucidação de estruturas, podendo ser realizadas através da solubilização do analito em solventes orgânicos ou em água, ambos deuterados. Quando a amostra não apresenta solubilidade em solventes é possível utilizar a análise de RMN em estado sólido, que é aplicado somente ao analito sólido e promove o espectro de ressonância de  $^{13}\text{C}$ , muito útil no estudo de polímeros.

As ligninas obtidas a partir da norma T222 om-02 de amostras livres de extrativos T264 cm-92 e T280 pm-99 e da polpação alcalina de caule, bagaço, raiz central e secundária de laranjeira foram trituradas e analisadas no equipamento de RMN de 400 MHz do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, DQ-UFSCar, juntamente ao Prof. Dr. Antonio Gilberto Ferreira. As amostras derivadas da polpação alcalina foram analisadas por  $^1\text{H}$  RMN no estado líquido, utilizando 10 mg do analito e 600  $\mu\text{L}$  de  $\text{DMSO-d}_6$ . Para todas as amostras dos processos de obtenção de lignina citados foram realizadas análises por  $^{13}\text{C}$  RMN no estado sólido, sendo utilizado aproximadamente 100 mg de analito e apenas uma das triplicatas de cada matriz e extração feita.

### 3.7.3 - Análise Térmica

A análise térmica envolve um conjunto de técnicas analíticas que estuda as propriedades físicas de uma substância ou produto de degradação em função da temperatura e do tempo. Para isso as amostras são submetidas a uma temperatura controlada onde as alterações físicas são possíveis de se verificar, como mudanças em seu estado físico ou morfologia.

A avaliação de substâncias por análise térmica tem sido muito utilizada em diversas áreas da ciência, com destaque a área de Ciências de Materiais. Uma das maiores utilizações desta técnica está na caracterização de polímeros naturais e sintéticos, obtidos pelas indústrias e por centros de pesquisa. A análise Termogravimétrica (TGA, do inglês *Thermogravimetric analysis*) e a Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC, do inglês *Differential Scanning Calorimetry*) são algumas das técnicas mais difundidas e aplicadas (BROWN E GALLAGHER, 2008).

#### 3.7.3.1 – Análise Termogravimétrica

A estabilidade térmica e a decomposição de polímeros orgânicos são comumente determinadas a partir da análise Termogravimétrica (TGA). A curva de TGA verifica a variação de massa em relação a faixa de temperatura em que a amostra foi submetida, sendo possível avaliar a resistência térmica e o teor de umidade da substância (WATKINS et al., 2015; BROWN E GALLAGHER, 2008).

A massa de aproximadamente 8 mg de ligninas de caule, raiz central e secundária, livres de extrativos, foram utilizadas em suporte de platina para a análise no TGA. A faixa de temperatura foi de 25-900 °C, com taxa de aquecimento 20°C por minuto, utilizando N<sub>2</sub> com vazão 50 mL/min. As análises de TGA foram realizadas pela empresa AFINKO de São Carlos – SP.

### **3.7.3.2 - Calorimetria Diferencial de Varredura**

A Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) avalia as transições físicas do material associado à variação de fluxo de calor, sob uma atmosfera controlada. Essa técnica é capaz de identificar propriedades físicas como a temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ), a variação de entalpia, temperatura de cristalização e ainda a transição vítrea ( $T_g$ ), sendo este o valor médio da faixa de temperatura em que as cadeias poliméricas da fase amorfa adquirem mobilidade (mudança de conformação) (WATKINS et al., 2015; CANEVAROLO, 2006).

Aproximadamente 8 mg de ligninas de caule, raiz central e secundária, livre de extrativos, foram analisadas em cadinho de alumínio para ensaio de DSC. A faixa de temperatura foi de 25-170°C, com taxa de aquecimento e resfriamento de 20°C por minuto, utilizando  $N_2$  com vazão 50 mL/min. As análises de DSC foram realizadas pela empresa AFINKO de São Carlos – SP e pelo Laboratório de Polímeros do DQ-UFSCar, juntamente ao Prof. Dr. Caio Marcio Paranhos da Silva.

### **3.7.4 - Análise Elementar**

A análise elementar é uma técnica capaz de verificar a quantidade de carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e o teor de oxigênio pela diferença de massa das porcentagens de massa dos átomos citados pela massa da amostra.

Aproximadamente 15 mg das ligninas das amostras de caule, raiz central e secundária, obtidas pelos processos T264 cm-92 e T280 pm-99, foram separadas em eppendorf. Para análise foi utilizado 1 mg de cada amostra, que foram levadas ao aquecimento. As análises foram realizadas no Departamento de Química - UFSCar.

## **3.8 - Análise por MEV**

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma das técnicas mais versáteis na observação e análise microestruturais de sólidos, que utiliza

feixe de elétrons ao invés de fotos utilizadas em microscópios óticos convencionais, o que promove melhorias na resolução. O MEV possibilita rápidas informações morfológicas em alta resolução na ordem de nanômetros e com grande profundidade de foco. Essa técnica tem sido amplamente utilizada para o estudo de superfícies de polímeros, cerâmicas, metais e espécimes biológicas (DEDAVID et al., 2007)

As ligninas alcalinas de caule, raiz central e secundária de laranjeira foram analisadas por MEV para conhecer seus aspectos morfológicos. As análises foram realizadas no Laboratório de Caracterização Estrutural Dema/UFSCar, utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura – FEI INSPECT S50. As amostras foram previamente secas sobre suportes metálicos de alumínio e posteriormente, recobertas com uma fina camada de ouro. Sua topografia foi examinada a 5 kV com ampliação de até 5000x.

## 4 – RESULTADOS e DISCUSSÕES

### 4.1 - Caracterização das amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira

As amostras de bagaço, caule, raíz central e secundária, após processo de secagem e moagem, foram levadas à termobalança para a determinação da umidade. Os resultados estão descritos na TABELA 4.1.

TABELA 4.1 - Teor de umidade para as amostras de bagaço de laranja e caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira

<b>Amostra</b>	<b>Teor de umidade (%)</b>
Bagaço	9,71
Caule	7,93
Raíz Central	6,77
Raíz Secundária	7,55

O teor de cinza também foi realizado, afim de conhecer a porcentagem de material inorgânico nas amostras de bagaço, caule, raíz central e secundária. Os resultados estão apresentados na TABELA 4.2.

TABELA 4.2 – Teor de cinzas para as amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira.

<b>Amostra</b>	<b>Teor de cinzas (%)</b>
Bagaço	6,76
Caule	2,84
Raíz Central	8,21
Raíz Secundária	5,48



As diferentes porções da laranjeira e o bagaço da laranja apresentaram teores de cinzas distintos. Isso pode ser explicado devido a funções diferentes que cada estrutura celular ou parte da planta exerce em sua dinâmica como organismo (MARABEZI, 2009). O alto teor de água pode auxiliar no aumento de minerais solúveis, o que pode ser verificado no bagaço, que contém altos teores de cálcio, ferro e magnésio (SILVA e PALLONE, 2016). Os teores de cinzas para as amostras da raiz central e secundária podem correlacionados ao fato dessas porções serem o meio pelo qual a planta absorve os minerais do solo, apresentando considerável concentração (SOUZA, 2016).

Os resultados dos extrativos a partir da norma T264 cm-97 estão expressos na TABELA 4.3.

TABELA 4.3 – Extrativos totais das amostras de bagaço de laranja, caule, raiz central e secundária da madeira de laranjeira obtidos a partir da norma T264 cm-97

<b>Amostra</b>	<b>Extrativos tolueno/etanol (%)</b>	<b>Extrativos etanol (%)</b>	<b>Extrativos água (%)</b>	<b>Extrativos totais (%)</b>
Bagaço	6,61 ± 0,24	0,86 ± 0,06	4,59 ± 0,36	12,05 ± 0,59
Caule	3,82 ± 0,24	4,19 ± 0,04	4,11 ± 0,14	12,11 ± 0,41
Raiz Central	7,63 ± 0,29	3,09 ± 0,11	1,51 ± 0,01	12,24 ± 0,40
Raiz Secundária	10,61 ± 0,78	1,58 ± 0,16	1,41 ± 0,10	13,60 ± 1,03

A extração pela norma T264 cm-97 inicia-se na retirada de substâncias mais apolares (tolueno/etanol) como as graxas e gorduras, em seguida com a extração com média polaridade (etanol), capaz de retirar estruturas como flavonóides, e por último com extração polar (água) obtendo principalmente açúcares (GOMES et al., 2015).

Os extrativos mais apolares apresentaram maior quantidade na amostra de raíz secundária e decrescendo no sentido do caule. A amostra que apresentou maior concentração de extrativos etanol foi a do caule, com maior quantidade de moléculas de média polaridade. Já os extrativos obtidos em água foram superiores nas amostras de bagaço devido a maior concentração de açúcares que são passíveis de solubilização em água. A análise dos extrativos revelam que a polaridade do conteúdo obtido aumenta da raíz secundária para o caule, passando pela raíz central.

As granulometrias de 35, 60 e 100 mesh foram testadas. Foi observado que os resultados para as ligninas obtidas em materiais com 35 mesh apresentaram resultados falso-positivos, expressando valores próximos a 30%. Então a granulometria de 60 e 100 mesh foram avaliadas, porém não foi observado diferença na obtenção de lignina no processo final, assim a granulometria de 60 mesh foi estabelecida para todas as amostras.

As porcentagem dos extrativos obtidos pela norma T280 pm-99 estão apresentadas na TABELA 4.4.

TABELA 4.4 – Extrativos das amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira obtidos a partir da norma T280 pm-99 adaptada.

	<b>Extrativos acetona (%)</b>	<b>Extrativos água (%)</b>	<b>Extrativos totais (%)</b>
Bagaço	4,36 ± 0,17	8,66 ± 0,31	12,94 ± 0,22
Caule	2,40 ± 0,15	3,87 ± 0,09	6,27 ± 0,13
Raíz Central	3,63 ± 0,17	3,70 ± 0,20	7,33 ± 0,31
Raíz Secundária	5,08 ± 0,05	4,89 ± 0,10	9,92 ± 0,06

A extração através da norma T264 cm-97 (TABELA 4.3) foi eficiente para obter todas as frações de extrativos polares e apolares, devido à

grande variação de polaridade de tolueno/etanol à água. Isso explica o menor valor de extrativos encontrados na acetona pela norma T280 pm-99, visto que este solvente (TABELA 4.4) é capaz de extrair apenas substâncias como ácidos graxos, resinas, esteróis, ceras e hidrocarbonetos não voláteis (GOMES et al., 2015). Segundo GOMES e colaboradores (2015), a extração em acetona é interessante para quantificar os extrativos que são mais relevantes para a operação de polpação celulósica.

#### **4.2 - Determinação da quantidade de lignina nas amostras de bagaço de laranja, caule, raiz central e raiz secundária da madeira de laranjeira**

Os resultados para os teores de ligninas encontrados nas amostras livres de extrativos pela norma T264 cm-97 estão descritos na TABELA 4.5.

TABELA 4.5 - Teor de lignina nas amostras de bagaço de laranja, caule, raiz central e raiz secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

	<b>Lignina insolúvel (%)</b>	<b>Lignina solúvel (%)</b>	<b>Lignina total (%)</b>
Bagaço	0,89 ± 0,05	0,24 ± 0,04	1,13 ± 0,04
Caule	19,63 ± 0,19	0,17 ± 0,01	19,80 ± 0,19
Raiz central	21,68 ± 0,39	0,20 ± 0,0	21,88 ± 0,36
Raiz secundária	19,32 ± 0,41	0,21 ± 0,03	19,52 ± 0,41

A porcentagem de lignina na amostra de caule (19,80%), raiz central (21,88%) e raiz secundária (19,52%) livres de extrativos apresentaram-se dentro da faixa de 10-25% da biomassa, descrita pela literatura como a faixa de porcentagem de lignina comumente encontrada em biomassa lignocelulósica (WATKINS et al., 2015).

O percentual de lignina obtido no caule foi próximo ao descrito na literatura, sobre quantificação de lignina em podas de laranjeiras, de aproximadamente 20%, valor encontrado em galhos com diâmetro acima de 1 cm (GONZÁLES et al., 2011; MORAL et al., 2016). Neste trabalho foi utilizado o tronco da laranjeira com aproximadamente 20 cm de diâmetro de uma árvore de 22 anos. A idade da planta, a porção utilizada, o solo, o clima e outros fatores são importantes na constituição da madeira, alterando as percentagens encontradas de citrus em diferentes locais e porções, que muitas vezes não possibilita uma comparação direta entre estudos realizados com uma mesma espécie (PETTERSEN, 1984).

Na raiz central e secundária, a porcentagem de lignina foi próxima ao encontrado por Gonzáles et al. (2011) em podas, sendo 21,88% e 19,52%, respectivamente. A ausência de estudos com lignina em raiz de laranjeira não permitiu a comparação dos valores obtidos com outros trabalhos de citrus que poderiam quantificar a lignina em raiz de laranjeira.

Segundo Zhang e colaboradores (2014), a espécie *Populus* (angiosperma) apresenta 19% de teor de lignina nas raízes, enquanto a espécie *Pinus* (gminosperma) apresenta o teor de 28% de lignina em suas raízes. O valor de lignina em raízes de *Citrus sinensis* foi próximo ao encontrado pra raízes de *Populus*, sendo condizente para teores em plantas angiospermas.

No bagaço de laranja, porção que compreende todo o material do fruto após extração do suco, o teor de lignina encontrado foi de 1,13%, apresentando valor aceitável para um fruto como a laranja. Segundo Orozco e colaboradores (2014), o albedo (porção interna branca) da laranja possui 2,81% de lignina, enquanto o flavedo (porção externa ou “casca”) apresenta 2,17% de lignina, se uma média for feita para o fruto total encontra-se o valor de 2,49%.

Apesar da diferença dos valores descritos por Orozco e colaboradores (2014) e os obtidos neste trabalho, o resultado é significativo, pois os fatores climáticos e o solo são importantes para a composição da planta,

inclusive do fruto, o que pode destoar a percentagem na comparação de laranja de diferentes lugares, justificando os resultados. Além disso, a composição encontrada na literatura foi a partir de análises secundárias, diferentemente deste trabalho que apresentou como objetivo principal a quantificação e caracterização da lignina da madeira de laranjeira, inclusive do bagaço de laranja.

Os valores dos teores de lignina nas amostras de bagaço, caule, raíz central e secundárias obtidas pela norma T264 cm-97, em relação às amostras brutas, estão apresentados na TABELA 4.6.

TABELA 4.6 – Teor de lignina em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97, em relação as massas brutas das amostras

<b>Amostras</b>	<b>Lignina total (%)</b>
Bagaço	0,99
Caule	17,40
Raíz central	19,08
Raíz secundária	16,75

As porcentagens de lignina em relação a massa bruta das amostras foram utilizadas para o cálculo do balanço de massa, assim como para o teor de holocelulose.

Outro método utilizado na determinação da lignina foi empregado para a avaliação de uma metodologia com emprego de solventes mais verdes na etapa de obtenção dos extrativos. Para isso, a utilização da norma TAPPI T 280 pm-99 foi válida, devido a utilização de acetona e água nas etapas dos extrativos.

As ligninas das amostras livres de extrativos pela norma T280 pm-99 de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira foram obtidas através da norma T222 om-02 modificada. Após a

filtração do licor, a lignina permaneceu com coloração escura e foi seca a 60°C. Os valores das ligninas obtidas das amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira estão descritos na TABELA 4.7.

TABELA 4.7 – Teor de lignina nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira em amostras livre de extrativos pela T280 pm-99

	<b>Lignina insolúvel (%)</b>	<b>Lignina solúvel (%)</b>	<b>Lignina total (%)</b>
Bagaço	0,45 ± 0,4	0,21 ± 0,01	0,66 ± 0,03
Caule	22,24 ± 0,18	0,18 ± 0,06	22,41 ± 0,17
Raíz central	21,19 ± 0,03	0,17 ± 0,02	21,36 ± 0,01
Raíz secundária	22,28 ± 0,10	0,16 ± 0,02	22,44 ± 0,11

Os teores de lignina encontrados para amostras de caule, raíz central e secundária livre de extrativos pela norma T280 pm-99 também foram acima de 20%, estando próximo ao descrito na literatura para *Citrus sinensis* (GONZÁLES et al., 2011).

Os valores de lignina para essas amostras são superiores aos teores encontrados em amostras de caule, raíz central e secundária livre de extrativos pela norma T264 cm-97 (TABELA 4.3). Essa diferença pode ser explicada pela menor extração realizada ao utilizar somente acetona e água, fases de média e alta polaridade, respectivamente. A raíz secundária, por exemplo, apresentou 10% de extrativo apolar (TABELA 4.2) ao utilizar como fase extratora o tolueno/etanol, diferente das características de extração quando utilizado a acetona. Com a menor extração de graxas e lipídeos, essas estruturas podem se apresentar como contaminantes, condensados à lignina.

As porcentagens de lignina das amostras de bagaço de laranja e de caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira obtidas pela norma T280 pm-99 em relação as amostras brutas estão na TABELA 4.8.

TABELA 4.8 - Teor de lignina em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99, em relação as massas brutas das amostras

<b>Amostras</b>	<b>Lignina total (%)</b>
Bagaço	0,57
Caule	21
Raíz central	19,79
Raíz secundária	20,21

### **4.3 - Determinação do teor de carboidratos e derivados**

#### **4.3.1 – Teor de holocelulose**

Na análise de madeira é comumente empregado a determinação do teor de celulose e hemicelulose, devido a estes serem os carboidratos em maior porcentagem e os principais na composição de madeiras. A verificação da porcentagem desses carboidratos nas amostras de laranja foram, inicialmente, analisadas pelo método que utiliza  $\text{NaClO}_2$ . A análise com o clorito de sódio em meio ácido promove a deslignificação do material através da oxidação da lignina em temperatura elevada, solubilizando a lignina e precipitando a holocelulose (conjunto de celulose e poliose) (MORAIS et al., 2010). O processo de oxidação levou a formação de  $\text{ClO}_2$ , gás esverdeado, por isso a reação foi realizada em recipiente fechado e com exaustão de gases. A precipitação da holocelulose

ocorreu após a inserção dos frascos em banho de gelo por 30 minutos, depois das 5h do processo de oxidação.

As fases sólidas obtidas nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira apresentaram coloração branca, confirmando que a degradação da lignina foi efetiva. Os valores de holocelulose das amostras de bagaço, caule, raíz central e raíz secundária livre de extrativo T264 cm-97 estão a seguir (TABELA 4.9).

TABELA 4.9 – Teor de holocelulose nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T 264 cm-97

<b>Amostra</b>	<b>Teor de Holocelulose (%)</b>
Bagaço	70,10 ± 0,99
Caule	78,10 ± 0,12
Raíz Central	78,66 ± 0,10
Raíz Secundária	76,06 ± 0,05

Os teores de holocelulose encontrados foram acima de 70%, estando próximos a média de 70% para materiais lignocelulósicos (WATKINS et al., 2015) e na faixa encontrada para madeiras do tipo *hardwood* (PETTERSEN, 1984).

Os teores de holocelulose das amostras obtidas pela T264 cm-97 em relação a massa bruta do bagaço, caule, raíz secundária e raíz central estão expressas na TABELA 4.10.



TABELA 4.10 – Teor de holocelulose em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97 em relação a massa bruta das amostras

<b>Amostra</b>	<b>Teor de Holocelulose (%)</b>
Bagaço	61,65
Caule	68,64
Raíz Central	69,03
Raíz Secundária	65,72

Nas amostras de caule, bagaço, raíz central e secundária, livres de extrativos pela norma T280 pm-99, também foi avaliado o teor de holocelulose pela norma Documentos 236 da Embrapa. Os resultados estão apresentados na TABELA 4.11.

