



**JANAÍNA ALVES CARVALHO**

**ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DE LIGNINA  
DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**LAVRAS - MG  
2018**

**JANAÍNA ALVES CARVALHO**

**ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DE LIGNINA DE BAGAÇO DE  
CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora  
Dra. Maria Lúcia Bianchi

**LAVRAS - MG  
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha  
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados  
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Carvalho, Janaína Alves.

Estudo e caracterização de lignina de bagaço de cana-de-açúcar /  
Janaína Alves Carvalho. - 2018.

75 p.

Orientador(a): Maria Lúcia Bianchi.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Biomassa. 2. Hidrólise enzimática. 3. RMN. I. Bianchi, Maria  
Lúcia. . II. Título.

**JANAÍNA ALVES CARVALHO**

**ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DE LIGNINA DE BAGAÇO DE  
CANA-DE-AÇÚCAR**

**STUDY AND CHARACTERIZATION OF SUGAR CANE LIGNIN**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 20 de julho de 2018.

Dr. Jonas Leal Neto	UFLA
Dr. Sérgio Scherrer Thomasi	UFLA
Dr. Paulo Ricardo Gherardi Hein	UFLA
Dra. Vássia Carvalho Soares	IFMG - Bambuí

Dra. Maria Lúcia Bianchi  
Orientadora

**LAVRAS - MG  
2018**

## AGRADECIMENTOS

Muitos foram os obstáculos; muitas viagens, cansaço, distância de pessoas queridas e muito trabalho, mas Deus ilumina mais uma vez minha caminhada. Agradeço a ELE que me fortalece a cada tropeço e me mostra, no final, a evolução. Eis o verdadeiro significado e beleza da vida.

Aos meus familiares que estão sempre torcendo e prontos para ajudar, agradeço.

Às amigas queridas, pela ajuda em todos os momentos; aos amigos de Japaraíba pelo carinho, apoio e suporte; aos amigos do laboratório que foram imprescindíveis para o sucesso do trabalho me apoiando quando em dificuldades desde ajuda com experimentos quanto uma palavra de conforto quando necessário.

À professora orientadora Dra. Maria Lúcia Bianchi, pelo direcionamento, paciência e confiança oferecida durante estes anos, me ajudando, desafiando e encorajando a ser uma pessoa cada vez melhor.

À minha família; minha mãe, Oneide; meu pai, Paulo e meu irmão, João Paulo, pelo apoio incondicional, carinho e dedicação. Ao Paulo Márcio, pela força e companheirismo recebida em todos estes anos de convivência.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Química e ao CAPQ, pela oportunidade e estrutura, e à CAPES e ao CNPq, pelo essencial financiamento. Obrigada a todos!

## RESUMO

A biomassa vegetal tem se destacado como um produto renovável e com elevado potencial de utilização. Um de seus componentes é a lignina e sua obtenção, seja qual for o método utilizado, provoca modificações na estrutura química original. Neste contexto, este trabalho estudou a lignina de bagaço de cana-de-açúcar e foi dividido em duas partes. A primeira parte é uma revisão bibliográfica na qual se apresenta a complexidade da biomassa lignocelulósica, as características da estrutura da lignina, métodos de obtenção e os desafios para utilização mais nobre do bagaço de cana. Na segunda parte, são apresentados dois estudos. O primeiro estudo constitui a caracterização da lignina enzimática de bagaço de cana-de-açúcar obtida no processo de produção de etanol de segunda geração. Foram utilizadas técnicas como análise elementar, TG, DSC, FTIR, XRF e RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  e análise S/G. O segundo estudo faz a análise da lignina obtida por diferentes métodos (Klason, Madeira moída e Álcali) de uma mesma amostra de bagaço de cana, investigando as modificações causadas. Inicialmente, a amostra de bagaço foi caracterizada por análise elementar, extrativos, lignina total, voláteis, cinzas, carbono fixo, holocelulose e quantificação dos monômeros siringil e guaiacil. Posteriormente, para as ligninas isoladas, foram realizadas as técnicas de TG, DSC e FTIR. Dessa forma, este trabalho visa contribuir com informações sobre a composição química e estrutura da lignina de bagaço de cana-de-açúcar, investigando as modificações causadas pelos diferentes métodos de obtenção dessa lignina, aumentando, assim, os conhecimentos sobre um tema ainda tão desafiador.

**Palavras-chave:** Biomassa. Hidrólise enzimática. RMN.

## ABSTRACT

Biomass has played an important role as a renewable product with high use potential. One of its components is lignin and its isolation, regardless of the used method, causes modifications in its original chemical structure. In this context, this study evaluated the sugarcane bagasse lignin and was divided into two parts. The first part is a bibliographical review, in which the complexity of the lignocellulosic biomass, the characteristics of the lignin structure, the methods of production and the challenges for a noble use of sugarcane bagasse are presented. In the second part, two studies are presented. The first study focus on the characterization of the enzymatic lignin of sugarcane bagasse, obtained in the second-generation ethanol production process, using TG, DSC, FTIR, XRF,  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR and S/G analysis. The second study analyzed the lignin obtained by different methods (Klason, Milled Wood Lignin and Alkali) of the same sample, investigating the modifications caused by the treatments. Initially, the bagasse sample was characterized by elemental analysis, extractives, total lignin, volatiles, ash, fixed carbon, holocellulose and the quantification of the monomers syringyl and guaiacil. The isolated lignin materials were characterized by TG, DSC and FTIR. Thus, this study aimed to contribute with information on the chemical composition and structure of lignin from sugarcane bagasse, investigating the modifications caused by the different obtention methods for greater knowledge on a subject that is still challenging.

**Keywords:** Biomass. Enzymatic hydrolysis. NMR

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1 - Estrutura química tridimensional da D-glicopirranose. ....	15
Figura 2 - Estrutura linear da fração celulósica de materiais lignocelulósicos. ....	15
Figura 3 - Estrutura tridimensional de monossacarídeos que formam as hemiceluloses. ....	16
Figura 4 - Estrutura tridimensional dos precursores primários da lignina. ....	17
Figura 5 - Estrutura química hipotética da lignina e ligações presentes. ....	19

### SEGUNDA PARTE

#### ARTIGO 1

Figure 1. (a) TG and DTG plots for LSC in N <sub>2</sub> (12.966 mg).....	35
Figure 2. LSC TG and DTA in synthetic air (6.495 mg). ....	36
Figure 3. LSC DSC in N <sub>2</sub> atmosphere (10.209 mg). ....	37
Figure 4. LSC point of zero charge (pH <sub>PZC</sub> ).....	37
Figure 5. Phenylpropanoid structure of lignin primary precursors. ....	38
Figure 6. Fourier transform infrared spectrum of LSC (KBr). ....	39
Figure 7. LSC <sup>13</sup> C NMR spectrum in DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> . Parameters: ns= 60K, td= 32K, te= 300K, aq= 0.49s, d1 = 2s. ....	41
Figure 8. LSC <sup>13</sup> C NMR spectrum and the DEPT experiments. ....	42
Figure 9. LSC solid sample <sup>13</sup> C NMR spectrum. Parameters: ns= 75K, td= 20K, te= 300K, aq= 0.034s, d1 = 2s. ....	43
Figure 10. LSC <sup>1</sup> H NMR spectrum showing the signals integration. ....	44

#### ARTIGO 2

Figura 1: TG da lignina Klason (LKL) .....	62
Figura 2: TG da lignina de madeira moída (MWL).....	64
Figura 3: TG da lignina álcali (LA) .....	64
Figura 4: DSC da lignina klason (LKL).....	65
Figura 5: DSC da lignina de madeira moída (MWL) .....	66
Figura 6: DSC da lignina álcali (LA).....	67
Figura 7: FTIR da lignina klason (LKL).....	68
Figura 8: FTIR da lignina de madeira moída (MWL).....	69
Figura 9: FTIR da lignina álcali (LA).....	69