TABELA 4.11 - Teor de holocelulose em amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99

<b>Amostra</b>	<b>Teor de Holocelulose (%)</b>
Bagaço	72,77 ± 0,46
Caule	79,62 ± 0,41
Raíz Central	80.13 ± 0,13
Raíz Secundária	74,88 ± 1,11

As amostras de holocelulose de caule, raíz central e secundária apresentaram uma coloração levemente marrom, indicando que houve a precipitação de outros materiais além de carboidratos, como a lignina. Isso pode explicar o valor diferente dos teores encontrados para amostras livres de

extrativos T264 cm-97 (FIGURA 4.9), devido uma oxidação incompleta da lignina.

Os valores de holocelulose das amostras obtidas pela T280 pm-99 em relação a massa bruta para as amostra de bagaço, caule, raíz central e secundária estão expressas na TABELA 4.12.

TABELA 4.12 - Teor de holocelulose nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99 em relação a massa bruta das amostras

<b>Amostra</b>	<b>Teor de Holocelulose (%)</b>
Bagaço	63,35
Caule	74,63
Raíz Central	74,26
Raíz Secundária	67,45

Com os valores obtidos do teor de cinzas, extrativos, teor de lignina e teor de holocelulose foi possível realizador o balanço de massa para as amostras de bagaço, caule, raíz central e secundária em que os extrativos foram feitos pelas normas T264 cm-97 e T280 pm-99. Os dados a respeito das amostras de ambas estão apresentados na TABELA 4.13.

TABELA 4.13 – Balanço de massa para as amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária da madeira de laranjeira com extrativos pelas normas T264 cm-97 e T280 pm-99

<b>Amostra</b>	<b>Balanço de massa T264 (%)</b>	<b>Balanço de massa T280 (%)</b>
Caule	101	104,74
Raíz central	108,56	109,59
Raíz secundária	101,55	103,07
Bagaço	81,46	83,63

O balanço de massa para as diferentes porções da laranjeira com extrativos pela norma T264 cm-97 apresentaram valores de porcentagens entre 101-109% para o caule, raíz central e secundária. Dentro do limite aceitável de 105%, os valores para caule e raíz secundária apresentaram-se nesse limite, já para raíz central foi um pouco maior, chegando a 108,56%, porém aceitável (MARABEZI, 2014). O valor para o bagaço foi bem abaixo (81,46%), fato que pode ser explicado pela solubilização de parte da pectina presente, pois o processo com  $\text{NaClO}_2$  é utilizado para a análise de celulose e hemicelulose. O baixo valor dos carboidratos pode ser o que corroborou para o menor balanço de massa, visto que a fração de lignina (0,99%) apresentou proximidade ao valor de 2% da literatura (OROZCO et al., 2014).

Os balanços de todas as amostras com extrativos pela T280 pm-99 foram maiores em relação aos obtidos para as amostras com extrativos pela T264 cm-97. Porém a tendência foi a mesma, com o valor baixo para o bagaço, valores próximos para o caule e raíz secundária, seguindo pelo maior valor para a raíz central. A limpeza parcial com a utilização de apenas acetona nos extrativos pode ter gerado o maior valor referente a holocelulose e lignina, com prováveis deposições de outras substâncias no momento da obtenção da lignina insolúvel e da holocelulose, elevando o valor do balanço de massas (FUNAOKA et al.; 1990; MARABEZI,2009).

#### **4.4 - Extração da lignina**

A polpação alcalina foi empregada para avaliar características das ligninas através de um processo simples e de baixo custo operacional, tanto em relação a reagentes quanto ao processo propriamente dito. As matrizes de caule, raíz central e raíz secundária foram utilizadas na extração de lignina pela polpação alcalina. O licor obtido no processo inicial da polpação apresentou coloração marrom e a este foi adicionado etanol para a separação dos

carboidratos da lignina. O etanol utilizado no processo foi recuperado e reutilizado no mesmo e em outros fins, como na limpeza de vidrarias.

A lignina obtida através da precipitação devido à redução de pH para 1,5, foi filtrada em papel de filtro previamente tarado e lavada com água destilada até aproximadamente pH 7. Após a lavagem da lignina sua coloração tornou-se mais clara. A porcentagem de lignina e o rendimento do processo obtida estão na TABELA 4.14.

TABELA 4.14 – Porcentagem e rendimento da lignina obtida pela polpação alcalina

<b>Amostra</b>	<b>Teor de lignina (%)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Caule	3,58 ± 0,29	20,57 ± 1,67
Raíz Central	3,96 ± 0,08	20,78 ± 0,45
Raíz Secundária	4,13 ± 0,28	24,64 ± 1,69

Aproximadamente 0,42 g de lignina foram obtida a partir de 11g de amostra de caule, raíz central e raíz secundária, mostrando que de toda amostra foi obtido cerca 4% em massa de lignina. Os rendimentos foram calculados em relação a lignina total de cada amostra, determinada nesse trabalho através da norma T222 om-92.

O rendimento médio das amostras entre 20-24% na extração de lignina mostrou-se interessante devido dispensar processos anteriores a obtenção da lignina, como extrativos. Esse valor de rendimento é interessante, pois o processo alcalino apresenta simplicidade, visto que envolve o aquecimento em autoclave, utilização de rotaevaporador e reduções de pH com ácido clorídrico, ou seja, um aparato de baixo custo (COSTA, 2014). Além disso as ligninas obtidas através da polpação alcalina, apresentam boa solubilidade em DMSO, o que possibilitou a realização da análise de  $^1\text{H}$  RMN.

## 4.5 - Métodos de Caracterização

As amostras de ligninas de caule, raiz central e raiz secundária de laranjeira livres de extrativos pela norma T264 cm-97 e T280 pm-99 foram analisadas por infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido, TGA, DSC e análise elementar.

As ligninas de caule, raiz central e secundária obtidas pela polpação alcalina foram analisadas por infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido, DSC, análise elementar e por Microscopia Eletrônica de Varredura. As amostras do bagaço de laranja, de todos os métodos, não foram analisadas devido à ausência de massa necessária para os experimentos.

### 4.5.1 - Espectroscopia na região do Infravermelho

As análises de infravermelho das amostras T264 cm-97 de caule, raiz central e raiz foram feitas com aproximadamente 1 mg de amostra, sendo previamente colocadas na estufa a  $60^\circ\text{C}$  para perda de umidade. Os espectros estão apresentados na FIGURA 4.1.

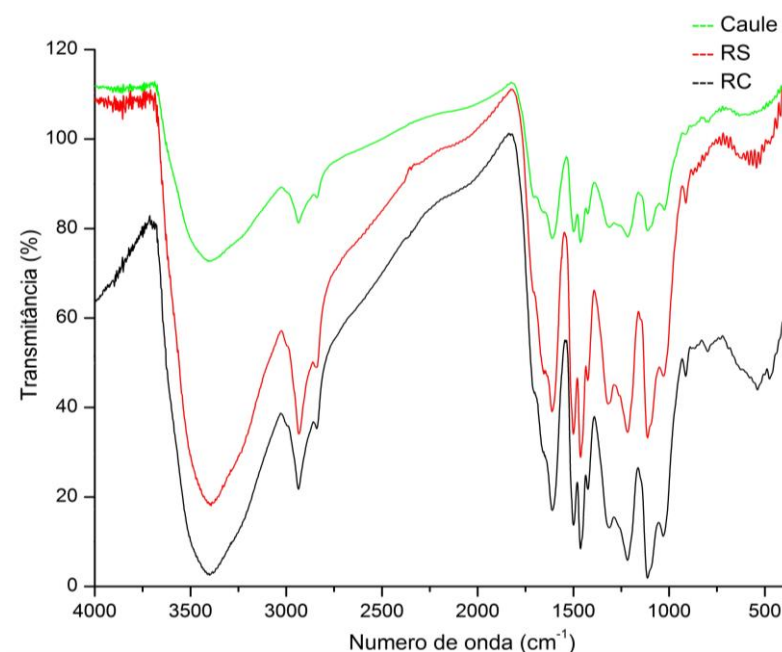


FIGURA 4.1 - Espectros de infravermelho para ligninas de caule, raiz central (RC) e secundária (RS) da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

As diferentes amostras apresentaram resultados muito próximos, logo, a amostra de caule (FIGURA 4.2) será utilizada na discussão.

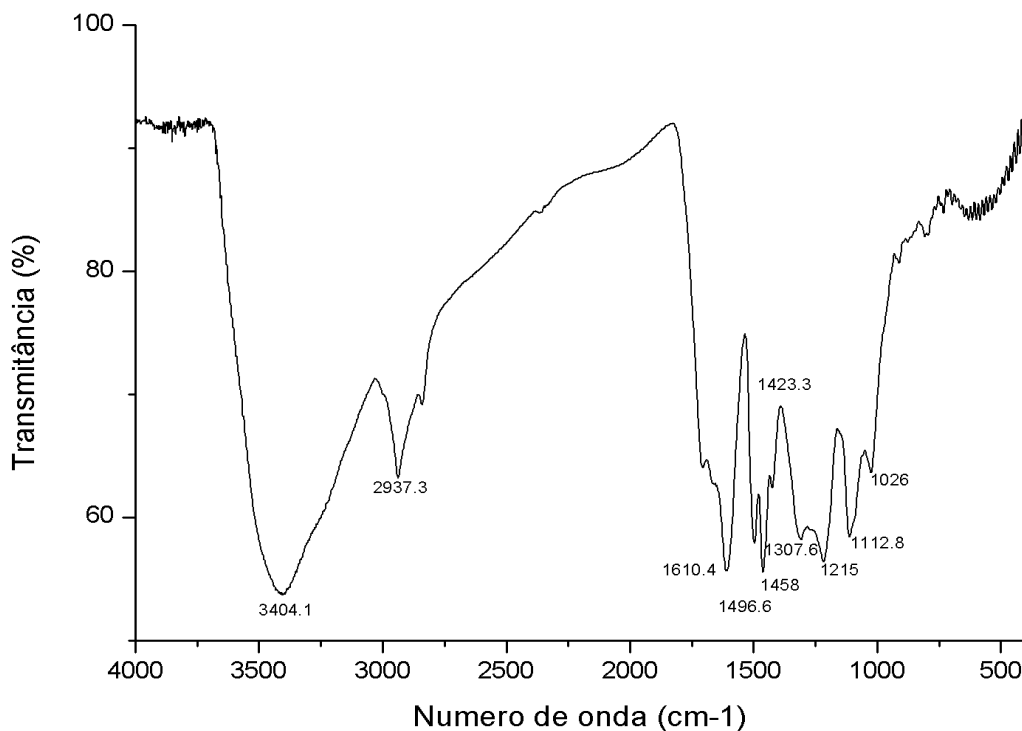


FIGURA 4.2 - Espectro de infravermelho da lignina de caule da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

As bandas comumente encontradas nas análises por infravermelho da lignina estão relacionadas às insaturações na cadeia propanóide e ligações duplas dos anéis aromáticos, grupos éter, ésteres, aldeídos, cetonas e álcoois. A TABELA 4.15 apresenta as principais bandas de absorção no IV encontradas na lignina. As atribuições das bandas foram relatadas de acordo com dados encontrados na literatura (IBRAHIM, et al., 2011; COSTA, 2014).

TABELA 4.15 - Principais bandas de absorção no IV da lignina

Banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3400-3405	Estiramento O-H (fenólico e alifático)
2925 -2960	Estiramento C-H (CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> )
2840 – 2850	Estiramento C-H (OCH <sub>3</sub> )
~1600	Estiramento C-C (esqueleto aromático)
1513	Estiramento C-C (esqueleto aromático)
1460	Deformação assimétrica C-H (CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> )
1425	Estiramento C-C com C-H no plano de deformação
1326	Estiramento C-O Siringil
~1220	C-O (H) e C-O (Ar) no anel guaiacil
1115	Ar-CH no plano de deformação siringil
~1030	C-O (H) e C-O (C) de éter
915	C-H fora do plano (esqueleto aromático)

A amostras de caule, raiz central e secundária apresentaram os sinais característicos de lignina, conforme a literatura (WATKINS et al., 2015; NOVAES et al., 2010; IBRAHIM et al., 2011). A banda em 1307,6 cm<sup>-1</sup> é característica de estiramento C-O da estrutura do siringil e em 1112,8 cm<sup>-1</sup> correspondente ao C-H de carbono do anel aromático de siringil. O estiramento da ligação C-O (H) e C-O (Aril) em 1215 cm<sup>-1</sup> é característica do anel guaiacil. O estiramento em 1026 cm<sup>-1</sup> de ligação C-O (H) e C-O (C) confirmam os grupos éter e hidroxila presente nos anéis siringil e guaiacil. Segundo IBRAHIM et al. (2011), esses sinais confirmam os monômeros siringil e guaiacil junto aos outros sinais de estiramento O-H (fenólico e alifático) em 3404,1 cm<sup>-1</sup>, estiramento C-H (CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>) em 2937,3 cm<sup>-1</sup> e o estiramento C-C (esqueleto aromático) em 1610,4 cm<sup>-1</sup>. O espectro de infravermelho confirmou que as ligninas de *Citrus*

*sinenses* é característica de madeira do tipo *hardwood*, caracterizada pela presença dos anéis guaiacil e siringil (NOVAES et al., 2010).

Os espectros de ligninas de caule, raiz central e secundárias obtidas pela norma T280 pm-99 estão apresentados na FIGURA 4.3, a seguir.

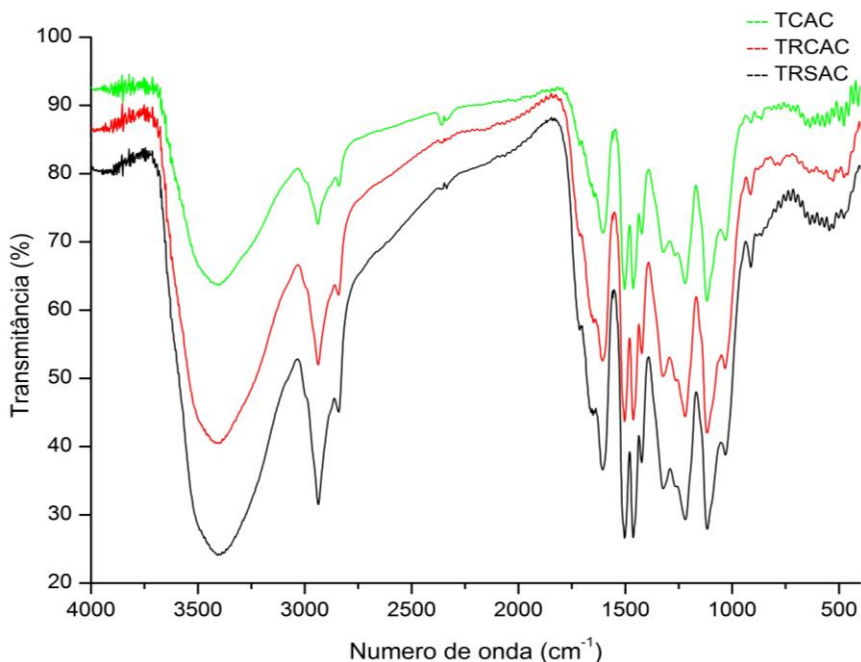


FIGURA 4.3 - Espectros de IV das ligninas de caule (TCAC), raiz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99.

Devido à similaridade dos espectros das diferentes amostras, o espectro de caule (FIGURA 4.4) será utilizado para a discussão.



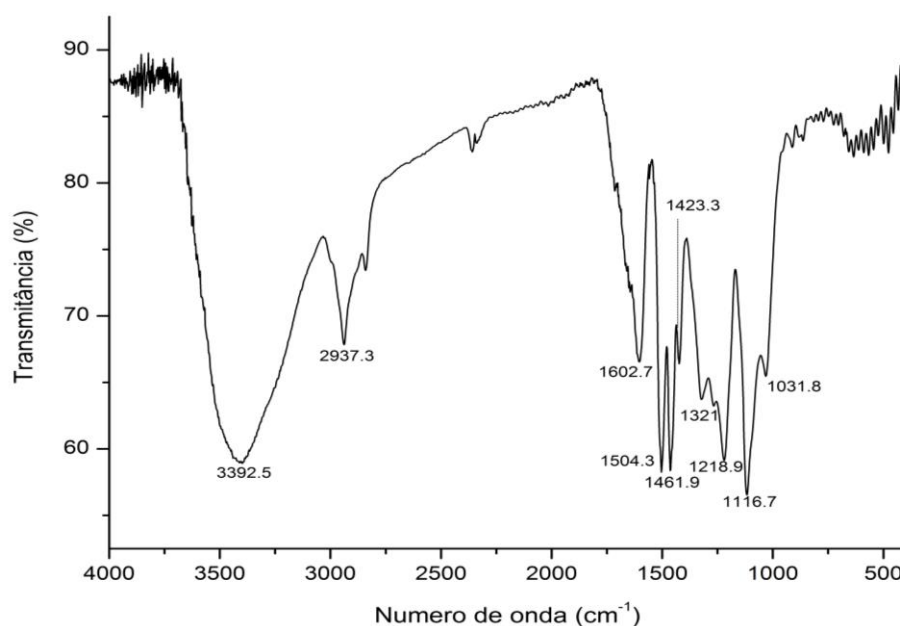


Figura 4.4 - Espectro de IV da lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99

Nas amostras de caule, raiz central e secundária foi possível identificar os sinais característicos de lignina, conforme a literatura (WATKINS et al., 2015; NOVAES et al., 2010; IBRAHIM et al., 2011) e com sinais similares as ligninas obtidas pela norma T264 cm-97. A banda em  $1321\text{ cm}^{-1}$  é característica de estiramento C-O da estrutura do siringil e em  $1116,7\text{ cm}^{-1}$  correspondente a C-H de carbono do anel aromático de siringil. O estiramento da ligação C-O (H) e C-O (Aril) em  $1218,9\text{ cm}^{-1}$  é característica do anel guaiacil. O estiramento em  $1031,8\text{ cm}^{-1}$  de ligação C-O (H) e C-O (C) confirmam os grupos éter e hidroxila presente nos anéis siringil e guaiacil. Segundo IBRAHIM et al. (2011), esses sinais confirmam os monômeros siringil e guaiacil junto aos outros sinais de estiramento O-H (fenólico e alifático) em  $3392,5\text{ cm}^{-1}$ , estiramento C-H ( $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ ) em  $2937,3\text{ cm}^{-1}$  e o estiramento C-C (esqueleto aromático) em  $1602,7\text{ cm}^{-1}$ . A análise por infravermelho não revelou impurezas nas amostras obtidas pela norma T280 pm-99.

A lignina pelo método de polpação alcalina também apresentou similaridade dentro das amostras de caule, raiz central e secundária. Os espectros estão demonstrados na FIGURA 4.5.