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

H	p-hidroxifenila
G	guaiacila
S	siringila
LBC	Lignina de bagaço de cana-de-açúcar
LSC	Lignin Sugar Cane
LKL	Lignina Klason
MWL	Lignina de madeira moída (Milled Wood Lignin)
LA	Lignina Álcali

## SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE .....	10
1 INTRODUÇÃO .....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
2.1 Cana-de-açúcar .....	12
2.2 Composição Química da Biomassa .....	14
2.3 Lignina .....	17
2.4 Métodos de extração da lignina .....	20
REFERÊNCIAS .....	23
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS .....	28
ARTIGO 1 CHARACTERIZATION OF SUGARCANE BAGASSE ENZYMATIC LIGNIN .....	28
ARTIGO 2 ESTUDO DA ESTRUTURA QUÍMICA DE LIGNINA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR OBTIDA POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	51

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

Na busca por melhor qualidade de vida, a sociedade atual exige uma maior quantidade de recursos energéticos, alimentação e insumos em geral. Diante de todo apelo ambiental, cada vez mais são estudados métodos e rotas de substituição ou mesmo diminuição da dependência atual aos recursos fósseis (WEILAND, 2017). A biomassa vegetal tem se destacado como matéria-prima renovável com alto potencial para substituir fontes fósseis, principalmente devido ao baixo impacto ambiental causado, grande potencial energético, abundância e baixo custo (HAMAWAND, 2016). Dessa forma, o desenvolvimento de produtos e processos que sejam viáveis para o bom aproveitamento dessa biomassa é de extrema relevância (ADITIYA, 2016; ZABED, 2016).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e também o primeiro a produzir açúcar e etanol de primeira e segunda geração. Este último, sendo produzido a partir do bagaço de cana-de-açúcar, resíduo das usinas sucroalcooleiras. O bagaço de cana-de-açúcar é um material lignocelulósico constituído por celulose, hemiceluloses e lignina, que representam a maior porção do carbono total fixado por fotossíntese (ANTUNES, 2018; PAZUCH, 2017; SOUZA, 2016). Desses constituintes, a celulose e hemiceluloses são importantes na produção de etanol de segunda geração, já a lignina é um subproduto, componente residual (SINDHU, 2016).

A lignina possui grande potencial energético e sempre atraiu o interesse de pesquisadores, no entanto, suas transformações em outras matérias-primas e insumos são dificultadas por possuir uma estrutura bastante complexa e heterogênea, com vários tipos de ligações cruzadas (MOUSAVIOUN;

DOHERTY, 2010). Modificações significativas na estrutura da lignina nativa ocorrem durante o processo de extração (como na produção de etanol de segunda geração e de celulose e papel) tornando sua utilização ainda mais desafiadora. Em contrapartida possui uma grande variedade de potenciais aplicações como: combustíveis, produtos químicos, aditivos para tintas, reforço para filmes de embalagens, nanocompósitos diversos, dentre outros (GOUVÊA, 2017; SINDHU, 2016).

De acordo com o exposto, este trabalho tem por objetivo analisar a composição química da lignina do bagaço de cana-de-açúcar obtida por hidrólise enzimática durante o processo industrial de produção de etanol de segunda geração, além de isolar e estudar a lignina de bagaço de cana-de-açúcar obtida pelos métodos Klason, Madeira moída (MWL) e Álcali, investigando as modificações causadas pelos diferentes métodos de isolamento.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, classificada como gramínea, é originária da Índia e foi introduzida no Brasil na época colonial, nos estados de Pernambuco e São Paulo. A princípio, originária da espécie *Saccharum officinarum* L mas, com o tempo, vários outros híbridos foram produzidos com a ajuda de inovações tecnológicas resultando em várias espécies, as quais diferem entre si principalmente quanto ao conteúdo de fibras e açúcares e, desta engenharia genética, emergiu a cana-de-açúcar conhecida no Brasil (BARRETO, 2017; BICALHO, 2012; CARVALHO, 2013).

Esta planta se desenvolve bem em regiões de clima tropical e subtropical, encontrando, portanto, condições favoráveis de plantio no país. Existem diferenças significativas entre os híbridos de cana-de-açúcar, que são influenciadas pelo cultivo, tipo de solo, período vegetativo, sistema de colheita e clima. A dureza da cana, sua densidade e a composição da fibra variam de espécie para espécie, o que pode afetar o comportamento no processo de extração. Muitos produtos podem ser preparados a partir da cana-de-açúcar e os principais representantes são álcool e açúcar (BICALHO, 2012; GOMES, 2017).

Por muitos anos, a cana-de-açúcar permaneceu sem muitas modificações, mas em 1970 foi criado o Programa Brasileiro do Álcool, o Proálcool, provocando aumento da área cultivada com cana no Brasil que é o maior produtor e exportador da atualidade (GOMES, 2017; PAZUCH, 2017) e pioneiro na produção de açúcar e etanol da cana, conquistando cada vez mais mercado com o uso do biocombustível como alternativa energética. Com isto, são geradas milhares de toneladas de resíduos lignocelulósicos (bagaço de cana) anualmente (CARVALHO, 2013; PANDEY, 2000).

O bagaço de cana-de-açúcar é subproduto do processo de produção de etanol, dito de primeira geração, que utiliza o caldo para produção do biocombustível. Depois da extração do caldo, o bagaço de cana possui em sua constituição: fibras, água e uma pequena porcentagem de sólidos dissolvidos (FIORELLI et al., 2011; SANCHEZ et al., 2010). Em média, 50% de umidade, 2% de sólidos solúveis em água, 46% de fibra (32 – 50% de celulose, 19 – 25% de hemiceluloses e 23-32% de lignina) e 2% de cinzas são encontrados em sua constituição ((BIDLACK, 1992; CARVALHO, 2013).

A fibra do bagaço que é constituída de celulose, hemiceluloses e lignina, tem composição química variada dependendo dos fatores observados como tipo de solo, técnicas de colheita, dentre outros (PANDEY, 2000). Grande parte do bagaço produzido é utilizada no aquecimento de caldeiras para geração de energia elétrica para a própria usina, a bioeletricidade. Atualmente, o bagaço de cana tem sido alvo de vários estudos visando seu potencial energético no que diz respeito à produção de etanol de segunda geração (BRASIL, 2018; SINDHU, 2016; SOARES, 2017).

O etanol de segunda geração é obtido a partir da biomassa lignocelulósica, em etapas que incluem pré-tratamento e reação de hidrólise, sendo possível disponibilizar açúcares que, ao serem fermentados e destilados, resultam no biocombustível. Este apresenta algumas vantagens em relação ao etanol de primeira geração convencional, tais como abundância e baixo preço da matéria-prima, um resíduo com baixo valor comercial. Assim, o aumento da produção de etanol a partir de matéria-prima lignocelulósica é de fundamental importância para estabelecer um futuro de energia sustentável e funcional em termos empresariais, já que a usina teria autonomia em decidir produzir etanol de segunda geração ou bioeletricidade baseando-se no mercado, ou quando for conveniente à mesma (NAIR, 2017; NIGAM; SINGH, 2011; SOUZA, 2018).

Pesquisas abordando etanol lignocelulósico começam a produzir efeitos e, de forma gradativa, tornam realidade os avanços tecnológicos com novas rotas, novas fontes e processos. Isso demonstra que sua produção em larga escala e consolidação como rota viável está cada vez mais próxima (RASTOGI; SHRIVASTAVA, 2017; VAID; NARGOTRA; BAJAJ, 2018). No processo de produção do etanol de segunda geração utilizam-se a celulose e hemiceluloses contidas no bagaço de cana e, como subproduto, a lignina que possui também grande potencial de utilização para diversas aplicações. Mas, para sua utilização torna-se necessário conhecimento de sua real estrutura para aproveitamento de todas as características do material (LASKAR, 2013).