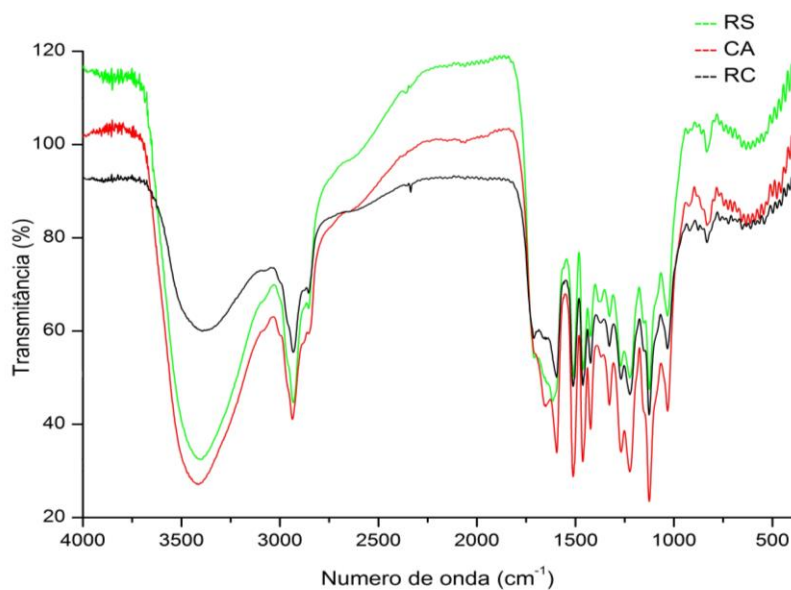


FIGURA 4.5 - Espectro de infravermelho das ligninas de caule (CA), raíz central (RC) e secundária (RS) de madeira de laranjeira obtidas através da polpação alcalina

O espectro do caule foi utilizado para discussão dos sinais na região do infravermelho (FIGURA 4.6).

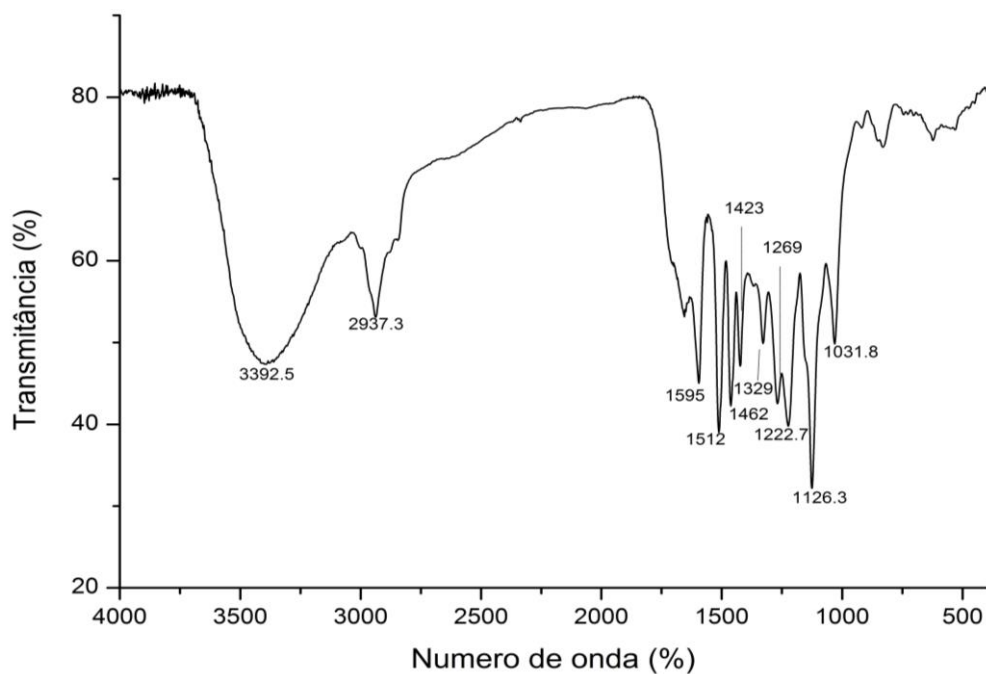


FIGURA 4.6 - Espectro de infravermelho da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida por polpação alcalina.

As banda do espectro da lignina da polpação alcalina foram semelhantes à aquelas encontradas na lignina livre de extrativos pela T264 cm-

97. Os sinais comprovam a presença de anéis guaiacil e siringil, bem como as porções alifáticas (C<sub>3</sub>).

Os estiramentos em 1328,8 cm<sup>-1</sup> e 1126,3 são das ligações C-O e ligação C-H, respectivamente, sinais característicos do anel aromático de siringil. O estiramento da ligação C-O (H) e C-O (Aril) em 1215 cm<sup>-1</sup> é característica do anel guaiacil. O estiramento em 1031,8 cm<sup>-1</sup> de ligação C-O (H) e C-O (C) confirmam os grupos éter e hidroxila presente nos anéis siringil e guaiacil. Os sinais referentes ao estiramento O-H (fenólico e alifático) (3392,5 cm<sup>-1</sup>), estiramento C-H (CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>) (2937,3 cm<sup>-1</sup>), estiramento C-C (esqueleto aromático) (1595 cm<sup>-1</sup>), bem como estiramento C-C (esqueleto aromático) (1512 cm<sup>-1</sup>) são encontrados para a lignina de polpação alcalina.

#### **4.5.2 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**

A espectroscopia de RMN para lignina tem sido empregada e tem grande importância para a caracterização e identificação dos monômeros guaiacila, siringila e p-hidroxifenila presente em estruturas desse polímero (WATKINS et al., 2015). As análises em RMN no estado líquido são frequentemente empregadas à ligninas solúveis, derivadas de processos como o Kraft e a Polpação Alcalina (COSTA, 2014), sendo identificados os grupos funcionais, informações das regiões aromáticas quanto aos monômeros e tipos de ligações (PU et al., 2013). Porém, em muitos casos a análise da lignina é dificultada devido seu limite de solubilidade, o que gera problemas no trabalho com a RMN mais comum. Nesse âmbito, a utilização da espectroscopia de <sup>13</sup>C RMN no estado sólido tem se mostrado uma abordagem ideal e de grande importância na análise de lignina, permitindo examinar sua composição e características estruturais (FU et al., 2015).

As análises por RMN foram realizadas após um teste de solubilidade, visto que as ligninas obtidas pela hidrólise ácida apresentaram baixa solubilidade em dimetilsulfóxido (DMSO). Segundo Sameni e colaboradores (2015), os principais solventes para a solubilização da lignina são

1,4-dioxano, acetato de etila, metanol, tetrahydrofurano, acetona, clorofórmio, dimetilsulfóxido, diclorometano, dimetiformamida e piridina. O teste consistiu na utilização de 1,5 mg de lignina de caule (livre de extrativos pela norma T264 cm-97), 500 µL de solvente e levado ao ultrassom por 15 minutos a 40°C. A FIGURA 4.7 apresenta o resultado do teste.

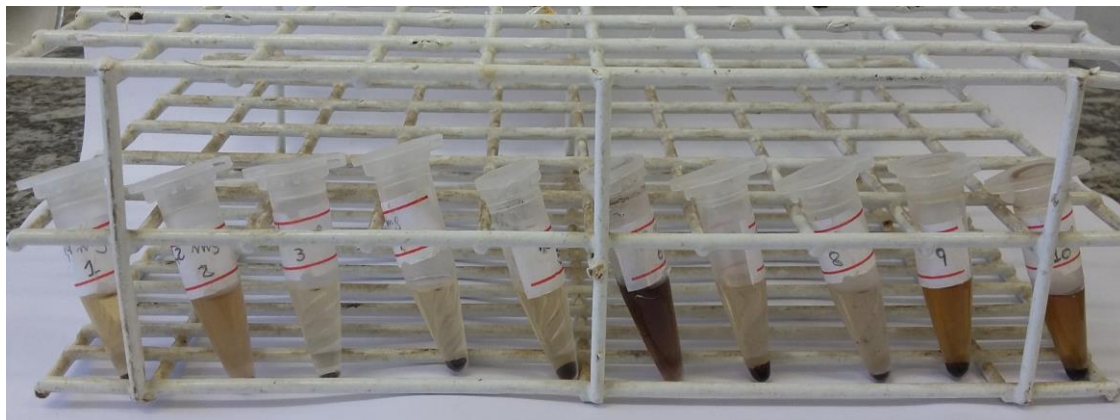


FIGURA 4.7 – Teste de solubilidade da lignina de caule obtida por hidrólise ácida. Solventes utilizados, da esquerda para a direita: 1,4-dioxano, acetato de etila, metanol, tetrahydrofurano, acetona, clorofórmio, dimetilsulfóxido, diclorometano, dimetiformamida e piridina

Então foi realizado um parâmetro de solubilidade baseado nos estudos em Javad (2015), utilizou-se 6 mg de lignina de caule (livre de extrativos pela norma T264 cm-97) para 3 mL de 9 diferentes solventes, sendo estes: acetato de etila, metanol, tetrahydrofurano (THF), acetona, clorofórmio, dimetilsulfóxido (DMSO), diclorometano, dimetiformamida (DMF) e piridina. A lignina foi solubilizada, filtrada em filtro PTFE 0,20 µm de 15 mm e em seguida seca a 60°C por 7 dias. As porcentagem da massa de ligninas solubilizadas para cada solvente estão expressos no GRÁFICO 1.

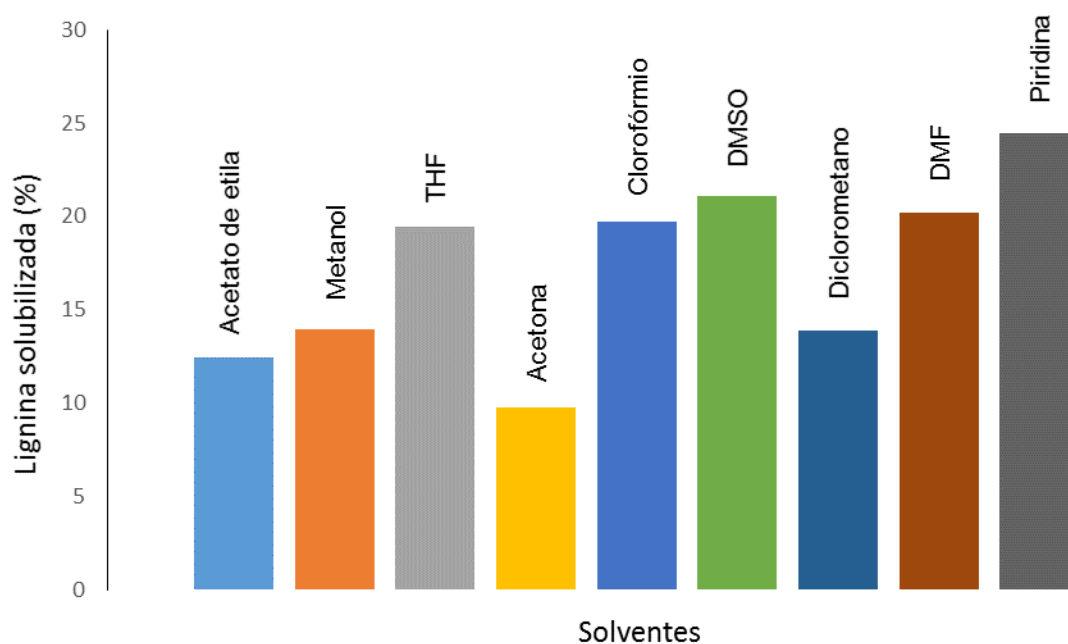


FIGURA 4.8 – Porcentagem de lignina de caule, livre de extrativos pela norma T264 cm-97, solubilizada em solventes comumente utilizados para esta macromolécula.

A piridina apresentou melhor solubilização da lignina, seguindo pelo DMSO, DMF, clorofórmio e THF, todos muito próximos. Apesar da melhor solubilização entre os solventes, a piridina foi efetiva para somente 24,43% de lignina, uma quantidade muito baixa, pois fora utilizado 6 mg de soluto para 3 mL de solvente.

A técnica de RMN no estado sólido foi utilizada devido à baixa solubilidade das ligninas (livres de extrativos pelas normas Tappi), em solventes orgânicos comumente empregados para análises no RMN em estado líquido, como DMSO e clorofórmio. As análises foram realizadas com as ligninas de caule, raiz central e secundária livres de extrativos pelas T264 cm-97 e T280 pm-99, como também pela polpação alcalina.

Os principais deslocamentos relacionados a estrutura da lignina, desde aos carbonos aromáticos, grupos funcionais e carbonos alifáticos podem ser observados através da TABELA 4.16. As atribuições das bandas foram relatadas de acordo com dados encontrados na literatura (ANGELINI et al.,

2016; BERNARDNELLI et al., 2015; HOLTMAN et al., 2010; HAGE et al., 2009; SALIBA et al., 2001; MARTÍNEZ et al., 1999).

TABELA 4.16 – Deslocamentos químicos de RMN comumente encontrados em madeiras

Atribuição	Deslocamento químico (ppm)
C $\alpha$ com grupo carbonila (C=O)	174
-COO/CH <sub>3</sub> COO de hemicelulose	173
C <sub>3</sub> e C <sub>5</sub> em S eterificados (C-O)	153
C <sub>4</sub> em G eterificado (C-O)	148-146
C <sub>3</sub> e C <sub>4</sub> não eterificados	148-146
C <sub>1</sub> em G e S eterificados e não eterificados	137-131
C <sub>6</sub> em G	120
C <sub>5</sub> de G	115
C <sub>2</sub> em G (C-H)	112
C <sub>4</sub> de carboidratos (CHOH)	88;84
C $\beta$ -OR	86-82
C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> e C <sub>5</sub> de carboidratos (CHOH)	75;72
C $\alpha$ -OH em C $\beta$ com $\beta$ -O-4	73
C <sub>6</sub> de carboidratos (CH <sub>2</sub> OH)	65;63
C $\gamma$ -OH	64-60
-OCH <sub>3</sub>	57-55
C alifático não ligado a oxigênio	52-15
C $\alpha$ ,C $\beta$ com instauração (C=C)	31-29
CH <sub>3</sub> de hemicelulose	21,6

S = unidade siringil, G = unidade guaiacil

Os espectros das ligninas de caule, raiz central e secundária obtidas pela norma T264 cm-97 estão apresentados na FIGURA 4.9, com distinção de cada amostra.

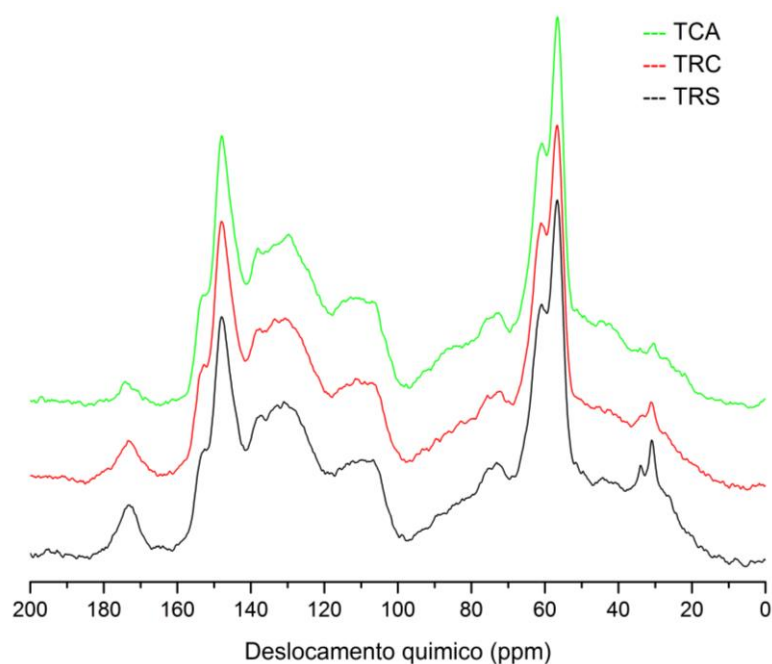


FIGURA 4.9 - Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN das ligninas de caule (TCA), raiz central (TRC) e secundária (TRS) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

Para a discussão, o espectro de caule (FIGURA 4.10) será utilizado como base, devido à similaridade entre os espectros de caule, raiz central e raiz secundária.

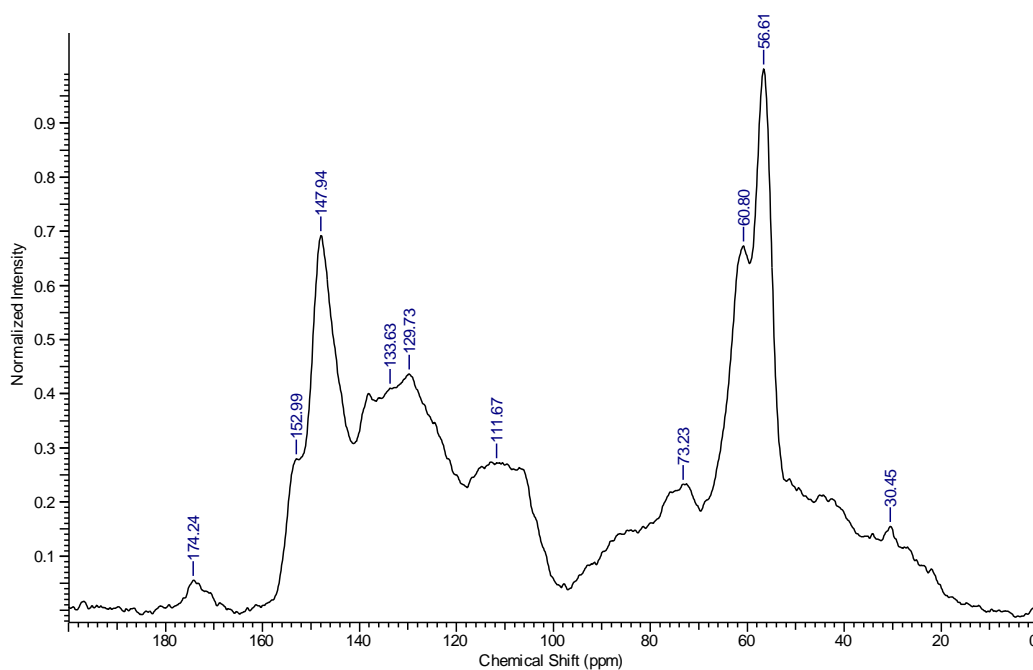


FIGURA 4.10 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97

O espectro da FIGURA 4.10 revela a presença do deslocamento químico em 30,46 ppm, que é referente aos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  de grupos metilênicos, não ligados a oxigênio, na cadeia propanóide. A presença de metoxila também é verificada no deslocamento 56,39 ppm, pois a faixa de deslocamento de grupos  $-\text{OCH}_3$  se encontra de 55 a 57 ppm (SALIBA et al., 2001). Os sinais em 60,80 e 73,23 ppm são referentes ao deslocamento do  $\text{C}_\gamma\text{-OH}$  e  $\text{C}_\gamma\text{-OH}$  com ligação no  $\text{C}_\beta$  do tipo  $\beta\text{-O-4}$ , respectivamente (MARTÍNEZ et al., 1999).

A partir de 110 a 170 ppm está a região de carbonos no esqueleto aromático. O deslocamento em 111,67 está relacionado ao  $\text{C}_2$  e 114,7 ppm ao  $\text{C}_5$  da unidade guaiacila, em 129,73 e 133,63 ppm aos  $\text{C}_1$  de anel guaiacil e siringil. Em 147,94 ppm o deslocamento é referente aos  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  do anel guaiacil e  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_5$  não eterificados do anel siringil, sendo comumente empregado ao carbonos do monômero G. Já o deslocamento em 152,99 ppm está relacionado aos  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_5$  eterificados do anel siringil (ANGELINI et al., 2016).

Os resultados descritos mostram os sinais comuns para a lignina em análises por RMN, autenticando a amostra como lignina. A inexistência ou baixa intensidade de sinais entre 90 e 102 ppm indicam baixa concentração de açúcares residuais, da mesma forma para a hemicelulose com os sinais na região 170-175 ppm e em 20 ppm, porém com sutil intensidade neste último deslocamento (HAGE et al., 2009; HOLTMAN et al., 2010). O sinal em 174,24 ppm ainda pode indicar o  $\text{C}_\alpha$  com ligação  $\text{C}=\text{O}$ , aparecendo como último sinal no espectro (ANGELINI et al., 2016). Para lignina Klason é comumente encontrado até 5% de carboidratos residuais. Os dados do infravermelho também são condizentes com os encontrados através do RMN, confirmando a presença das unidades guaiacila e siringila.

Os espectros das amostras de lignina do caule, raiz central e secundária livre de extrativos a partir da norma T280 pm-99, estão apresentados na FIGURA 4.11, com distinção de cada amostra.



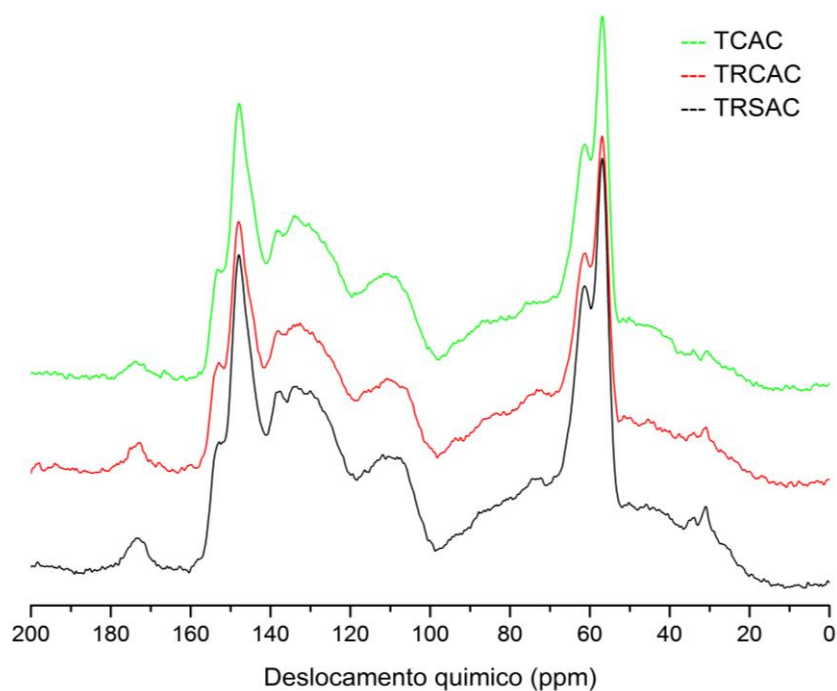


FIGURA 4.11 - Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN das ligninas de caule (TCAC), raiz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.

Na discussão das lignina livre de extrativos pela norma T280 pm-99 será utilizado o espectro referente ao caule (FIGURA 4.12), devido à similaridade do espectros obtidos entre o caule, raiz central e secundária.

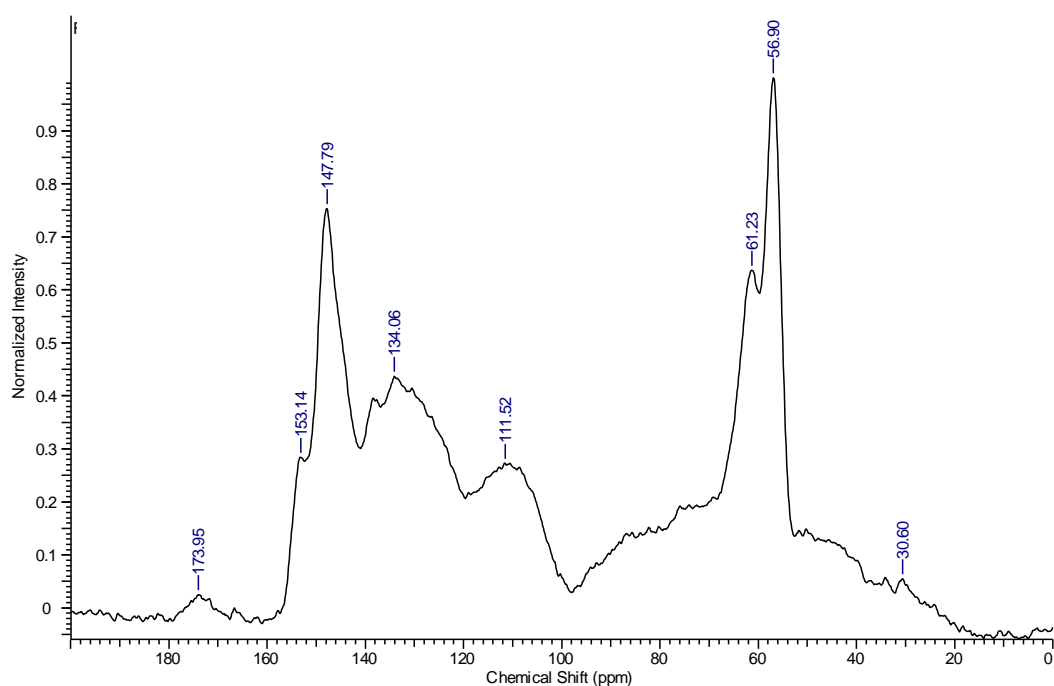


FIGURA 4.12 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99

Os deslocamentos encontrados nos espectros das ligninas livre e extrativas pela norma T280 pm-99 foram similares aos encontrados pela norma T264 cm-97 descritos anteriormente para o espectro na FIGURA 4.10. O deslocamento químico em 30,60 ppm é referente aos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  de grupos metilênicos, não ligados a oxigênio, na cadeia propanóide. A presença de metoxila também pode ser verificada no deslocamento 56,90 ppm, pois a faixa de deslocamento de grupos  $-\text{OCH}_3$  se encontra na faixa de 55 a 57 ppm (SALIBA et al., 2001). O sinal em 61,23 ppm é referente ao deslocamento do  $\text{C}_\gamma\text{-OH}$  (MARTÍNEZ et al., 1999).

A partir de 110 a 170 ppm é possível encontrar a região de carbonos do esqueleto aromático. O deslocamento em 111,52 ppm está relacionado ao  $\text{C}_2$  da unidade guaiacila e 134,06 ppm ao  $\text{C}_1$  do anel guaiacil e siringil. Em 147,79 ppm o deslocamento refere-se ao  $\text{C}_4$  do anel guaiacil e  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_5$  não eterificados do anel siringil, sendo indicativos de carbonos do monômero G. O deslocamento em 152,99 ppm é relacionado aos  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_5$  eterificados do anel siringil (ANGELINI et al., 2016).

A inexistência ou baixa intensidade de sinais entre 90 e 102 ppm também indicam baixa concentração de açúcares residuais para a lignina obtida pela norma T280 pm-99, da mesma forma para a hemicelulose com os sinais na região 170-175 ppm e em 20 ppm, porém com sutil intensidade neste último deslocamento (HAGE et al., 2009; HOLTMAN et al., 2010). O sinal em 173,95 ppm ainda pode indicar o  $\text{C}_\alpha$  com ligação  $\text{C}=\text{O}$  (ANGELINI et al., 2016). Os dados do infravermelho também foram condizentes com os encontrados através do RMN, confirmando a presença das unidades guaiacila e siringila.

Os espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN das ligninas de caule, raiz central e secundária da madeira de laranjeira obtidas pela polpação alcalina estão apresentadas na FIGURA 4.13.

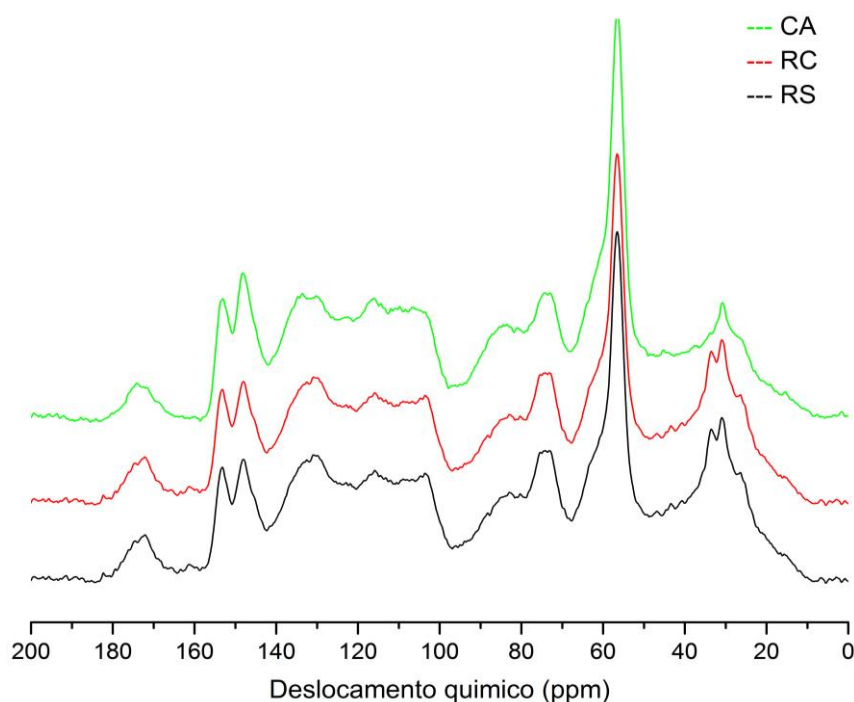


FIGURA 4.13 - Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN das ligninas de caule (CA), raiz central (RC) e secundária (RS) da madeira de laranjeira, obtidas pela polpação alcalina

O espectro das ligninas obtidas pela polpação alcalina também apresentaram similaridade, por isso o espectro da lignina de caule será utilizada para discussão, apresentado na FIGURA 4.14.

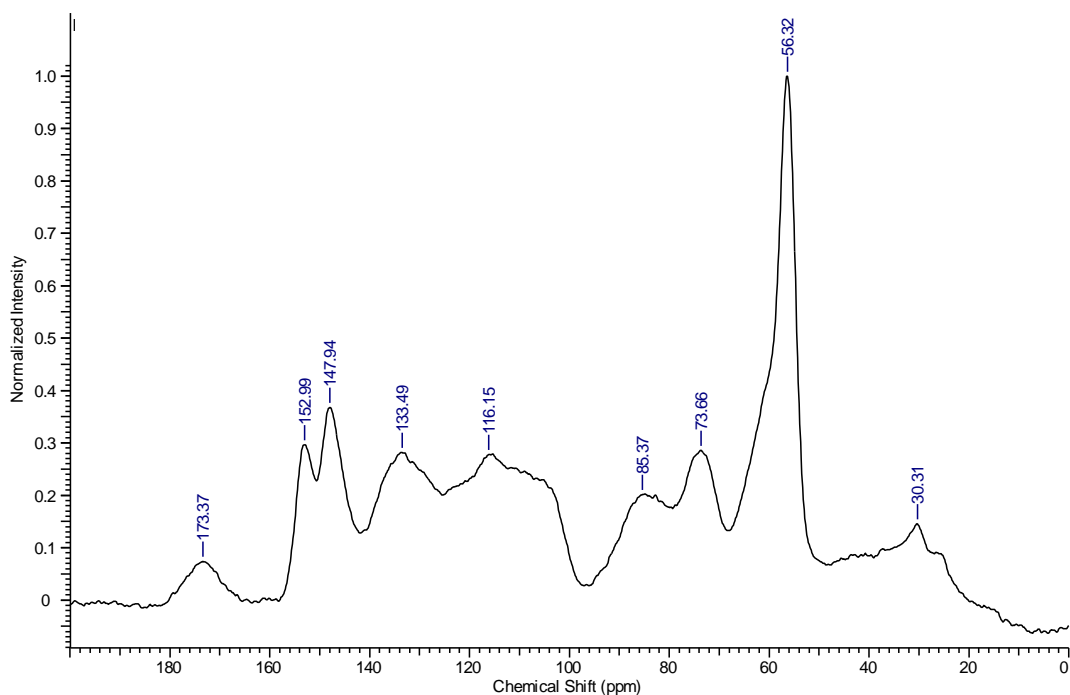


FIGURA 4.14 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida pela polpação alcalina

O sinal do deslocamento em 56,32 ppm é característico da ligação C-O de grupo metoxila (-OCH<sub>3</sub>), confirmando a presença de metoxila na estrutura. O deslocamento químico em 30,31 ppm é referente aos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  de grupos metilênicos, como descritos para as outras ligninas. Em 73,66 e 85,37 ppm são referentes ao deslocamento do C $\gamma$ -OH com ligação no C $\beta$  do tipo  $\beta$ -O-4 e do C $\beta$ -OR, respectivamente (MARTÍNEZ et al., 1999).

Na região de aromáticos em 116,15 e 133,49 ppm são relacionados ao C<sub>5</sub> de unidades guaiacila e ao C<sub>1</sub> de unidades guaiacila ou siringila, respectivamente. O deslocamento em 147,94 ppm é característico da ligação C-O do anel guaiacil e em 152,99 ppm é referente a ligação C-O de anéis siringil (C<sub>3</sub> e C<sub>5</sub>), com maior deslocamento químico em relação ao anel guaiacil devido àquele apresentar as duas posições C<sub>3</sub> e C<sub>5</sub> metoxiladas, grupo que aumenta o deslocamento devido à eletronegatividade do oxigênio que interfere desblindando o campo eletromagnético nos carbonos citados (PU et al., 2013; ANGELINI et al., 2016).

A lignina alcalina do caule mostrou sinais fracos na região de 170-175 ppm, revelando a presença de C $\alpha$  com grupo carbonila. O deslocamento próximo a linha de base em 20 ppm, referente a porções acetiladas da hemicelulose (vide FIGURA 1.7), mostra que o sinal em 173,37 ppm não é referente a hemicelulose. Além disso, a lignina alcalina apresentou-se com média intensidade em 85,37 ppm, mostrando a presença maior de ligações  $\beta$ -O-4 em C $\beta$ -OR.

A análise <sup>1</sup>H RMN foi realizada com a lignina de caule obtida pela polpação alcalina, devido a solubilidade desta em DMSO. O espectro é apresentado na FIGURA 4.15.

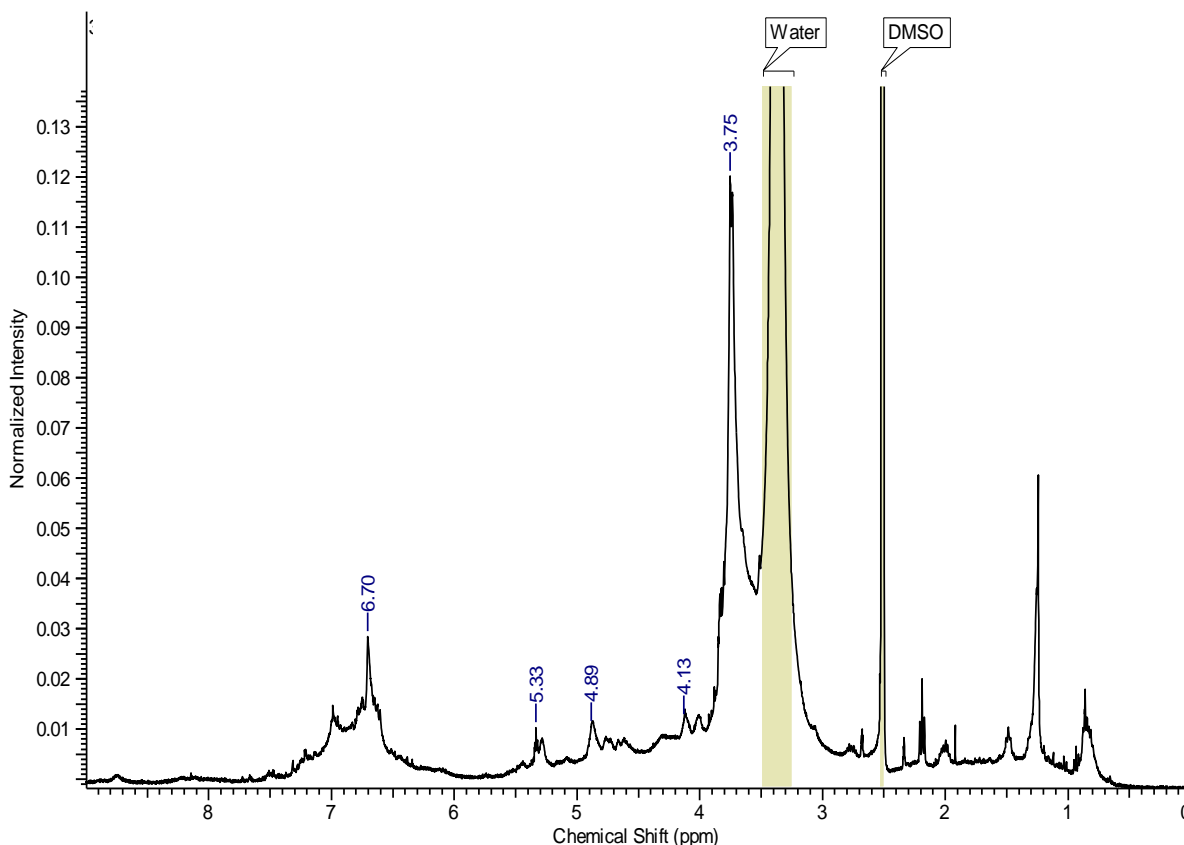


FIGURE 4.15 –  $^1\text{H}$  RMN da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida pela polpação alcalina

O sinal de deslocamento em 3,36 e 2,5 ppm são referentes à água e ao DMSO, respectivamente. Já em 3,75 ppm é possível verificar o sinal referente a H de grupos metoxila ( $-\text{OCH}_3$ ) e em 6.70 ppm sinais dos hidrogênios dos anéis aromáticos. Ainda é possível verificar sinais de hidrogênios ligados aos carbonos da cadeia propanóide, como em 4,13 ppm, referente ao  $\text{H}_\beta$  no  $\text{C}_\beta$  em ligação  $\beta\text{-O-4}$ , em 4,89 ppm referente ao  $\text{H}_\alpha$  no  $\text{C}_\alpha$  em ligação  $\beta\text{-O-4}$  e em 5,33 ppm referente ao  $\text{H}_\alpha$  em estruturas de fenilcoumaranas (FIGURA 1.5), mostrando que este tipo de ligações estão presentes na estrutura da lignina obtida por polpação alcalina (PU et al., 2013).

Para comparação, está apresentado na FIGURA 4.16 os espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN das ligninas de caule obtidas pelos diferentes métodos utilizados nesse estudo.

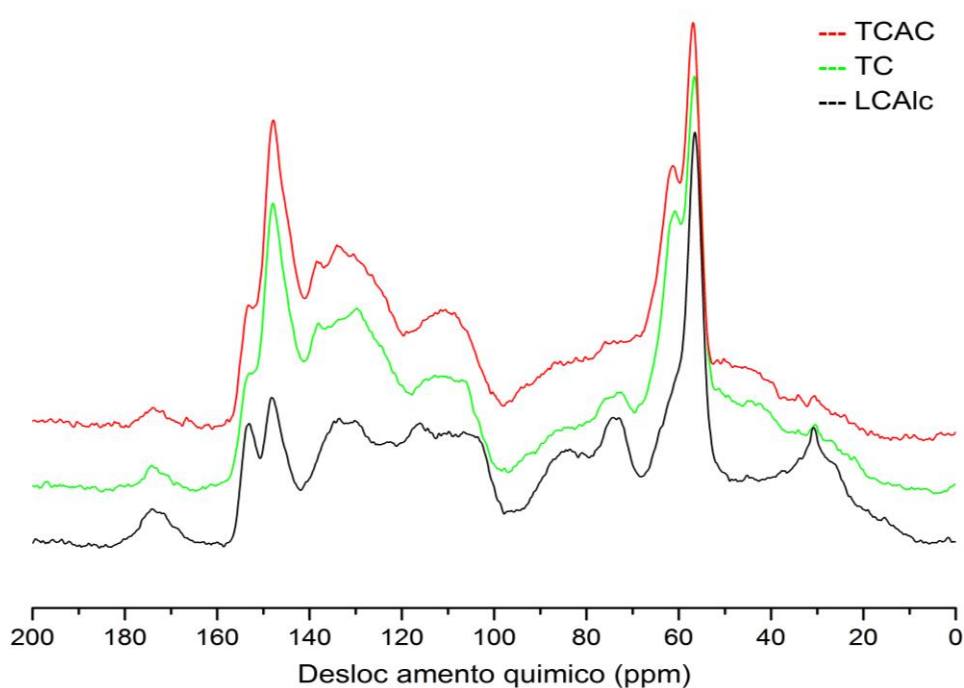


FIGURA 4.16 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de ligninas de caules livre de extrativos pela norma T280 pm-99 (TCAC), livre de extrativos pela norma T264 cm-97 (TC) e obtida por polpação alcalina (LCAIc).