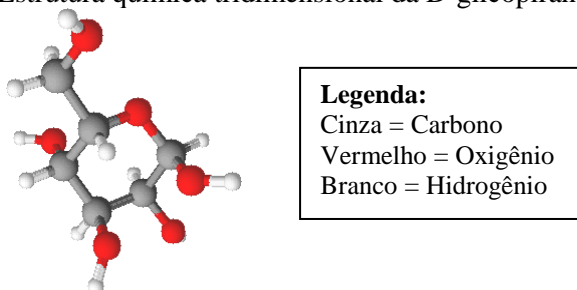
## **2.2 Composição Química da Biomassa**

Biomassa vegetal é a quantidade total de matéria orgânica, viva, presente em uma área, ecossistema ou população. Alguns exemplos são lenha, resíduos de serrarias, carvão vegetal, bagaço de cana-de-açúcar, dentre outros (BIDLACK, 1992; SARKER, 2017). A biomassa lignocelulósica é constituída por celulose, hemiceluloses e lignina como subunidades principais e, em menor proporção, componentes de baixo peso molecular, tais como: compostos orgânicos (extrativos) e constituintes inorgânicos (minerais). A quantidade dos componentes na biomassa é influenciada por uma série de fatores, tais como espécie, idade, origem, parte da planta da qual são extraídos, tipo de solo e temperatura, dentre outros (ALMEIDA, 1988; FENGEL; WENEGER, 1989; SARKER, 2017).

A celulose é uma substância existente nos vegetais que pode ser definida como um abundante biopolímero sintetizado por todas as plantas, incluindo as chamadas não madeiras, como por exemplo, o babaçu, grama e resíduos agrícolas como o bagaço de cana-de-açúcar (KRISHNAMACHARI;

HASHAIKEH; TINER, 2011). É um homopolímero linear composto por unidades de D-glicopirranose (Figura 1).

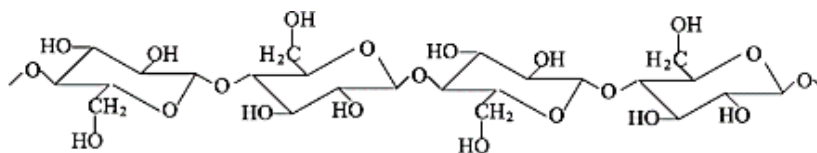
Figura 1 - Estrutura química tridimensional da D-glicopirranose.



Fonte: Do Autor (2018).

Ligações glicosídicas  $\beta$  (1,4) conferem à cadeia uma conformação linear (encontrada nas formas cristalina e amorfa), de forma a conferir resistência, rigidez e flexibilidade às fibras (Figura 2). Sua fórmula é  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , cujo valor de n, normalmente, fica entre 100 e 800. Apesar de constituir fonte natural, a celulose não é encontrada na forma pura, uma vez que se mostra associada a outros polissacarídeos como amido, pectina, além das hemiceluloses e lignina (ANDRADE, 2008; SINDHU, 2016; SOLOMONS, 1996).

Figura 2 - Estrutura linear da fração celulósica de materiais lignocelulósicos.



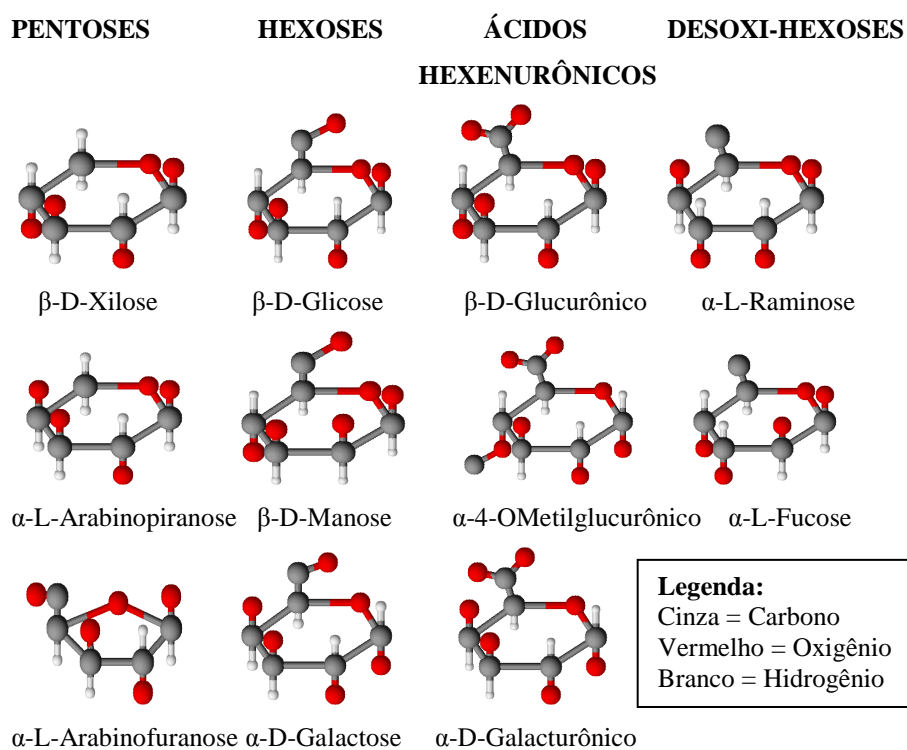
Fonte: Franchetti e Marconato (2006).

As hemiceluloses são classificadas como heteropolissacarídeos (Figura 3) que atuam como um elo intermediário entre a celulose e a lignina, formada



basicamente por pentoses e hexoses (xilose, raminose, arabinose, glicose, manose e galactose), ácidos urônicos (ácidos 4-O-metilglucurônico e galacturônico) e radicais acetila. Podem ser lineares ou ramificadas, são amorfas e possuem baixo peso molecular (SAHA, 2003; SOLOMONS, 1996). Diferentes biomassas podem apresentar quantidades e tipos de açúcares de hemiceluloses variadas. No bagaço de cana, por exemplo, o principal açúcar constituinte das hemiceluloses é a xilose (LIMAYEM; RICKE, 2012; SARKER, 2017).

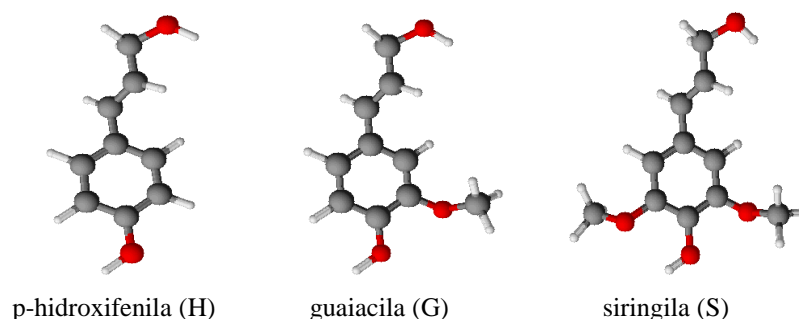
Figura 3 - Estrutura tridimensional de monossacarídeos que formam as hemiceluloses.



Fonte: Adaptado de Fengel e Wegener (1989).

A lignina é um complexo molecular constituído por anéis aromáticos, com estrutura tridimensional, ramificada e amorfa. Encontra-se na parede celular vegetal associada aos açúcares de hemiceluloses por ligações covalentes, atuando como um componente ligante entre as células. É formada pelos precursores principais p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) (Figura 4), unidades básicas de fenil-propano, em quantidades variadas (BARBOSA, 2008; FENGEL; WEGENER, 1989; GOUVÊA, 2017).

Figura 4 - Estrutura tridimensional dos precursores primários da lignina.