### 4.5.3 - Análise térmica

#### 4.5.3.1 - Calorimetria Diferencial de Varredura

A análise de Calorimetria Diferencial de Varredura foi realizada nas ligninas de caule, raíz central e secundária livres de extrativos pelas normas T264 cm-97 e T280 pm-99, como para a lignina de caule obtida pela polpação alcalina. Foi possível encontrar a transição vítrea para todas as amostras ( $T_g$ , do inglês *glass transition*) e assim verificar com mais detalhes as características das ligninas analisadas.

O DSC das ligninas obtidas pela norma T264 cm-97 foram realizadas em dois ciclos, dados do segundo ciclo estão na FIGURA 4.17.

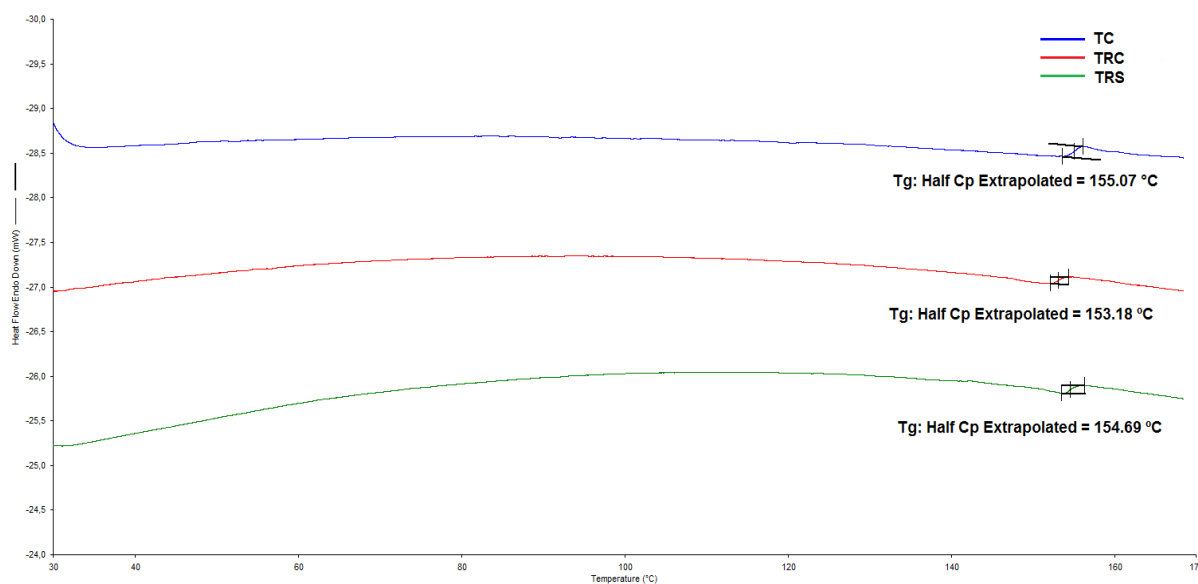


FIGURA 4.17 – DSC do segundo aquecimento das ligninas de caule (TC), raiz central (TRC) e secundária (TRS) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

Os DSC das amostras de ligninas TC, TRC e TRS apresentaram elevada e sutil transição vítrea, com média de 154,31°C. O valor médio encontrado para a tg encontra-se dentro da faixa de 90°C à 180°C, encontrado para lignina (GORDOBIL et al., 2016). O elevado peso molecular, alta rigidez e a complexidade da cadeia levam a sutil transição vítrea, o que pode explicar tais transições observadas nas análises dessas ligninas. Isso ocorre de maneira diferente em polímeros olefínicos simples, por exemplo, com cadeia simples e menor peso molecular. A presença de grupo lateral volumoso pode levar ao ancoramento da cadeia polimérica, exigindo maior energia para adquirir mobilidade (que é o ponto da transição vítrea), juntamente com a possível recondensação da lignina em meio ácido. Essas características podem explicar o comportamento em relação a sua solubilidade, devido o sólido estar reticulado e com entrecruzamentos de cadeias, contendo poucas regiões para uma possível interação com o solvente. A solvatação é dificultada e uma pequena fração da lignina é solubilizada devido sua compactação e menor número relativos de cadeias terminais livres (CANEVAROLO, 2006; LUCAS et al., 2001). As ligações interunidades dos monômeros da lignina podem levar as estruturas de

maior compactação. Segundo Oliveira (2015), as condensações na estrutura da lignina estão relacionadas, principalmente, às ligações do tipo 5-5,  $\beta$ -5 e  $\beta$ -1 entre as unidades fenilpropanóides que podem ocorrer na hidrólise ácida (vide FIGURA 1.5).

Devido à similaridade das diferentes ligninas, o DSC do primeiro aquecimento da raiz central (FIGURA 4.18) será utilizado para a discussão. Os demais DSC estão no APÊNDICE A.

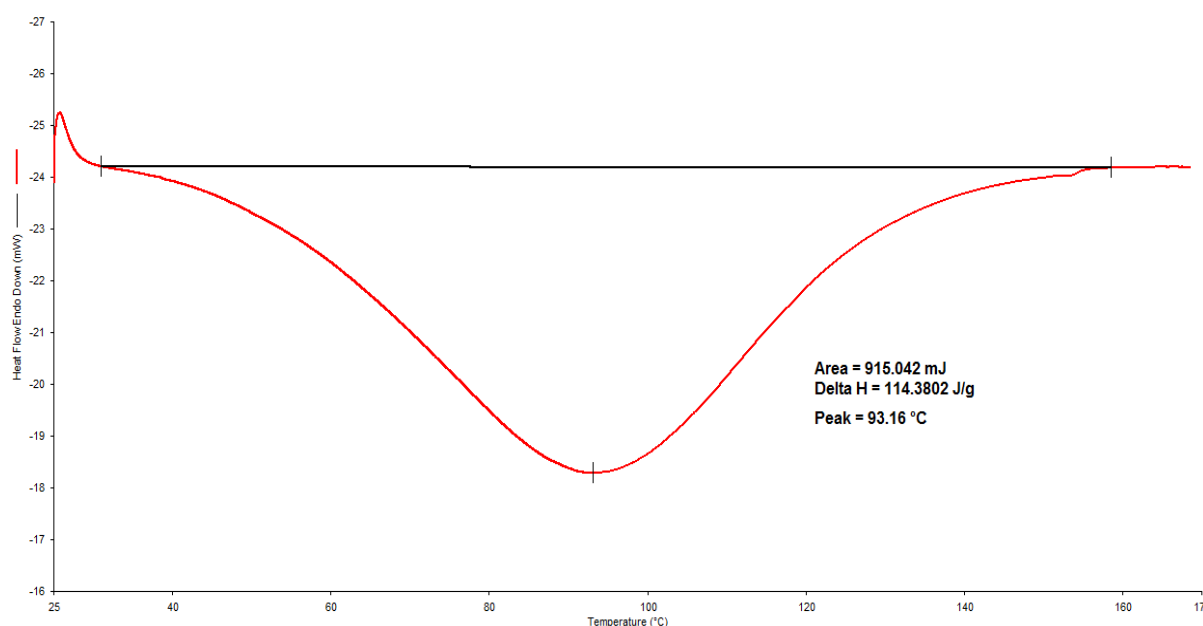


FIGURA 4.18 – DSC do primeiro aquecimento da lignina de raiz central da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97

O primeiro aquecimento foi realizado para apagar a história térmica das amostras. A história térmica está relacionada aos processos de aquecimento e resfriamento em que a amostra foi submetida antes da análise térmica. O DSC inicial também permite verificar se há resíduos e umidade, que foi verificado devido a região do seu ponto de ebulição (PE) apresentado, com o ponto máximo no gráfico de 93,16°C. Nessa faixa de temperatura os produtos de degradação e solventes de PE relativamente baixos são evaporados, permitindo uma análise posterior do polímero com maior pureza (BANNACH e PERPÉTUO, 2011; STRABELLI et al., 2014).



As análises por DSC das ligninas de caule, raiz central e secundária obtidas pela norma T280 pm-99 também foram realizadas em dois ciclos, onde o segundo é apresentado na FIGURA 4.19.

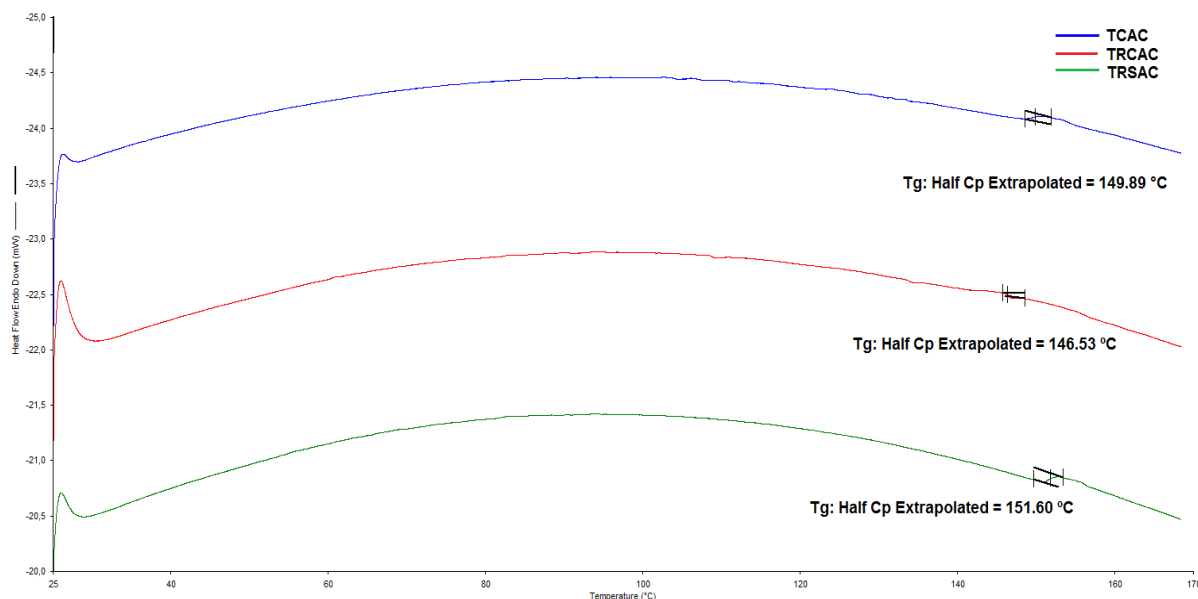


Figura 4.19 – DSC do segundo aquecimento das ligninas de caule (TCAC), raiz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99

As análises das amostras TCAC, TRCAC e TRSAC apresentaram uma transição vítrea próxima, com uma média em 149,34°C. As Tg das amostras T280 pm-99 apresentaram-se com uma pequena diferença em relação às ligninas obtidas pela norma T264 cm-97. O elevado valor da transição pode ser também explicado pelo elevado peso molecular, a complexidade da estrutura da lignina (com emaranhado de ligações) e consequente rigidez, como abordado para as amostras obtidas pela norma T264 cm-97 (CANEVAROLO, 2006; LUCAS et al., 2001).

Devido à similaridade dos diferentes das ligninas, o DSC do primeiro aquecimento da raiz central (FIGURA 4.20) será utilizado para a discussão. Os demais DSC estão no APÊNDICE B.

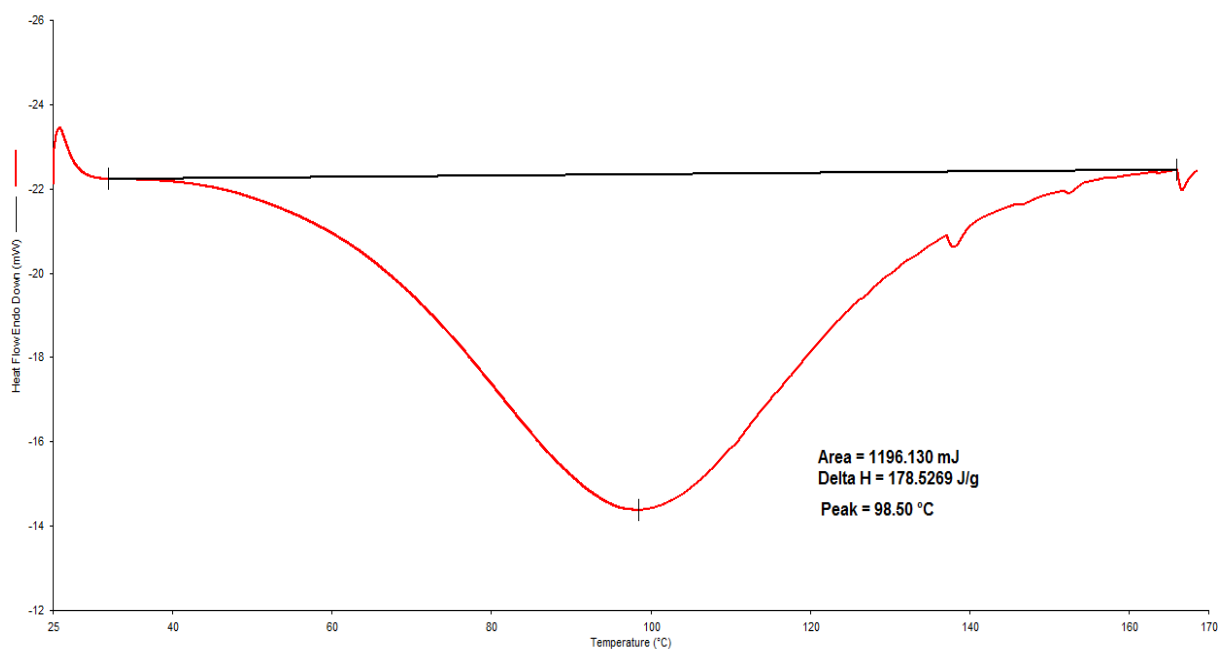


FIGURA 4.20 – DSC do primeiro aquecimento para a lignina de raíz central da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99

O primeiro aquecimento também foi realizado para a obtenção de um DSC (do segundo aquecimento) livre da história térmica. A região de máxima foi encontrada em 98,50°C. Essa região indica umidade na amostra e a região próxima a 140°C pode estar relacionada a contaminantes, como a metilcelulose (carboidrato) que apresenta Tg próxima a essa temperatura (CARRACEDO et al., 2003). A faixa de temperatura de 0 a 170°C os produtos de degradação e solventes de PE relativamente baixos são evaporados, permitindo uma análise posterior do polímero com maior pureza (BANNACH et al., 2011; STRABELLI et al., 2014).

A lignina de caule, obtida pela polpação alcalina, também foi analisada para a verificação de suas características. Devido à similaridade entre as amostras livres de extrativos pelas normas T264 cm-97 e T280 pm-99 e pelo caule estar em maior quantidade como biomassa na indústria, foi utilizado a lignina alcalina de caule para avaliação por DSC (FIGURA 4.21).

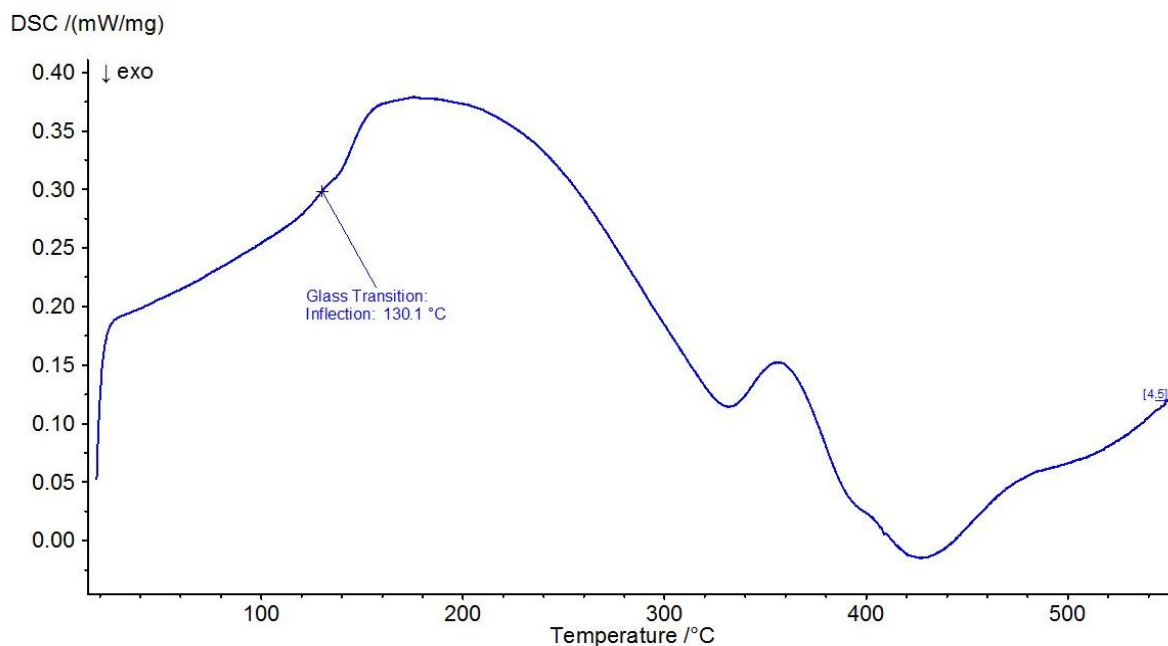


FIGURA 4.21 – DSC da lignina de caule da madeira de laranjeira, obtida pela polpação alcalina

O DSC da lignina do caule foi realizado na faixa de 0 a 550°C e apresentou uma transição vítrea em 130,1°C. O menor valor de Tg, quando comparado as ligninas dos processos anteriores, mostra que a lignina possui menor peso molecular e complexidade inferior. A ausência de um grande emaranhamento entre os monômeros podem ser confirmada pela sua solubilidade em solvente orgânico, pois foi possível solubilizar 20 mg da lignina alcalina em 1 mL de dimetilsulfóxido (LUCAS et al., 2001; CANEVAROLO, 2006). Outro ponto interessante é a presença de duas regiões diferentes de mudança de entalpia (próximo a 190 °C e 360 °C), que pode estar relacionado a diferentes porções da lignina devido a diferentes quebras na cadeia polimérica quando a hidrólise é realizada. Isso pode ocorrer porque a hidrólise não é específica para a quebra do polímero em porções específicas.

#### 4.5.3.2 – Termogravimetria

As análises por termogravimetria (TGA) foram realizadas nas amostras de lignina de caule, raiz central e secundária livres de extrativos pelas normas T264 cm-97 e T280 pm-99. Foi possível encontrar as temperaturas em

que a velocidade de decomposição é máxima (através da DTG) das ligninas analisadas.