**Legenda:** Cinza = Carbono/Vermelho = Oxigênio/Branco = Hidrogênio

Fonte: Adaptado de Barbosa (2008).

### 2.3 Lignina

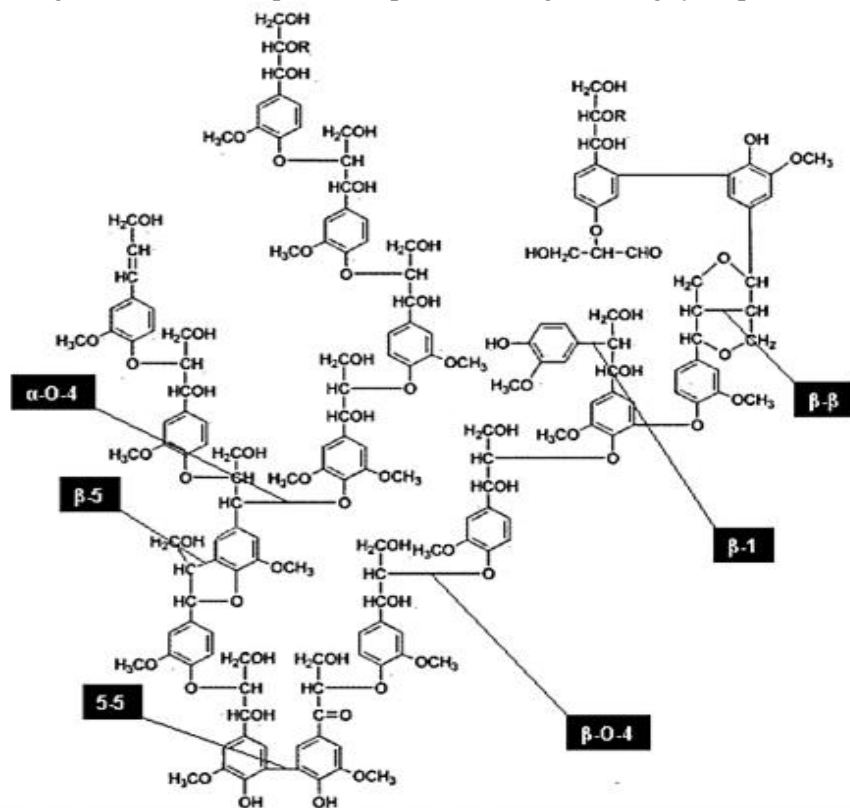
A palavra “lignina” vem do latim *lignum*, que significa madeira. Esta desempenha função múltipla que é essencial para a vida da planta, como transporte interno de água, nutrientes e metabólitos, confere rigidez às paredes celulares e nas partes lenhosas, atuando como agentes de ligação permanente entre as células, gerando uma estrutura composta excepcionalmente resistente ao impacto, à compressão e à flexão (SARKANEN; LUDWIG, 1971).

É um polímero derivado de unidades de fenilpropanóides (guaiacil, siringil e p-hidroxifenil), repetidas de forma irregular, ligadas aleatoriamente e que têm sua origem na polimerização desidrogenativa do álcool coniferílico. Tem natureza aromática, amorfa, complexa, e faz parte da parede celular e da lamela média dos vegetais (CARVALHO, 2009; FENGEL; WEGENER, 1989; SALIBA et al., 2001).

A estrutura da lignina pode variar dependendo do tipo de material lignocelulósico em questão, pois o percentual de cada uma das três unidades (H, G e S) sofre variações de um material para outro. De uma forma geral, madeiras mais macias possuem uma maior quantidade de unidades guaiacila (G), enquanto em madeiras mais duras há um balanço entre unidades guaiacila e siringila (G e S). Em gramíneas, como o bagaço de cana-de-açúcar, encontram-se unidades p-hidroxifenila (H), além das outras duas, sendo estas, classificadas como HGS contendo, em sua maior quantidade, unidades p-hidroxifenila (FUKUSHIMA; HATFIELD, 2003; KAI et al., 2016).

A Figura 5 mostra a estrutura química parcial da lignina de gramíneas e as ligações químicas que podem ser formadas entre os monômeros.

Figura 5 - Estrutura química hipotética da lignina e ligações presentes.



Fonte: Carvalho (2009).

É o segundo polímero natural mais abundante na natureza depois da celulose. É difícil estabelecer a constituição da lignina na sua forma natural, pois além da complexidade de sua formação, esta sofre modificações estruturais durante seu isolamento (extração) (LASKAR, 2013; SALIBA et al., 2001). Em sua forma natural (protolignina) ela possui coloração clara, mas, após tratamento ácido ou básico, assume cor marrom claro ou escuro dependendo do método de isolamento (WANG et al., 2016).

A lignina extraída ainda permanece limitada a ser transformada em produtos de baixo valor agregado tais como dispersantes ou agentes de ligação. A lignina gerada a partir dos processos de celulose e papel é comercialmente

utilizada, mas, seu principal aproveitamento em usinas sucroalcooleiras ainda é como fonte de energia pela queima. Dessa forma, existe forte tendência mundial de estudos que apresentem um aproveitamento mais nobre, criativo e lucrativo de valorizar o carbono contido nos resíduos de lignina (LASKAR, 2013; SINDHU, 2016).

#### **2.4 Métodos de extração da lignina**

Existem vários métodos de extração de lignina, mas, devido à complexidade dos materiais lignocelulósicos, sua obtenção pode ser considerada desafiadora. Todos os métodos de extração, devido a reações de condensação e oxidação que ocorrem durante os processos, provocam alguma modificação estrutural, afetando as propriedades físicas da estrutura original (PASQUINI et al., 2002). Dessa forma, nenhum método é realmente eficaz no isolamento da lignina na sua forma nativa, os extrativos devem ser removidos da amostra antes de isolar a lignina a fim de evitar/minimizar as reações durante o processo; mesmo assim, o processo provoca degradação progressiva da estrutura polimérica a fragmentos menores, dificultando a determinação da sua estrutura real (JOHN; THOMAS, 2008).

Alguns métodos de extração são consolidados, como os processos Kraft, utilizado nas indústrias de papel e o processo com soda, utilizado para remover a celulose de resíduos da agroindústria, como o bagaço de cana (DOMÍNGUEZ-ROBLES, 2017; MOUSAVIOUN; DOHERTY, 2010). Dos vários métodos utilizados, o isolamento é considerado aquele que provoca menos modificações na estrutura da lignina e, o material obtido desse procedimento é classificado como resíduo, como derivado ou como extrativo (SALIBA et al., 2001). Os principais métodos citados na literatura para obtenção da lignina são apresentados na Quadro 1.

Quadro 1 - Métodos de extração de lignina.

CONCEITO	TRATAMENTO	PREPARO
<b>Lignina como resíduo</b>		
Hidrólise ácida dos polissacarídeos	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Lignina Klason
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /HBr	Lignina Runkel
	HCl	Lignina Willstatter
	HCl/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Lignina Halse
	HF	Lignina de ácido fluorídrico
	CF <sub>3</sub> CCOOH	Lignina de ácido trifluoroacético
Oxidação dos polissacarídeos	Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Lignina Periodato
Hidrólise/dissolução dos polissacarídeos	NaOH/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /Cu(NH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub>	Lignina cuoxam
		Lignina cuproxam
		Lignina cupramoniaca
<b>Lignina por dissolução</b>		
Nenhuma reação entre a lignina e o solvente	Extração por álcool	Lignina Brauns (lignina nativa)
	Moagem em moinho vibratório - extração em dioxano/H <sub>2</sub> O	Lignina Bjorkman/Lignina de madeira moída (MWL)
	Moagem em moinho de bolas - extração - dissolução em H <sub>2</sub> O - NaSCN <sub>2</sub> H <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH - DMF	Lignina de madeira moída em moinho de bolas (BMWL)
	Tratamento por fungos de podridão marrom	Lignina liberada enzimaticamente (ELL, EIL)
	Moagem, tratamento enzimático - extração em solvente	Lignina de enzimas celulolíticas (CEL)
<b>Lignina Organossolv</b>		
Reação entre a lignina e o solvente	Álcool/HCl	Lignina alcoólica
	Dioxano/HCl	Lignina de acidólise/dioxano
	CH <sub>3</sub> COOH/MgCl <sub>2</sub>	Lignina de ácido acético
	HSCH <sub>2</sub> COOH/HCl	Lignina de ácido tioglicólico
	Fenol/HCl	Lignina fenólica
	Hidrogenação suave	Lignina de hidrogenólise
	Hidrogenação hidroprótica	Lignina hidroprótica
<b>Derivados de reagentes inorgânicos</b>		
Geralmente processos de polpação	Sulfito/bissulfito	Lignossulfonados
	NaOH	Lignina alcalina
	Na <sub>2</sub> S/NaSH	Tiolignina
	NaOH/Na <sub>2</sub> S	Lignina Kraft/sulfato

Fonte: Quinelato (2016).