As curvas dos DTG (termogravimetria derivativa) para as amostras de ligninas de caule, raiz central e secundária obtidas pela norma T264 cm-97 estão apresentadas na FIGURA 4.22.

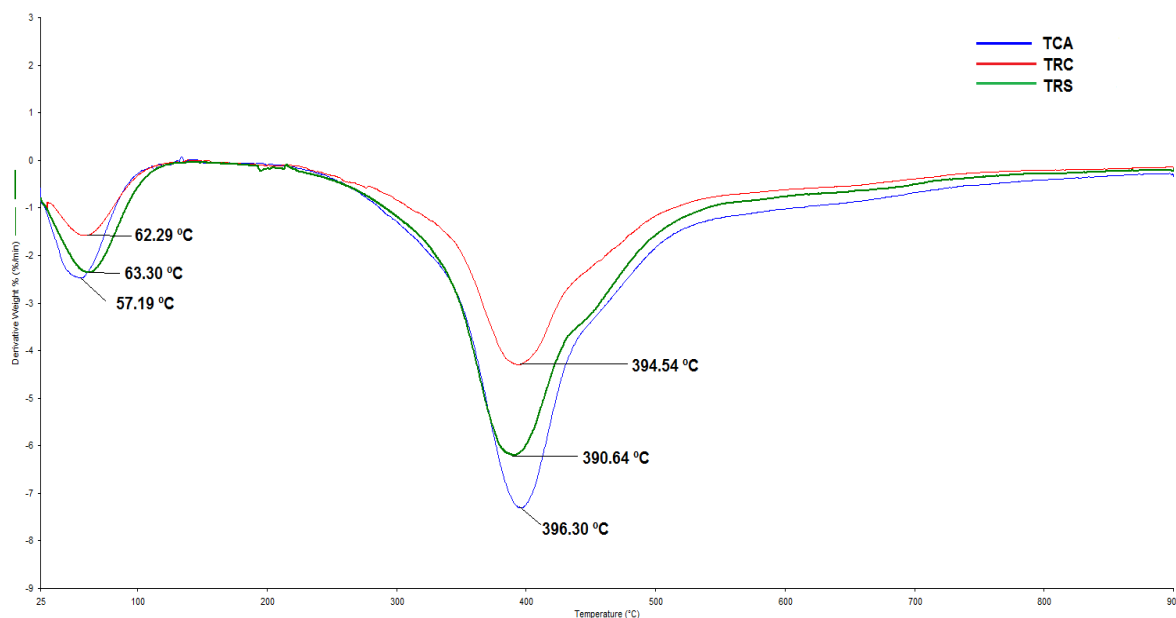


Figura 4.22 – DTG das ligninas de caule (TCA), raiz central (TRC) e secundária (TRS) da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97

As DTG das diferentes ligninas apresentaram-se com similaridade, sendo possível visualizar os mesmo máximos. A primeira região da temperatura onde a velocidade da decomposição é máxima foi encontrada com a média de 60,93°C, estando relacionada a resíduos como solventes e estruturas de grande volatilidade. A segunda região apresentou média de 393,83°C, podendo ser atribuído a degradação da lignina. Segundo Marabezi (2014), diversos processos de degradação desse polímero ocorrem a partir de 300°C, como na quebras de interunidades envolvendo os monômeros da lignina, resultando na perda de fenóis e até a própria degradação destas estruturas. As TGs da lignina de caule e da raiz estão no APÊNDICE C.

Os resultados das curvas DTG das ligninas obtidas pela norma T280 pm-99 estão apresentadas na FIGURA 4.23.

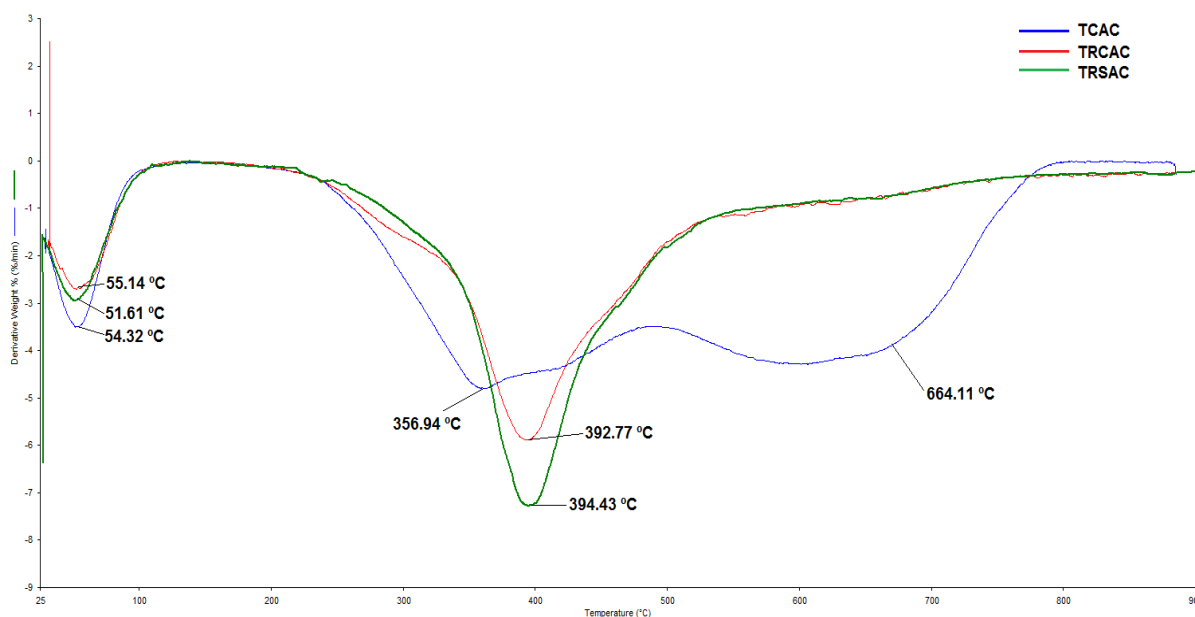


FIGURA 4.23 - DTG das ligninas de caule (TCAC), raiz central (TRCAC) e secundária (TRSAC) de madeira da laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99

As DTG das diferentes ligninas apresentaram-se com similaridade entre aquelas de raízes, sendo possível visualizar os mesmos máximos e com menor similaridade em relação ao caule. A primeira região da temperatura onde a velocidade da decomposição é máxima foi encontrada com a média inferior as ligninas da FIGURA 4.21, sendo de 53,69°C. Essa temperatura de decomposição também está relacionada a estruturas voláteis, como solventes. A segunda região apresentou média de 393,83°C entre as ligninas das raízes, podendo ser atribuído a degradação destas, como na quebras de interunidades envolvendo os monômeros da lignina, resultando na perda de fenóis e até a própria degradação destas estruturas (MARABEZI, 2014). A lignina de caule apresentou uma segunda região em 356,94°C e uma terceira em 664,11°C. A segunda região é também atribuída a degradação da lignina em suas interunidades e a terceira região pode estar relacionado a degradação de uma porção maior do polímero ou de porções com enxofre, este advindo da hidrólise ácida ao utilizar H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Essas porções podem apresentar maior temperatura de

degradação (MARABEZI, 2014). As TGs das ligninas de caule e raiz podem ser encontradas no APÊNDICE D.

#### 4.5.4 - Análise Elementar

As amostras de ligninas de caule, raiz central e secundária obtidas pela norma T264 cm-97, assim como as ligninas de caule livre de extrativos pela norma T280 pm-99 e pela polpação alcalina foram analisadas em relação a sua composição elementar, buscando verificar a composição comum característica de lignina encontrada na literatura. Os valores obtidos pela análise elementar do caule livre de extrativos pela norma T264 cm-97 de carbono, hidrogênio, enxofre e nitrogênio, bem como o valor de oxigênio, obtido pela subtração dos valores encontrados para os outros elementos, estão descritos na TABELA 4.17.

TABELA 4.17 – Composição elementar da lignina de caule, raiz central e raiz secundária de madeira da laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97

	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)
Caule	59.01	4.74	33.75	2.24	0.26
Raiz central	60.07	5.33	29.11	4.99	0.49
Raiz secundária	59.09	4.93	31.71	3.02	1.25

A porcentagem média de carbono em lignina é de 60%, em relação aos monômeros característicos, e para carbono de polissacarídeo é cerca de 44%. Segundo Fengel e Wegener (1984), carboidratos podem estar presentes como contaminantes de 2 a 5% do valor da lignina, dependendo do método de isolamento.

Os valores de carbono das amostras estão dentro de uma faixa de 59 a 60%. Esta faixa está próxima dos valores dos monômeros da lignina na unidade siringila (57,9%) e guiacila (60,9%).

Porém, segundo Marabezi (2009), os teores de enxofre comumente são provenientes da hidrólise com ácido sulfúrico numa etapa de sulfatação da lignina, já que a lignina nativa não apresenta enxofre em sua estrutura. Considerando que o enxofre presente na amostra é derivado do  $H_2SO_4$ , as porcentagens de C, H, O e N foram recalculadas desconsiderando a porcentagem do enxofre (TABELA 4.18).

TABELA 4.18 - Composição elementar (C, H, O e N) da lignina de caule, raiz central e raiz secundária de madeira da laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97 com supressão do teor de enxofre

	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)
Caule	59.16	4.75	30.10	2.24
Raiz central	60.36	5.36	29.25	5.01
Raiz secundária	60.93	5.08	32.70	3.06

Os valores da composição elementar corrigidos das amostras de caule, raiz central e secundária mostram teores maiores de carbono, o que confirma a ausência ou pequena contaminação por polissacarídeos.

As ligninas de caule livre de extrativos pela norma T280 pm-99 e pela polpação alcalina também foram avaliadas pela análise elementar para uma comparação. Os resultados estão expressos na TABELA 4.19.

TABELA 4.19 – Ligninas de caule da madeira de laranjeira livre de extrativos pela norma T280 pm-99 e obtida pela polpação alcalina

	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)
Lignina T280	59.83	5.05	33.05	1.84	0.23
Lignina alcalina	55.99	5.19	35.90	2.82	0.10

Os resultados para as ligninas de caule obtidos pela norma T280 pm-99 e polpação alcalina apresentaram-se próximos a porcentagem média de 60% de carbono. A Lignina T280 apresentou valores de C, H, O e N muito próximos à lignina de caule obtidos pela norma T264 cm-97. Já o teor de carbono para a lignina alcalina apresentou-se próxima ao teor encontrado em monômeros siringila (57,9%) e pode apresentar uma pequena diferença devido a presença de carboidratos, que desloca esse valor para baixo.

#### **4.5.5 - Microscopia Eletrônica de Varredura**

A Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada com as ligninas de caule, raiz central e secundária obtida pela polpação alcalina, visando a caracterização dessas ligninas para uma possível aplicação industrial ou de pesquisa. As análises estão apresentadas com aproximações de 2000x e 5000x para as ligninas na FIGURA 4.24.



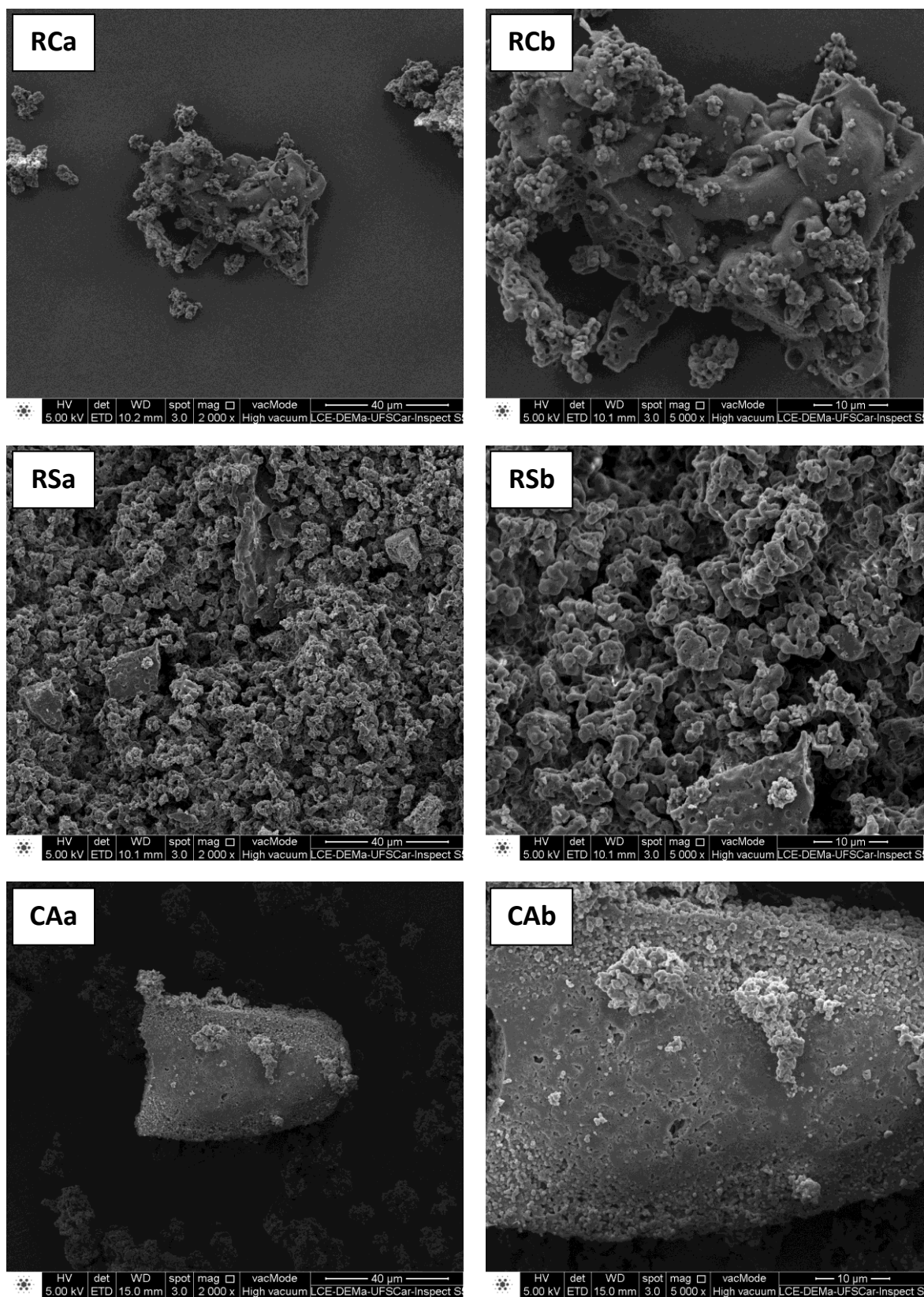


FIGURA 4.24 – Micrografias das ligninas de raiz central (RCa e RCb), raiz secundária (RSa e RSb) e caule (CAa e CAb) obtidas pela polpação alcalina, com aumentos de: 2000x (RCa, RSa e CAa) e 5000x (RCb, RSb e CAb).

As ligninas obtidas pela polpação alcalinas apresentaram similaridade morfológica entre si, sendo possível verificar a semelhança na FIGURA 4.25. O MEV mostra que as ligninas das diferentes partes da planta, isto é, caule, raiz central e secundária, apresentam as mesmas características microscópicas e sem uma forma específica.

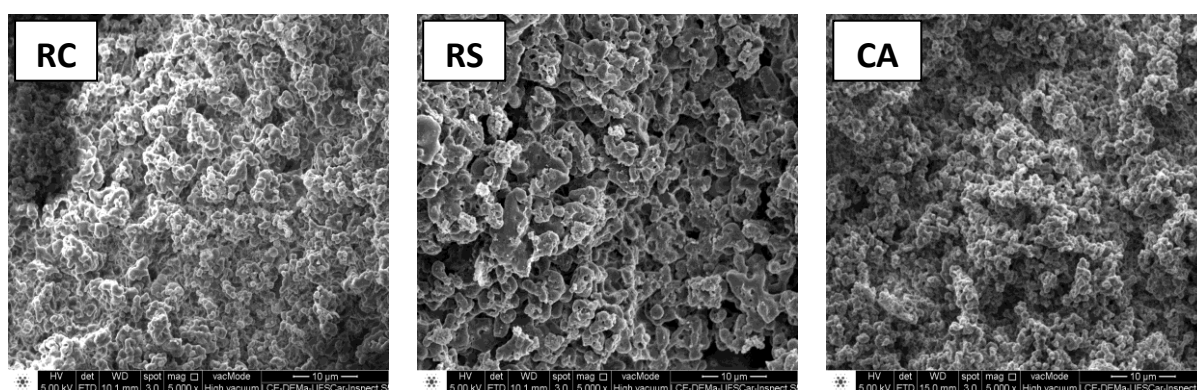


FIGURA 4.25 – Micrografias das ligninas de raiz central (RC), raiz secundária (RS) e caule obtidas pela polpação alcalina, com aumento de: 5000x

Pela FIGURA 4.23 é possível observar que todas as ligninas analisadas por MEV apresentaram uma estrutura porosa, mostrando que há diversas cavidades nas amostras em questão (COSTA et al., 2017; CARVALHO e FROLINI, 1999). Essa característica mostra-se interessante para uma aplicação dessas ligninas para encapsulamento de materiais, como na formulação de micropartículas, visto que essas cavidades podem auxiliar na retenção de moléculas, como pesticidas naturais (COSTA, 2014; PERLATTI et al., 2013).

## 5 – CONCLUSÃO

Ligninas foram extraídas a partir do bagaço de laranja, caule, raíz central e secundária de madeira de laranjeira, materiais coletados em empresa de produção de fruto e suco de laranja. Foi possível quantificar e avaliar a lignina de biomassa de *Citrus*, nas diferentes porções da planta, como também uma extração viável industrialmente para obtenção dessa macromolécula.

O teor médio de 20% encontrado para as ligninas obtidas das amostras de caule, raíz central e raíz secundária livre de extrativos pela norma T264 cm-97, são condizentes com o encontrado na literatura para podas de laranjeiras (galhos) e para raízes de madeiras do tipo *hardwood*. A maior abundância de lignina na laranja foi encontrada na raíz central (21,88%), porção responsável pela sustentação da estrutura do vegetal juntamente a raíz secundária (19,39%) e ao caule (19,80%). O teor de 1,13% encontrado para lignina do bagaço de laranja mostrou-se condizente com o teor de lignina relatado na literatura para o mesmo.

Os valores de ligninas encontrados nas amostras de bagaço de laranja, caule, raíz central e raíz secundária da madeira de laranjeira livres de extrativos pela norma T280 cm-97 (proposta como alternativa), apresentaram valores próximos às ligninas das amostras obtidas pela norma T264 cm-97. Apesar de utilizar solventes mais verdes na obtenção dos extrativos, este método não é conclusivo para a quantificação de lignina em *Citrus sinensis*. Porém sua utilização pode ser aplicada à análises de quantidades relativas, pois suas características físico-químicas são similares às ligninas obtidas pela norma T264 cm-97.

As ligninas obtidas pela norma TAPPI apresentaram-se como um emaranhado de monômeros, com prováveis ligações cruzadas que a tornam um sólido reticulado, dificultando sua solubilização em solventes orgânicos. A hidrólise ácida pode promover condensações de interunidades, levando a

formação de ligações do tipo 5-5,  $\beta$ -5 e  $\beta$ -1 entre as unidades de fenilpropanóides. Estas características foram confirmadas através das análises de DSC e TGA, pois as ligninas obtidas pela norma TAPPI apresentaram alto valor e sutil transição vítrea, além de valores elevados para a região de degradação máxima nas curvas da derivada termogravimétrica.