O método Klason utiliza H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (72%) para hidrolisar os polissacarídeos, sendo a lignina obtida como resíduo (GOMIDE; DEMUNER, 1986; YANG, 2014). O processo álcali utiliza hidróxido de sódio e, durante o tratamento, são liberados produtos solúveis que são separados ao final da reação e, nesse caso, a lignina é obtida como derivado (MENEZES, 2017;

MOUSAVIOUN; DOHERTY, 2010). A lignina é obtida como extrativo quando são utilizados solventes orgânicos. Esse processo pode ser classificado em três classes: lignina nativa, de madeira moída e enzimática. A lignina de madeira moída ou Milled Wood Lignina (MWL) é uma das mais estudadas, uma vez que sofre somente pequenas modificações em sua estrutura durante o processo de extração, mantendo as características da estrutura original. Neste processo, o material é triturado com tolueno, posteriormente, adicionada uma solução de dioxano/água (9:1) e, por fim, a lignina é precipitada com solução ácida (BALAKSHIN, 2011; TARMADI, 2017).

## REFERÊNCIAS

- ADITIYA, H. B. et al. Second generation bioethanol production: a critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 66, p. 631-653, 2016.
- ALMEIDA, M. L. **Celulose e papel: tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. 2. ed. São Paulo: SENAI-IPT, 1988. v. 1, 559 p.
- ANDRADE, F. K. et al. Production of recombinant carbohydrate-Binding modules fused to RGD: Functional studies using bacterial cellulose. **Tissue Engineering-Part A**, New Rochelle, v. 14, n. 5, p. 899-899, 2008.
- ANTUNES, F. A. F. et al. A novel process intensification strategy for second-generation ethanol production from sugarcane bagasse in fluidized bed reactor. **Renewable Energy**, Lemesos, v. 124, p. 189-196, 2018.
- BALAKSHIN, M. et al. Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy. **Planta**, Berlin, v. 233, n. 6, p. 1097-1110, 2011.
- BARBOSA, L. C. A. et al. Determinação da relação siringila/guaiacila da lignina em madeiras de eucalipto por pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas (PI CG/EM). **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, p. 2035-2041, 2008.
- BARRETO, F. et al. Cana-de-açúcar: melhoramento genético e integração com novas biotecnologias para a produção de biocombustíveis. **Revista Diálogos & Ciências**, Salvador, v. 1, n. 39, p. 85-100, 2017.
- BICALHO, R. S. **A cana de açúcar como tema para o ensino das ciências humanas e da natureza**. Belo Horizonte: RHJ, 2012.
- BIDLACK, J. Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. **Proceedings of the Oklahoma Academy of Science**, Washington, v. 72, p. 51-56, 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 05 fev. 2018.



CARVALHO, L. et al. Cana-de-açúcar e álcool combustível: histórico, sustentabilidade e segurança energética. **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 530-543, 2013.

CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 1-5, 2009.

DOMÍNGUEZ-ROBLES, J. et al. Isolation and characterization of gramineae and fabaceae soda lignins. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 18, n. 2, p. 327, 2017.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry, ultrastructure, reactions, walter de gruyte**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989. 613 p.

FIGLIOLI, J. et al. Painéis de partículas a base de bagaço de cana e resina de mamona: produção e propriedades. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 401-406, 2011.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis-uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, São Paulo, p. 811-816, 2006.

FUKUSHIMA, R. S.; HATFIELD, R. D. Composição fenólica de ligninas dioxano determinadas pela reação oxidativa com o nitrobenzeno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 373-378, 2003.

GOMES, B. **Conjuntura e análise de mercado: cana de açúcar em Pernambuco**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_12\\_06\\_10\\_19\\_06\\_pub.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_12_06_10_19_06_pub.pdf)>. Acesso em: 10 nov. 2017.

GOMIDE, J. L.; DEMUNER, B. J. Determinação do teor de lignina em material lenhoso: método Klason modificado. **O papel**, São Paulo, v. 47, n. 8, p. 36-38, 1986.

GOUVÊA, A. F. G. et al. Estudo da adição da lignina kraft nas propriedades mecânicas dos briquetes de resíduos da indústria moveleira. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 1029-1036, 2017.

HAMAWAND, I. et al. Bioenergy from cotton industry wastes: a review and potential. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 66, p. 435-448, 2016.

JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibers and biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, Worcester, v. 71, p. 343-364, 2008.

KAI, D. et al. Towards lignin-based functional materials in a sustainable world. **Green Chemistry**, Washington, v. 18, n. 5, p. 1175-1200, 2016.

KRISHNAMACHARI, P.; HASHAIKEH, R.; TINER, M. Modified cellulose morphologies and its composites; SEM and TEM analysis. **Micron**, Oxford, v. 42, n. 8, p. 751-761, 2011.

LASKAR, D. D. et al. Pathways for biomass-derived lignin to hydrocarbon fuels. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, East Lansing, v. 7, n. 5, p. 602-626, 2013.

LIMAYEM, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress in Energy and Combustion Science**, Stanford, v. 38, n. 4, p. 449-467, 2012.

MENEZES, F. F. et al. Alkaline pretreatment severity leads to different lignin applications in sugar cane biorefineries. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, Austin, v. 5, n. 7, p. 5702-5712, 2017.

MOUSAVIOUN, P.; DOHERTY, W. O. S. Chemical and thermal properties of fractionated bagasse soda lignin. **Industrial Crops and Products**, St Martin d'Heres, v. 31, n. 1, p. 52-58, 2010.

NAIR, R. B. et al. Mild-temperature dilute acid pretreatment for integration of first and second generation ethanol processes. **Bioresource Technology**, New York, v. 245, p. 145-151, 2017.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in energy and combustion science**, Stanford, v. 37, n. 1, p. 52-68, 2011.

PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, New York, v. 74, n. 1, p. 69-80, 2000.

PASQUINI, D. et al. Surface morphology and molecular organization of lignins in Langmuir-Blodgett films. **Langmuir**, Washington, v. 18, p. 6593-6596, 2002.

PAZUCH, F. A. et al. Economic evaluation of the replacement of sugar cane bagasse by vinasse, as a source of energy in a power plant in the state of Paraná, Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 76, p. 34-42, 2017.

QUINELATO, C. **Métodos de extração da lignina do bagaço da cana-de-açúcar do Noroeste do Estado de São Paulo**. 2016. 95 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São Paulo, 2016.

RASTOGI, M.; SHRIVASTAVA, S. Recent advances in second generation bioethanol production: An insight to pretreatment, saccharification and fermentation processes. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 80, p. 330-340, 2017.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Houndmills, v. 30, n. 5, p. 279-291, 2003.

SALIBA, E. O. S. et al. Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 917-928, 2001.