As ligninas das amostras de caule, raiz central e raiz secundária da madeira de laranjeira, obtidas pela polpação alcalina, apresentaram sinais característicos da lignina nas análises de infravermelho e RMN. A maior solubilidade das ligninas obtidas por esse processo em solventes orgânicos pode ser explicada pela maior degradação pela hidrólise básica, levando a formação de diferentes porções da estrutura da lignina. O DSC para a lignina de caule apresentou diferentes regiões de variação de entalpia próximo a 190°C e 360°C, indicando a presença de tamanhos diferentes do polímero na amostra. Além da solubilidade, a característica morfológica das ligninas obtidas pela polpação alcalina verificadas por MEV, aliado ao rendimento, mostraram que as mesmas são interessante para uma aplicação no encapsulamento de materiais e como matriz polimérica.

A caracterização das amostras de bagaço de laranja, caule, raiz central e secundária da madeira de laranjeira foi realizada, sendo verificado o teor de extrativos (normas TAPPI) e o teor de holocelulose através do método de oxidação da lignina. A holocelulose apresentou valores entre 70-80% dentro da faixa de holocelulose em ligninas de madeira do tipo *hardwood*.

Este estudo foi capaz de mostrar o potencial da biomassa cítrica (gerada na produção de fruto e suco de laranja) na obtenção de lignina a partir do caule e raiz de árvores de manejo. Os poucos estudos com biomassa a partir de *Citrus*, mostram esta com potencial aplicação na produção de papel que também pode levar a extração de lignina acoplado à obtenção de celulose.

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. E. Caracterização de Fibras Lignocelulósicas Pré-tratadas por Meio de Técnicas Espectroscópicas e Microscópicas Ópticas de Alta Resolução. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – USP, 2011. Dissertação de Mestrado, 115 p.

ALVES, P. R. B. MELO, B. Cultura dos citros. Artigo em hipertexto. Disponível em: <http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/citros2.htm>. Acesso em: 20/06/2017

ANDRADE, A. G.; SANTOS, D. J. Distribuição espacial das características tecnológicas do suco de laranja, 2007. Disponível em: <http://docplayer.com.br/11252950-Resumo-palavra-passe-solidos-soluveis-ratio-zoneamento-suco-de-laranja-abstract.html>. Acesso em: 25 nov. 2016.

ANGELINI, S. CERRUTI, P.; IMMIRZI, B.; SCARINZI, G.; MALINCONICO, M. Acid-insoluble lignin and holocelulose from a lignocellulosic biowaste: bio-filters in poly(3-hydroxybutyrate). *European Polymer Journal*, 76, 2016, p. 63-76.

ARAMI, M.; LIMAEE, N. Y.; MAHMOODI, N. M.; TABRIZI, N. S. Removal of dyes from colored textile wastewater by orange peel adsorbent: equilibrium and kinetic studies. *Journal of Colloid and Interface Science*, 288, 2005.

AVTAR, S. M.; MELO, E. M.; HOUGHTON, J. A. Opportunity for high value-added chemicals from food supply chain wastes. *Bioresource Technology*, 215, 2016, p 123-130.

BANNACH, G.; PERPÉTUO, G. L.; CAVALHEIRO, E. T. G.; CAVALHEIRO, C. C. S.; ROCHA, R. R. Efeitos da história térmica nas propriedades do polímero PET: um experimento para ensino de análise térmica. *Química Nova*, 34 (10), 2011, p. 1825-1829.

BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. Amsterdam, Elsevier, 2008, 552 p.

BERNARDINELLI, O. D.; LIMA, M. A.; REZENDE, C. A.; POLIKARPOV, I.; AZEVEDO, E. R. Quantitative <sup>13</sup>C multiCP solid-state NMR as a tool for evaluation of cellulose crystallinity index measured directly inside sugarcane biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 8 (110), 2015, p. 1-11.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). Disponível em: [http://www.mcti.gov.br/noticia/-/asset\\_publisher/epbV0pr6eIS0/content/o-](http://www.mcti.gov.br/noticia/-/asset_publisher/epbV0pr6eIS0/content/o-)

brasil-na-producao-global-de--  
alimentos;jsessionid=00CC83301056E3E6AD0848BDF61D5B5A. Acesso em:  
28 dez. 2015.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura. Disponível em:  
<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus>. Acesso em: 28 dez. 2015b.

BROWN, M. E.; GALLAGHER, P. K. "Introduction to recent advances, techniques and applications of thermal analysis and calorimetry". Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry. BROWN, M. E.; GALLAGHER, P. K. (Eds). Ohio, Ohio State University, vol. 5, 2008. p. 1-12.

CANEVAROLO, S. V. Ciência dos Polímeros. São Paulo, Ardiber Editora, 2 ed., 2006, 280 p.

CARRACEDO, A. A.; LORENZO, C. A.; AMOZA, J. L. G.; CONCHEIRO, A. Chemical structure and glass transition temperature of non-ionic cellulose ethers DS, TMDSC. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 73, 2003, p. 587-596.

CARVALHO, G.; FROLLINI, E. Lignina em espumas fenólicas. Polímeros, 1999, p. 66-75.

CHEN, H. Biotechnology of lignocellulose. Holanda, Springer, 2014, 510 p.

CHERUBININI, F. The biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. Energy conversion a Management, 51, 2010, p. 1412-1421.

CLARK, H. J.; BUDARIN, V.; DESWARTE, F. E. I.; HARDY, J. J. E.; KERTON, F. M.; HUNT, A. J.; LUQUE, E.; MACQUERRIE, D. J.; MILKOWSKI, K.; RODRIGUEZ, A.; SAMUEL, O.; TAVENER, S. J.; WHITE, R. J. WILSON, A. J. Green chemistry and the biorefinery: a partnership for a sustainable future. Green Chem., 2006.

COSTA, E. S. Nano-microencapsulados de Extrato de *Azadirachta indica* Usando Ligninas do Bagaço de Cana-de-açúcar: estabilidade e eficácia contra insetos pragas. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química – UFSCar, 2014. Tese de Doutorado, 140 p.

COSTA, E. S.; PERLATTI, B.; SILVA, E. M.; MATOS, A. P.; SILVA, M. F. G. F. S.; FERNANDES, J. B.; ZUIN, V. G.; SILVA, C. M. P.; FORIM, M. R. Use of lignins from sugarcane bagasse for assembling microparticles loaded with *Azadirachta indica* extracts for use as neem-based organic insecticides. J. Braz. Chem. Soc., 28, 2017, p. 126-135.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostra. Porto Alegre, EDIPUCRS, 2007, 60 p.

FAUSTINO, H.; GIL, N.; BAPTISTA, C.; DUARTE, A. P. Antioxidant activity of lignin phenolic compounds extracted from kraft and sulphite black liquors. *Molecules*, 15, 2010.

FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. New York, Walter de Gruyter, 1984, 613 p.

FERNANDES, B. C. Desenvolvimento histórico da citricultura. Araraquara, Curso de Graduação em Ciências Econômicas – UNESP. Trabalho de conclusão de curso, 43 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/save-food/resources/keyfindings/infographics/fruit/en/>. Acesso em: 03 nov. 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2011. Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Roma, Itália.

FU, L.; MCCALLUM, S. C.; MIAO, J.; HART, C.; TUDRYN, G. J.; ZHANG, F.; LINHARDT, R. J. Rapid and accurate determination of the lignina content of lignocellulosic biomass by solid-state nmr. *Fuel*, 145, 2015, p. 39-45.

FUNAOKA, M.; KAKO, T.; ABE, I. Condensation of lignina during heating of wood. *Wood Science and Technology*, 24, 1990, p. 277-288.

GOMES, F. J. B.; COLODETTE, J. L.; BURNET, A.; BATALHA, L. A. R.; SANTOS, F. A.; DEMUNER, I. F. Thorough characterization of brazilian new generation of eucalypt clones and grass for pulp production. *International Journal of Forestry Research*, 2015, p. 1-10.

GONCALVES, C. H. R. Solubilidade e Absorção de Água de Partículas da Madeira de *Corymbia citriodora* (hook.) K.D. HILL & L.A.S. Johnson e *Pinus* sp. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 2011. Monografia, 40 p.

GONZÁLEZ, Z.; ROSAL, A.; REQUEJO, A.; RODRÍGUEZ, A. Production of pulp and energy using orange tree prunings. *Bioresource Technology*, 102, 2011, p. 9330-9334.

GORDOBIL, O.; MORIANA, R.; ZHANG, L.; LABIDI, J.; SEVASTYANOVA, O. Assesment of technical lignins for uses in biofuels and biomaterials. *Industrial Crops and Products*, 83, 2016, p. 155-165.

GURGEL, L.V. A. Hidrólise Ácida do Bagaço de Cana-de-açúcar: estudo cinético de sacarificação de celulose para a produção de etanol. São Carlos, Instituto de Química de São Carlos – USP, 2010. Tese de Doutorado, 291 p.

HAGE, R. E.; BROSSE, N.; CHRUSCIEL, L.; SANCHEZ, C.; SANNIGRAHI, P.; RAGAUSKAS, A. Characterization of milled wood lignin and ethanol organosolv lignin from miscanthus. *Polymer Degradation and Stability*, 94, 2009, p. 1632-1638.

HALL, M. B. Methodological challenges in carbohydrate analyses. *R. Bras. Zootec.*, 36, 2007, p. 359-367.

HERNÁNDEZ, J. A. Lignina Organosolv de *Eucalyptus dunnii* MAIDEN, Alternativa para a Síntese de Adesivos de Poliuretano para Madeira. Curitiba, Pós-graduação em Engenharia Florestal – UFPR, 2007. Tese de Doutorado, 83 p.

HOLTMAN, K. M.; CHEN, N.; CHAPPEL, M. A.; KADLA, J. F.; XU, L.; MAO, J. Chemical Structure and Heterogeneity differences of Two Lignins from Loblolly Pine As Investigated by Advanced Solid-State NMR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 2010, p. 9882-9892.

IBRAHIM, M. N. M.; ZAKARIA, N.; SIPAUT, C. S.; SULAIMAN, O.; HASHIM, R. Chemical and thermal properties of lignins from oil palm biomass as a substitute for phenol in a phenol formaldehyde resin production. *Carbohydrate Polymers*, 86 (2011), p. 112–119.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC). Citros: principais informações e recomendações de cultivo. 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Estatística da Produção Agrícola, 2013.

KAMM, B.; KAMM, M. Biorefineries – multi product processes. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 105, 2007, p. 175-204.

KHAN, I. A. Citrus: genetics, breeding and biotechnology. Massachusetts, CABI, 2007, 384 p.

LEISOLA, M.; PASTINEN, O.; AXE, D. D.; Lignin – designed randomness. *Bio-complexity*, 3, 2012, p. 1-11.

LICANDRO, G.; ODIO, C. E. Citrus: The genus Citrus London. Taylor & Francis, 2002, cap. 11, p. 159-178.

LIN, C. S. K.; PFALTZGRAFF, L. H.; MUBOFU, E. B.; ABDERRAHIM, S.; CLARK, J. H.; KOUTINAS, A. A.; KOPSAHELIS, N.; STAMATELATOU,



- K.; DICKSON, F.; THANKAPPAN, S.; MOHAMED, Z.; BROCKLESBY, R.; LUQUE, R. Food waste as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels. Current situation and global perspective. *Energy & Environmental Science*, 6 (426), 2013.
- LOCHAB, B.; SHUKLA, S.; VARMA, I. K. Naturally occurring phenolic sources: monomers and polymers. *RSC Adv.*, 4, 2014, p. 21712-21752.
- LUCAS, E. F.; SOARES, G. B.; MONTEIRO, E. E. C. Caracterização de Polímeros. Rio de Janeiro, E-papers, 2001. 366 p.
- MAHRO, B.; TIMM, M. Potential of biowaste from the food industry as a biomass resource. *Eng. Life Sci.*, 7 (5), 457-468, 2007.
- MARABEZI, K. Estudo Sistemático das Reações Envolvidas na Determinação dos Teores de Lignina e Holocelulose em Amostras de Bagaço e Palha de Cana-de-açúcar. São Carlos, Instituto de Química – USP, 2009. Dissertação de Mestrado, p. 142.
- MARABEZI, K. Deslignificação de Bagaço de Cana-de-açúcar: Reações, Isolamento e Utilização de Ligninas. São Carlos, Instituto de Química – USP, 2014. Tese de Doutorado, p. 240.
- MARTÍNEZ, A. T.; ALMENDROS, G.; GONZÁLEZ-VILA, F. J.; FRUND, R. Solid-state spectroscopic analysis of lignins from several Austral hardwood. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 15, 1999, p. 41-48.
- MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. F.; MARCONCINI, J. M. Procedimentos para análise lignocelulósica. Documento 236, p.54, Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010.
- MORAL, A.; AGUADO, R.; MUTJÉ, P. TIJERO, A. Papermaking potential of citrus sinenses trimmings using organosolv pulping, chlorine-free bleaching and refining. *Journal of Cleaner Production*, 112, 2016, p. 980-986.
- NOVAES, E.; KIRST, M.; CHIANG, V.; WINTER-SEDEROFF, H.; SEDEROFF, R. Lignin and biomass: a negative correlation for wood formation and lignin content in trees. *Plant Physiology*, 154 (2), 2010, p 555-561.
- OLIVEIRA, F. M. Resíduos Agroindustriais como Adsorventes para Remoção de Azul de Metileno em Meio Aquoso. Catalão, Programa de Pós-graduação em Química – UFG, 2016. Dissertação de Mestrado, 143 p.
- OLIVEIRA, F. C. Oxidação de Lignina Proveniente de Resíduos Lignocelulósicos Agroindustriais para Obtenção de Compostos Químicos Aromáticos de Maior Valor Agregado. Lorena, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial – USP, 2015. Tese de doutorado, 199 p.

- OROZCO, S. R.; HERNÁNDEZ, P. B.; MORALES, G. R.; NÍÑEZ, E.; VILLAFUERTE, J. O.; LUGO, L. V.; RAMÍREZ, N. F.; DÍAZ, C. E. B.; VÁZQUEZ, P. C. Characterization of lignocellulosic fruit waste as an alternative feedstock for bioethanol production. *Bioresources*, 9(2), 2014, p. 1873-1885.
- PAIVA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVIAN, J. R. *Introdução à Espectroscopia*. São Paulo, Cengage Learning, 2015. 692 p.
- PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates: II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, 74, 2000, p. 25-33.
- PARFITT, J.; BARTHEL, M.; MACNAUGHTON, S. Food waste within food supply chains: quantification and potential for change to 2050. *Phil. Trans. R. Soc.*, 365, 3065-3081, 2010.
- PERLATTI, B.; FORIM, M. R.; ZUIN, V. G. Green chemistry, Sustainable Agriculture and processing Systems: a Brazilian Overview. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1(5), 2014.
- PERLATTI, B.; BERGO, P. L. S.; DA SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B.; FORIM, M. R. Polymeric Nanoparticle-based insecticides: a controlled release purpose for agrochemicals. *Insecticide – Development of Safer and More Effective Technologies*. Intech, 2013, cap. 20, p. 523-550.
- PETTERSEN, R. C. "The chemical composition of wood". IN: *The Chemistry of Solid Wood*. ROWELL, R. (Ed). Washington, American Chemical Society, 1984, p. 57-126.
- PFALTZGRAFF, L. A.; DE BRUYN, M.; COOPER, E. C.; BUDARIN, V.; CLARK, J. H. Food waste biomass: a resource for high-value chemicals. *Green Chem.*, 15(2), 2013.
- PU, Y.; HALLAC, B.; RAGAUSKAS, A. J. "Plant biomass characterization: application of solution and solid-state NMR spectroscopy". IN: *Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals*. WYMAN, C. E. (Ed). Chichester, John Wiley & Sons, 2013, p. 369-390.
- RAUF, A.; UDDIN, G.; ALI, J. Phytochemical analysis and radical scavenging profile of juices of *Citrus sinensis*, *Citrus anrantifolia* and *Citrus limonum*. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 4 (5), 2014.
- RUGGIERO, R.; MACHADO, A. E. H.; HOAREAU, W.; GARDRAT, C.; NOURMAMODE, A.; GRELIER, S.; CASTELLAN, A. Photodegradation of

sugarcane bagasse fibers. Influence of acetylation or grafting uv-absorber and/or hindered nitroxide radical on their photostability. J. Braz. Chem. Soc., 17 (4), 2006.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; MORAIS, S. A. L.; POLÓ-VELOSO, D. Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. Ciência Rual, 31 (5), 2001, p. 917-928.

SAMENI, J. K. Physico-Chemical Characterization of Lignin Isolated from Industrial Sources for Advanced Applications. Toronto, Faculty of Forestry – University of Toronto, 2015. Tese de doutorado, 204 p.

SANTOS, F.; CURVELO, A. A. S. Utilização de ligninas em resinas fenólicas. 1. Preparação de novolacas a partir de lignossulfonatos\*. Polímeros: ciência e tecnologia, 1999, 49-58 p.

SILVA, S. S.; CARVALHO, R. R.; FONSECA, J. L. C.; GARCIA, R. B. Extração e caracterização de xilanas de sabugos de milho. Polímeros: ciência e tecnologia, 1998, 25-33 p.

SILVA, J. G. S. PALLONE, J. A. L. “Otimização da etapa de mineralização para avaliação de cálcio, ferro, magnésio e zinco em bagaço de frutas cítricas utilizando planejamento experimental”. Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Gramado-RS, 2016.

SOUZA, P. P. Estudo do Perfil Químico de *Cyperus rotundus* e Avaliação do Seu Potencial de Absorção de Metais. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química – UFSCar, 2016. Dissertação de Mestrado, 150 p.

STRABELLI, P. G.; SCIUTI, V. F.; MONTILHA, F. S.; CANTO, L. B. CANTO, R. B. Influência de variáveis de sinterização na microestrutura de peças de PTFE moldadas por prensagem isostática. Polímeros, 24 (5), 2014, p. 612-619.

TECHNICAL ASSOCIATION OF PULP AND PAPER INDUSTRY (TAPPI), standard. T222 om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp, 2002.

TECHNICAL ASSOCIATION OF PULP AND PAPER INDUSTRY (TAPPI), standard. T264 cm-97. Preparation of wood for chemical analysis, 1997.

TECHNICAL ASSOCIATION OF PULP AND PAPER INDUSTRY (TAPPI), standard. T280 pm-99. Acetone extractives of wood and pulp, 1999.

VERVERIS, C.; GEORGHIOU, K.; DANIELIDIS, D.; HATZINIKOLAOU, D. G.; SANTAS, P.; SANTAS, R.; CORLETI, V. Cellulose, hemicelluloses, lignina and ash content of some organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements. Bioresource Technology, 98, 2007.

VICENTE, M.C.M; BAPTISTELLA, C.S.L.; CASER, D.V.; FRANCISCO, V.L.F.S.; RESENDE, J.V. Novo mapa da laranja no estado de São Paulo. 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/MapaLaranja/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/MapaLaranja/index.htm)>. Acesso em: 20/6/2017.

UNITED STATE DEPARTMENT AGRICULTURE (USDA). Florida Citrus Statistics, Economic Research Service. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov/topics/international-markets-trade/countries-regions/brazil/trade.aspx>. Acesso em: 29 dez. 2015.

UNITED STATE DEPARTMENT AGRICULTURE (USDA). Citrus: World Markets and Trade. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2017.

WATKINS, D.; NURUDDIN, M. H.; TCHERBI-NARTEH, A.; JEELANI, S. Extraction and characterization lignin from different biomass resources. J. Mater. Res. Technol., 4 (1), 2015, p. 26-32.

ZANELLA, K. Extração da Pectina da Casca da Laranja-pera (*Citrus sinensis* L. osbeck) com Solução Diluída de Ácido Cítrico. Campinas, Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP, 2013. Dissertação de Mestrado, 86 p.

ZHANG, C.; CHEN, L.; JIANG, J. Why fine tree roots are stronger than thicker roots: the role of cellulose and lignina in relation to slope stability. Geomorphology, 206, 2014, 0. 196-202.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A

DSC do primeiro aquecimento das ligninas de caule e raiz secundária livre de extrativos a partir da norma T264 cm-97.

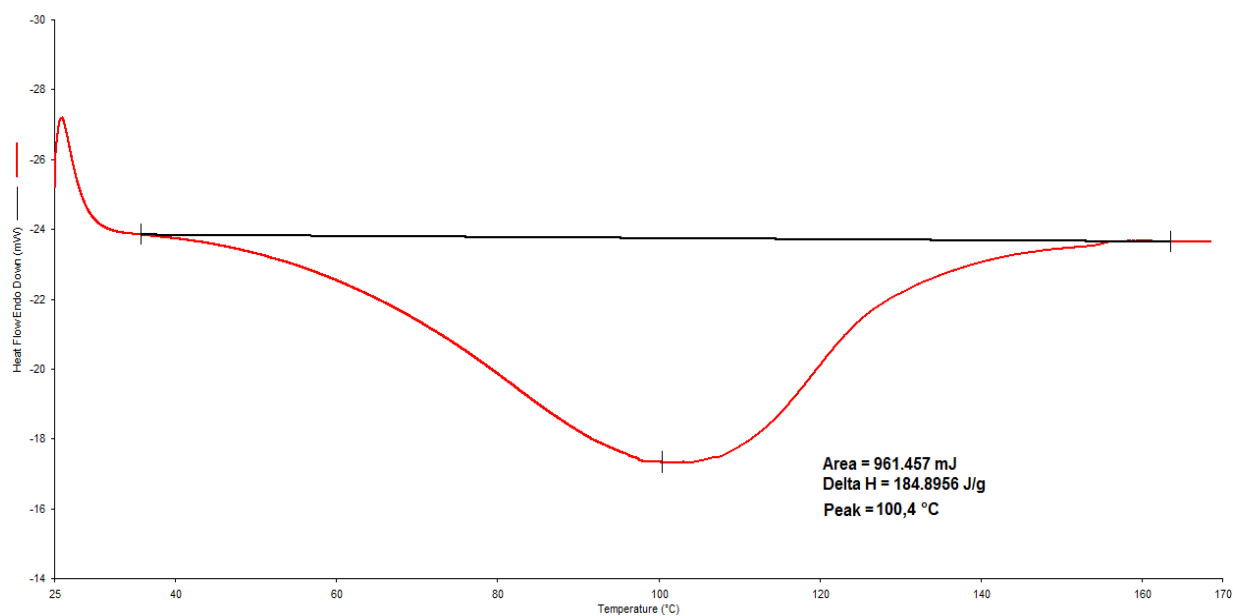


FIGURA A – DSC do primeiro aquecimento para a lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

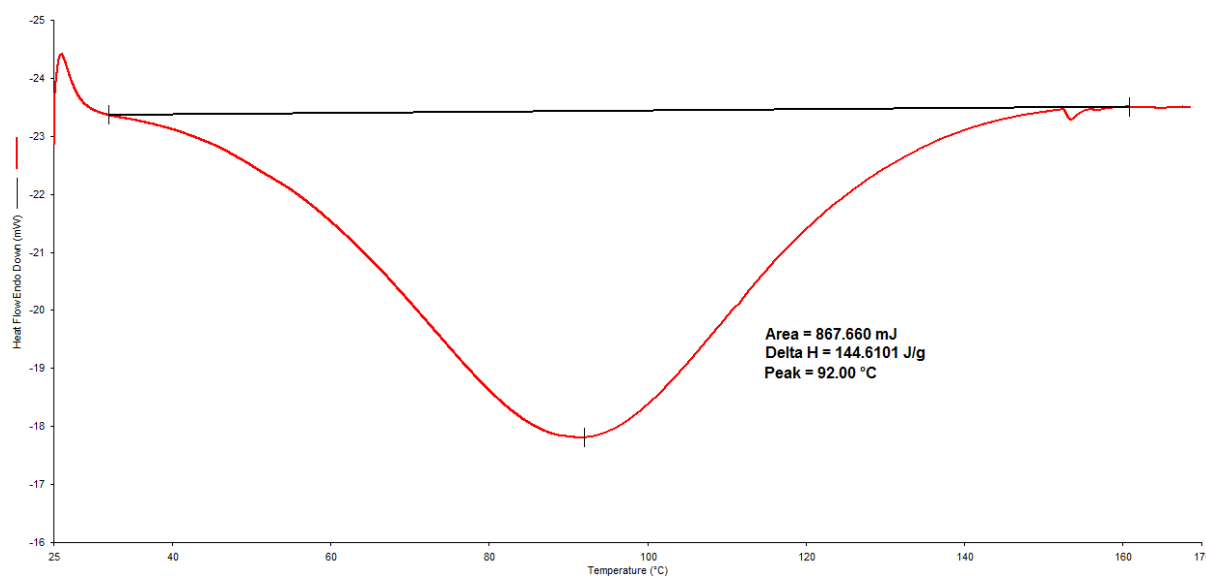


FIGURA B - DSC do primeiro aquecimento para a lignina de raiz secundária da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

## APÊNDICE B

DSC do primeiro aquecimento das ligninas de caule e raiz secundária livre de extrativos pela norma T280 pm-99.

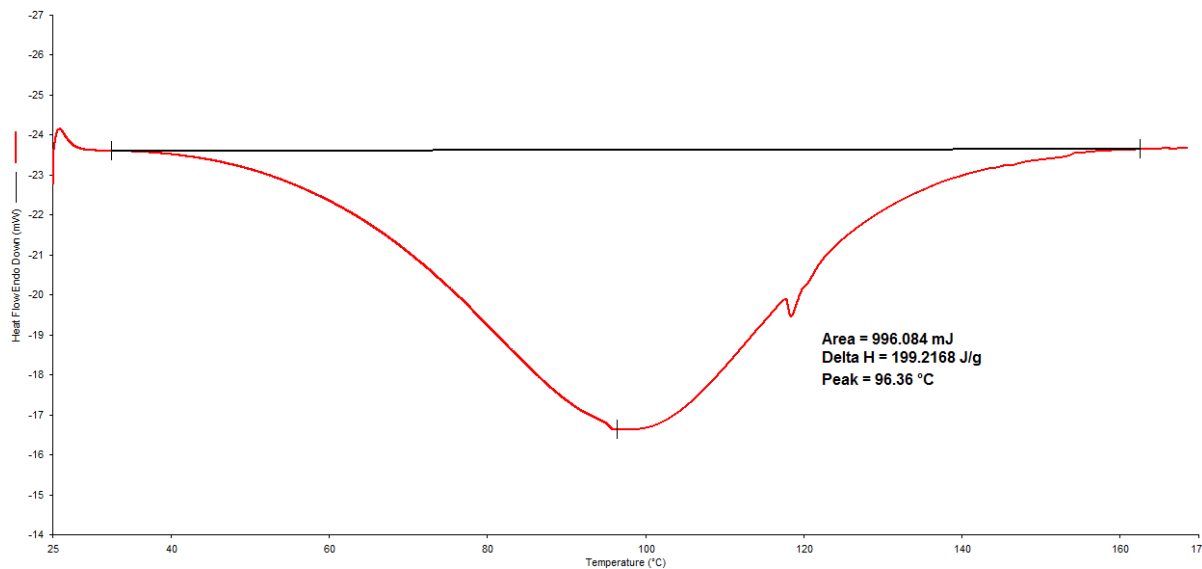


FIGURA C - DSC do primeiro aquecimento para a lignina de caule da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.

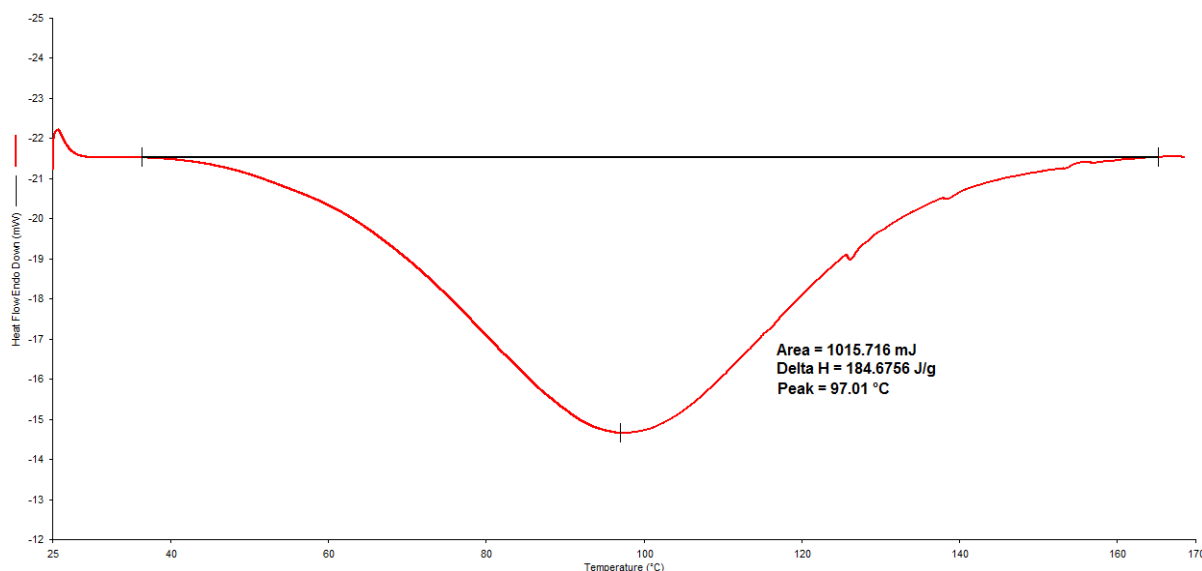


FIGURA D - DSC do primeiro aquecimento para a lignina de raiz secundária da madeira de laranjeira, livre de extrativos pela norma T280 pm-99.

## APÊNDICE C

Análise termogravimétrica das ligninas livre de extrativos pela norma T264 cm-97 das amostras de caule e raíz secundária.

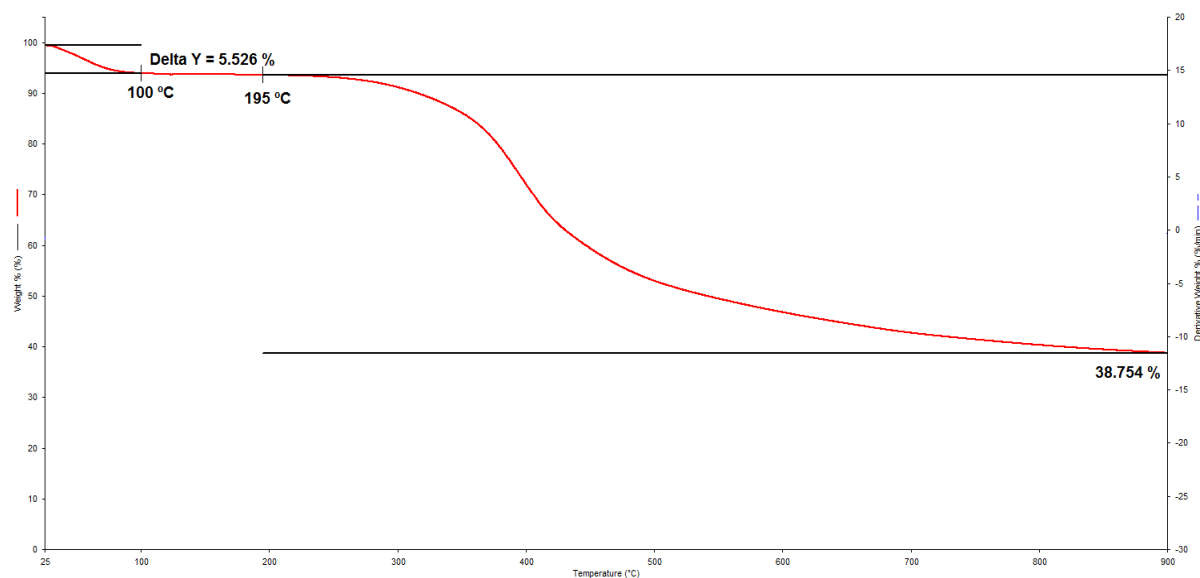


FIGURA E – TGA da lignina de caule livre de extrativos pela norma T264 cm-97.

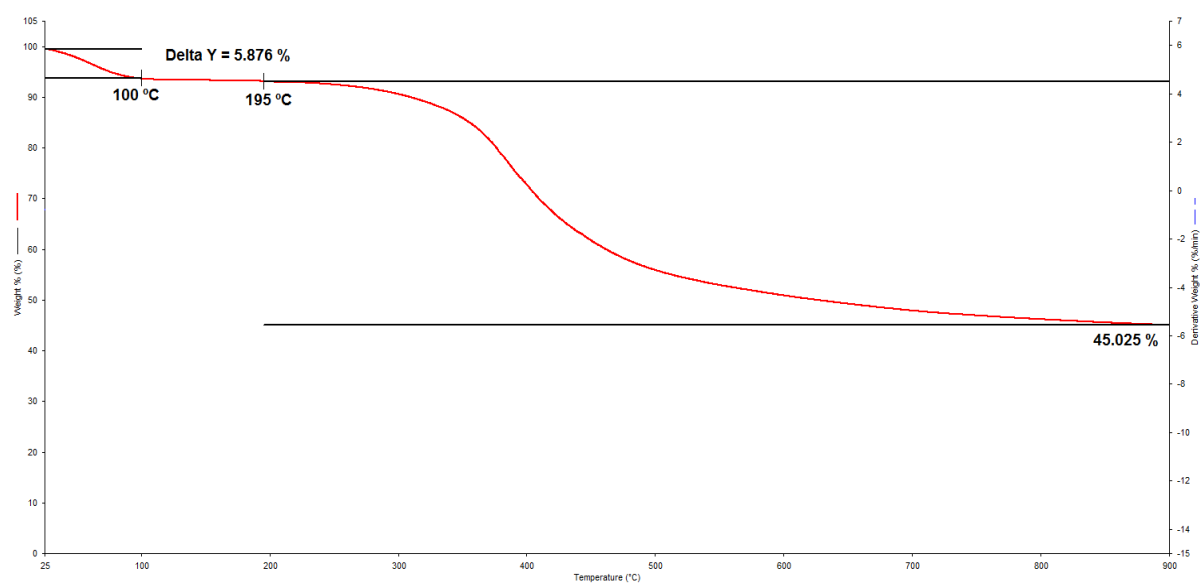


FIGURA F – TGA da lignina de raíz secundária livre de extrativos pela norma T264 cm-97

## APÊNDICE D

Análise termogravimétrica das ligninas livre de extrativos pela norma T280 pm-99 das amostras de caule e raiz secundária.

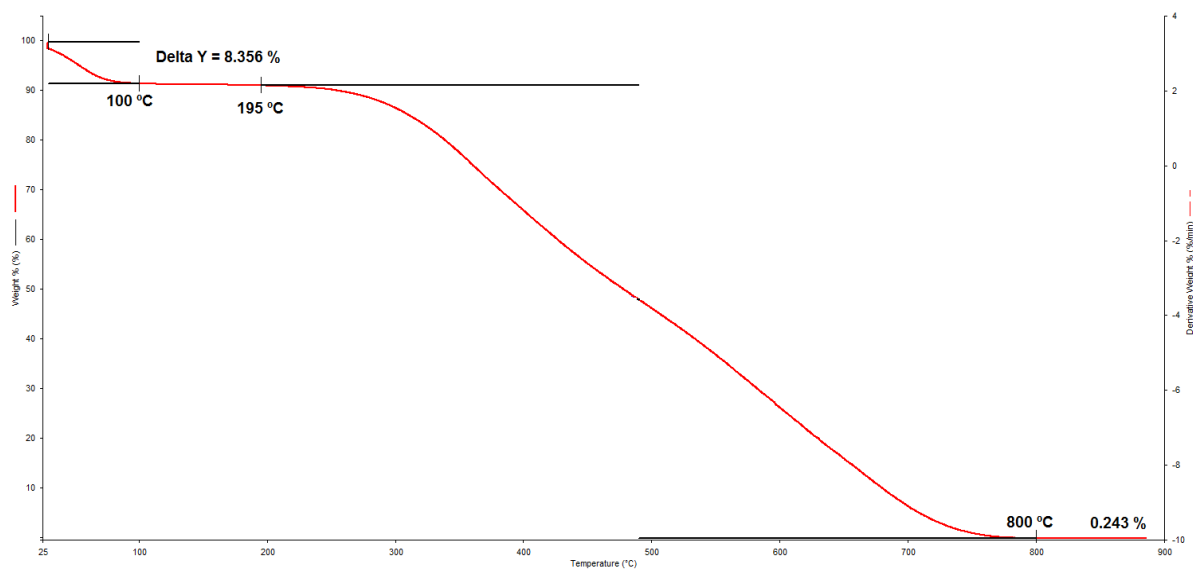


FIGURA G - TGA da lignina de caule livre de extrativos pela norma T280 pm-99.

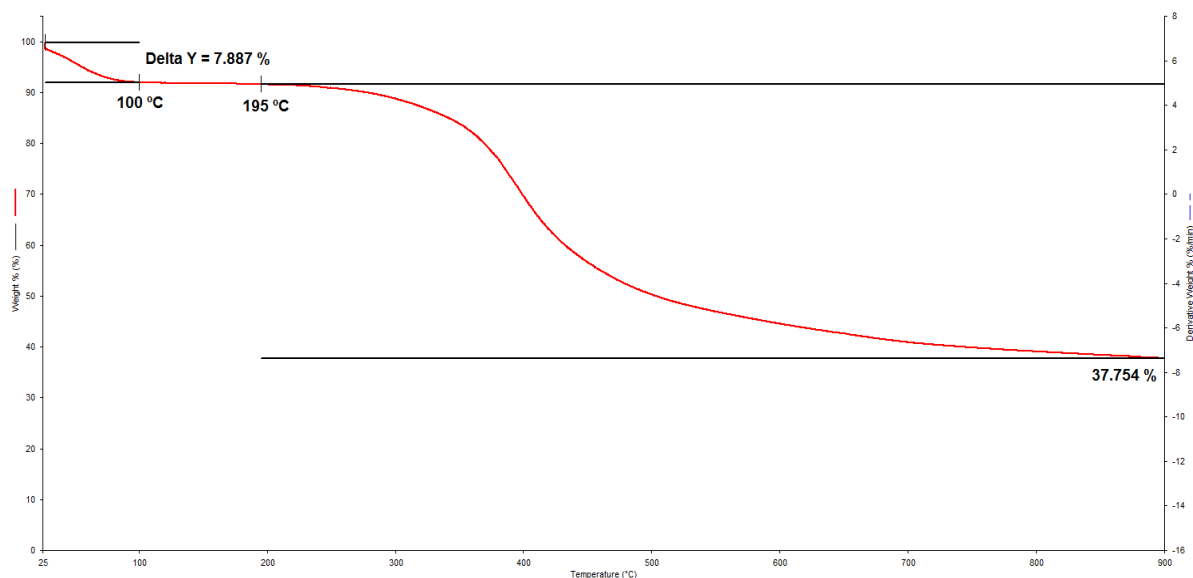


FIGURA H - TGA da lignina de raiz secundária livre de extrativos pela norma T280 pm-99