SANCHEZ, E. M. S. et al. Compósito de resina de poliéster insaturado com bagaço de cana-de-açúcar: influência do tratamento das fibras nas propriedades. **Polímeros**, São Carlos, v. 20, n. 3, p. 194-200, 2010.

SARKANEM, K. V.; LUDWIG, C. H. **Lignins, Occurrence, formation, structure and reations**. New York: J. Wiley and Sons, 1971.

SARKER, T. C. et al. Sugarcane bagasse: a potential low-cost biosorbent for the removal of hazardous materials. **Clean Technologies and Environmental Policy**, Heidelberg, v. 19, n. 10, p. 2343-2362, 2017.

SINDHU, R. et al. Bioconversion of sugarcane crop residue for value added products—An overview. **Renewable Energy**, Lemesos, v. 98, p. 203-215, 2016.

SOARES, S. S. et al. Valorização do bagaço de cana-de-açúcar na produção de painéis aglomerados de baixa densidade. **Revista Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science)**, Pelotas, v. 8, n. 2, p. 64-73, 2017.

SOLOMONS, T. W. G. **Química orgânica**. Rio de Janeiro: LTC, 1996. 1777 p.

SOUZA, A. et al. Social life cycle assessment of first and second-generation ethanol production technologies in Brazil. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, Heidelberg, v. 23, n. 3, p. 617-628, 2018.

SOUZA, V. H. A. et al. Aspectos Sustentáveis da biomassa como recurso energético. **Revista Augustus**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 40, p. 105-123, 2016.

TARMADI, D. et al. The effects of various lignocelluloses and lignins on physiological responses of a lower termite, *Coptotermes formosanus*. **Journal of Wood Science**, Cham, v. 63, n. 5, p. 464-472, 2017.

VAID, S.; NARGOTRA, P.; BAJAJ, B. K. Consolidated bioprocessing for biofuel-ethanol production from pine needle biomass. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, Youngstown, v. 37, n. 1, p. 546-552, 2018.

WANG, J. et al. Reduction of lignin color via one-step UV irradiation. **Green Chemistry**, Washington, v. 18, n. 3, p. 695-699, 2016.

WEILAND, S. et al. The nature of experiments for sustainability transformations: A search for common ground. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 169, p. 30-38, 2017.

YANG, H. et al. Chemical structures and primary pyrolysis characteristics of lignins obtained from different preparation methods. **Journal of the Japan Institute of Energy**, Tokyo, v. 93, n. 10, p. 986-994, 2014.

ZABED, H. et al. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: an overview on feedstocks and technological approaches. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 66, p. 751-774, 2016.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS****ARTIGO 1****CHARACTERIZATION OF SUGARCANE BAGASSE ENZIMATIC  
LIGNIN**

**Artigo redigido conforme norma da revista ACS Sustainable Chemistry &  
Engineering (ACS Publications) “Versão Submetida”**

Janaína A. Carvalho<sup>†</sup>, Maria L. Bianchi<sup>†,\*</sup>, Sérgio S. Thomasi<sup>†</sup>, Paulo F.  
Trugilho<sup>‡</sup>, Wesley G. D. P. Silva<sup>§</sup> and Roberto Rittner<sup>§</sup>

<sup>†</sup> Department of Chemistry, Federal University of Lavras, zipcode 37200-000,  
Lavras, MG, Brazil

<sup>‡</sup> Department of Forestry Science, Federal University of Lavras, zipcode 37200-  
000, Lavras, MG, Brazil

<sup>§</sup> Institute of Chemistry, State University of Campinas, zipcode 13083970,  
Campinas, São Paulo, SP, Brazil

\*Corresponding author: bianchi@dqi.ufla.br

**ABSTRACT**

Lignin is a natural polyphenol occurring in the cellular wall of lignocellulosic materials, such as sugarcane bagasse. Because of its varied composition and complex and reticulated structure, the characterization of lignin is challenging. The large-scale production of lignin in Brazil, as a by-product from paper and cellulose industry, and most recently, from ethyl alcohol plants, increases the relevance and importance of studies related to lignin. Therefore, in the present work, industrial lignin obtained from carbohydrates of sugarcane bagasse enzymatic hydrolysis (LSC) was analyzed by the following techniques: TG, DSC, FTIR and  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR. The characterized LSC presents approximately 3% of ash content. Atomic absorption and X-Rays fluorescence analyses showed the presence of small amounts of derivatives, such as Fe, Ca, Zn, K, and Cu. NMR spectroscopy data indicated that di-, tri- and tetrasubstituted aromatic units are present in the material. Moreover, the NMR spectra showed that there are 0.73 methoxy groups for each phenolic fragment. The calculated S/G ratio was equal to 2.09, which indicates the predominance of S in relation to G groups. The following  $\text{C}_9$ -formula  $\text{C}_{9.00}\text{H}_{8.7}\text{O}_{3.56} (\text{OCH}_3)$  was obtained.

**Keywords:** Biomass, Lignocellulosic materials, NMR, Hydroxyphenyl units,  $\text{C}_9$ -formula, By-products.

## INTRODUCTION

Brazil is the largest biomass producer in the world, including sugarcane bagasse and straw from residues of sugar and alcohol plants<sup>1</sup>, which is primarily constituted of cellulose, hemicelluloses and lignin. Cellulose and hemicelluloses are considered noble materials and are largely used in paper production, food and pharmaceuticals industries, and, more recently, in the production of ethyl alcohol. Thus, hundreds of tons of lignin, which is the main byproduct of the extraction of carbohydrates from vegetal biomass, are generated every year<sup>2-4</sup>.

Moreover, to obtain this second-generation ethyl alcohol, the carbohydrates enzymatic hydrolysis releases lignin as a byproduct. Lignin is produced by the treatment with very specific cellulolytic enzymes, such as cellulases. However, despite the high cost of these enzymes, the hydrolysis process occurs under low temperature and pressure conditions, decreasing costs<sup>5-6</sup>.

Lignin is considered a tridimensional ramified and amorphous macromolecule present in the cellular wall and in the middle lamella of vegetal cells. It is constituted of several p-hydroxyphenyl (H), syringyl (S) and guaiacyl (G) monomers, which are used for lignin classification<sup>7</sup>. The large number of possible arrangements makes lignin a more complex material than cellulose and hemicelluloses and, thus, it is quite difficult its conversion in more interest economic materials.<sup>4,8-9</sup>

Lignin is also a high calorific value material, being a useful source for energy generation<sup>10</sup>. Moreover, lignin has been recently used as a source for new materials production, such as films for foods packages<sup>11</sup>, nanomaterials, cosmetics, pharmaceuticals<sup>12-13</sup>, fuel as hydrocarbons<sup>14-15</sup>, and membranes for lithium batteries<sup>16</sup>. Therefore, the knowledge of the lignin structure would allow

and make easier its conversion to a large number of products, which nowadays are most obtained from petrol.

The need for less polluting processes using renewable and sustainable materials give rise to technologies that uses biomass (agriculture residues that cannot be used as food) as starting materials and to enzymatic processes, which in fact are specific and less polluting. Thus, the present work aims to characterize the lignin that is obtained as a byproduct from the sugarcane bagasse carbohydrate enzymatic hydrolysis process, derived from a second-generation ethyl alcohol plant.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **1. Material**

The lignin used in this study was obtained by the enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse (second generation ethanol production process) provided by the company “Raízen”, which operates in São Paulo - SP, Brazil.

### **2. Characterization of lignin from sugarcane bagasse (LSC)**

The superior calorific value was determined according to the American ASTM D method<sup>17</sup>, using a digital calorimeter (IKA C-200 model).

The thermogravimetric analyses were carried out in the 25 °C to 900 °C temperature range, under nitrogen atmosphere or synthetic air (both at 50 mL min<sup>-1</sup>), with a heating rate of 10 °C min<sup>-1</sup>, using a Shimadzu DTG-60AHA thermomechanical analyzer. The amount of sample used for the pyrolytic analysis and for the burning experiments was 13 mg and 5mg, respectively.



The calorimetric analysis was performed in the 25 °C to 500 °C temperature range, with a 10 °C min<sup>-1</sup> heating rate, under nitrogen atmosphere (50 mL min<sup>-1</sup>) in a Shimadzu ca-60Ab, using *ca.* 8 mg of lignin.

The point of zero charge (pH<sub>pzc</sub>) was determined by the pH drift method, according to Şimsek (2016)<sup>18</sup>. Portions of *ca.* 0.1 g of LSC were mixed with 50 mL of 0.1 mol L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub> previously boiled for 5 min in order to remove the carbon dioxide. The initial pH values of the solutions were adjusted to 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, and 10.0 by the addition of 0.10 mol L<sup>-1</sup> NaOH and 0.10 mol L<sup>-1</sup> HCl. The mixtures were stirred during 24 h at 150 rpm (room temperature) and filtered. The filtered solution from each mixture was degassed for 2 h with N<sub>2</sub>, and the pH was measured (final pH). The LSC pH<sub>pzc</sub> was obtained by plotting initial pH vs. final pH.

Syringyl and guaiacyl monomers from LSC were obtained from the HPLC quantitative analysis, as adapted from the procedure described by Lin & Dence (1992)<sup>19</sup>. The sample was oxidized with nitrobenzene and transferred to a 50 mL volumetric flask and its volume was adjusted with acetonitrile/water solution (1:1 v/v). This solution was filtered through a 0.45 µm regenerated cellulose membrane in order to remove the high molecular weight compounds and after, the chromatographic analysis was performed for the quantitative determination of syringyl-guaiacyl derivatives from the oxidation process. A Shimadzu CBM-20A equipped with a UV-SPD-20A detector at 280 nm, with a LC-18 column, furnace at 40 °C and 10 µL samples was used for this analysis. Elutions with acetonitrile/water (1:6 v/v) at 1.0 mL min<sup>-1</sup> rate were performed and the pH was kept at 2.6 with the use of trifluoroacetic acid (5%). The analytical plots were built with vanillin standard solutions at the following concentrations: 0.10, 0.15, 0.21, 0.30, 0.50, 0.75, and 1.50 mmol L<sup>-1</sup> for the guaiacyl unit derivatives, and syringaldehyde standard solutions at: 0.22, 0.33,

0.47, 0.66, 1.10, 1.65, and 3.30 mmol L<sup>-1</sup> for the syringyl unit derivatives. All solutions were prepared with acetonitrile/water (1:1 v/v) mixture.

The lignin was also analyzed through its infrared spectra using a Shimadzu FTIR IRAffinity-1 spectrometer. The following conditions were used: KBr disc, 32 scans, at resolution of 4 cm<sup>-1</sup> in the range of 4400 to 400 cm<sup>-1</sup>.

The ash content was obtained according to the American ASTM - E method<sup>20</sup> and the purity grade was determined using the Klason method<sup>21</sup>. X-Ray fluorescence analysis was performed in a dispersion wavelength sequential Shimadzu X-Ray 1800 spectrometer, equipped with rhodio X-rays source, 40 KV and 95 mA, under vacuum, with a rotating sampler. A continuous scanning at 8° min<sup>-1</sup> and 0.1° steps was performed. The detection channels for Ti-U spectra were scanned from 10 to 90° (2  $\theta$ ), using a LiF (200) diffraction channel and scintillation detector (SC). Scanning from 90 to 140° (2  $\theta$ ) was applied for K, Ca, Sn and Cs at LiF (200) diffraction channel with a proportional flux (PCF) detector. Further scan mode 108-114° (2  $\theta$ ), Ge diffraction channel and proportional flux (PCF) detector was used for S. The presence of C, H and O in the sample matrix were taken into account for the mass balance. The semi-quantitative results were obtained by the Fundamentals Parameters method.

LSC atomic absorption spectra for P, K, Ca, Mg, S, Cu, Mn, Zn and Fe were obtained using a Varian SpectrAA 110 instrument.

The sample elemental analysis was performed as a complementary data for the NMR results. The C, H and N percentages were obtained using a Perkin Elmer CHN 4200 simultaneous analyzer. The oxygen content was calculated as the remaining element, after discounting the ash content.

The NMR spectra were acquired using a Bruker Avance III spectrometer 11.74 T operating at a frequency of 499.87 MHz for H and at 125.71 MHz for <sup>13</sup>C, using 40 mg of the sample in 0.7 mL deuterated dimethylsulfoxide solution (DMSO-*d*<sub>6</sub>). All chemical shifts were referenced to internal tetramethylsilane

(TMS). The lignin  $^1\text{H}$  spectrum was recorded at 27 °C with 32 K data points and 60 K scans, using a 11.75  $\mu\text{s}$  pulse with 1s pulse delay. A detailed  $^1\text{H}$  NMR spectrum was acquired with 0.49 acquisition time, 6.4 ms pulse and 5 s pulse delay. Then, a DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) experiment was performed for the carbon signal assignments, at 24 °C, using 32 K data points, 14 K scans and 0.49 s as acquisition time. The main spectra were obtained with 90° and 135° pulses and the subspectra for CH, CH<sub>2</sub> and CH<sub>3</sub> were analyzed according to Chen and Robert (1988)<sup>22</sup>. In addition, a Solid-state Cross-Polarization Magic Angle Spinning (CPMAS) spectrum was obtained for the studied sample using a Bruker Avance II+ 400 MHz spectrometer.

## RESULTS AND DISCUSSION

The superior average calorific value determined for LSC was 6297 cal g<sup>-1</sup>, with a fluctuation coefficient of 0.36%. This value is considered high when compared to the superior average calorific value found for wood (4000-5000 cal g<sup>-1</sup>)<sup>23-24</sup> and for sugarcane bagasse (4274 cal g<sup>-1</sup>)<sup>25</sup>. This may be due to the fact that the C/O ratio for lignin is approximately *ca.* 4.5, while the carbohydrates cellulose and hemicelluloses have a C/O ratio of approximately *ca.* 1, which means that the lignin structure presents higher amounts of carbon atoms.

The thermal stability of the lignin was investigated by thermogravimetric analysis (TG/DTG). Figures 1 and 2 show the curves obtained in N<sub>2</sub> and synthetic air, respectively. In the pyrolysis reaction (Figure 1), the first significant loss of mass occurs from 30 °C to 78 °C, corresponding to nearly 5% of sample dehydration. From 200 °C to 500 °C, the degradation of the material occurs with approximately 44% mass loss, which in the DTG curve indicates DTG<sub>max</sub> around 355 °C. The degradation products are oxygen

compounds of low molecular mass, such as organic acids and derivatives of phenolic compounds formed by the fragmentation of the lignin macromolecule (DOMINGUEZ-ROBLES, 2017). Above 355 °C, the degradation occurs more slowly. This behavior is similar to that observed by Dominguez-Robles (2017) in lignin samples from wheat straw and barley, extracted by the alkali process with sodium hydroxide, which had an initial degradation temperature of 220 and 207 °C, higher than the lignin of this study. The greatest mass loss occurred at 342 °C for wheat straw and at 310 °C for barley. Lignin is a polymer that is more thermally stable and more difficult to decompose compared to the other two fractions found in lignocellulosic materials (cellulose and hemicelluloses).

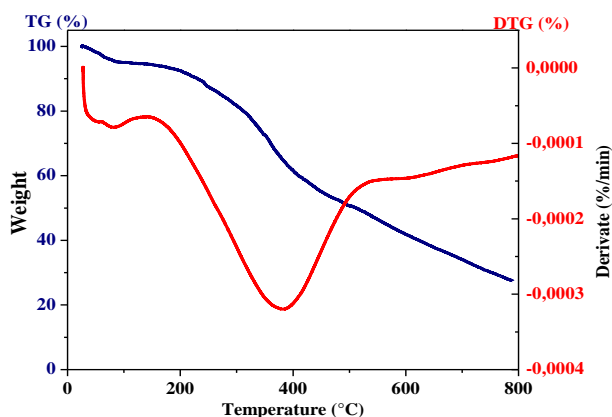


Figure 1. (a) TG and DTG plots for LSC in N<sub>2</sub> (12.966 mg).

In the combustion reaction (Figure 2), it is shown that the sample presents thermal stability until near 200 °C, and after this temperature, the degradation process takes place. The sample is fully decomposed at about 400 °C. A similar behavior was observed by Nair et al. (2014)<sup>28</sup> and Yang et al. (2015)<sup>29</sup>, who investigated original and nanoparticulated grass lignin. The pyrolysis without oxygen led to a slower and gradual mass loss (from 200 °C to

800 °C), while the combustion in the presence of oxygen resulted in a faster process (from 200 °C to 400 °C).

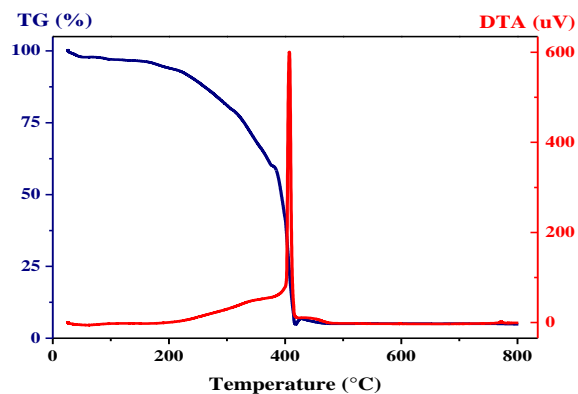


Figure 2. LSC TG and DTA in synthetic air (6.495 mg).

In the lignin DSC graph (Figure 3), an endothermic event at 70 °C due to the latent heat from water loss and an exothermal event near 400 °C due to lignin pyrolysis (decomposition reactions and aromatic rings condensation) are observed<sup>30</sup>. The LSC sample purification (91.3% purity grade), after cellulose and hemicelluloses were removed in the enzymatic process might have lead to a shift of exothermal processes to higher temperatures<sup>31</sup>.

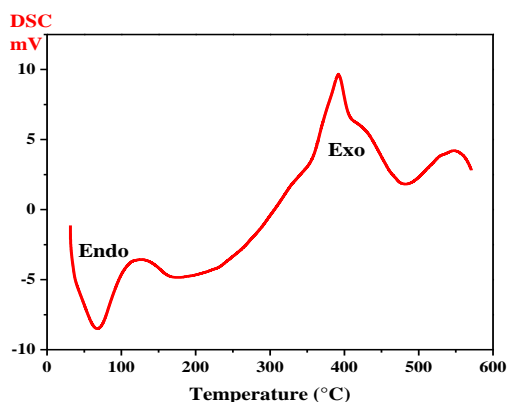


Figure 3. LSC DSC in N<sub>2</sub> atmosphere (10.209 mg).

The point of zero charge analysis for LSC ( $\text{pH}_{\text{PZC}}$ ), shown in Figure 4, resulted in a  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  value of 4.23. Thus, for medium pH values higher than the  $\text{pH}_{\text{PZC}}$ , lignin predominantly presents a negative charge whereas for values smaller than  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  it tends to present a positively charged surface. This is relevant for applications where positive and negative superficial charges may affect the results.

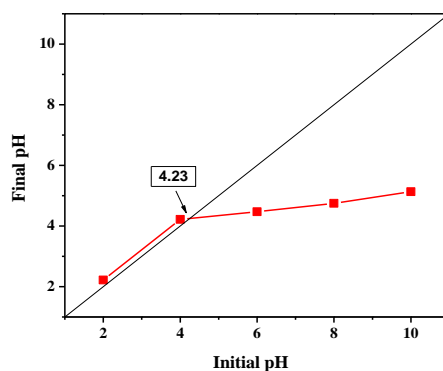


Figure 4. LSC point of zero charge ( $\text{pH}_{\text{PZC}}$ ).

The quantitative determination of the monomeric units present in the lignin led to concentrations of 4.213 mg L<sup>-1</sup> for syringyl (S) and 2.0162 mg L<sup>-1</sup> for guaiacyl (G), giving a S/G ratio of 2.09. The studied lignin is an H-G-S type

grass, which is composed of p-hydroxyphenyl group (H) and guaiacyl (G) and syringyl (S) units. From the literature, it is concluded that grass lignin has larger amounts of H units<sup>32-33</sup>. A controlled degradation of lignin is important for the polymers synthesis and also for the preparation of other products relevant to chemical industries. The occurrence of larger amounts of H units, which do not present a methoxyl group attached to the aromatic ring, allows the achievement of reactions at positions 3 and 5 of the aromatic ring, as shown in Figure 5, facilitating the occurrence of condensation reactions<sup>30,34</sup>.

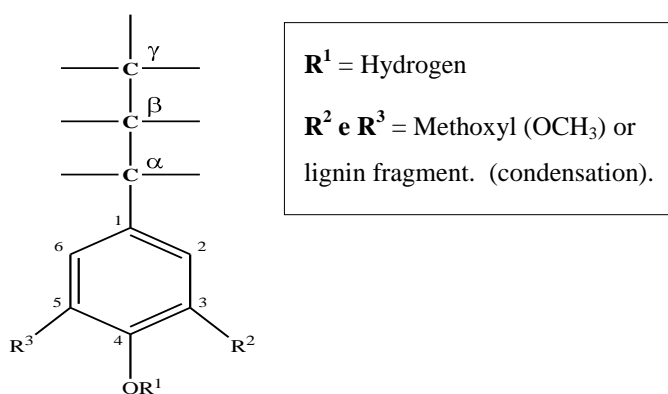


Figure 5. Phenylpropanoid structure of lignin primary precursors.

The LSC infrared spectrum is shown in Figure 6. The absorption band assignments were performed by comparison with lignin derivatives and model compounds spectra previously reported on the literature. Sugarcane is classified as a graminacea grass, which is also used in the nomenclature of similar plants<sup>35-36</sup>. The broad absorption at  $3400\text{ cm}^{-1}$  is due to OH groups, while the ones at  $2920\text{ cm}^{-1}$  (aromatic  $\text{sp}^2\text{CH}$ ) and at  $2850\text{ cm}^{-1}$  (aliphatic  $\text{sp}^3\text{CH}$ ) are assigned to symmetrical and asymmetrical stretching bands<sup>33</sup>. At  $1458\text{ cm}^{-1}$  the bending band for methyl groups CH is observed, while the band at  $1219\text{ cm}^{-1}$  is assigned to synapyl and p-cumaryl groups (lignin primary precursors), and at  $851\text{ cm}^{-1}$  to aromatic out-of-plane vibrations.

Grass lignin obtained by alkaline extraction showed bands at 1510 e 1421  $\text{cm}^{-1}$ , which were also found in this work and assigned to phenylpropane units aromatic ring vibrations<sup>27</sup>. The band at 1032  $\text{cm}^{-1}$  is related to aromatic C-H bending and to carbohydrates C-OH, while the band at 1325  $\text{cm}^{-1}$  is due to C-O bonds present in the S units. Yang et al. (2015)<sup>29</sup> investigated grass lignin obtained from bioethanol through the enzymatic reaction for biocomposites synthesis (as nanoparticles) by infrared spectroscopy. The authors found that the grass lignin from bioethanol presented similar bands to the ones found in the present work and bands at 1605  $\text{cm}^{-1}$  due to the aromatic ring and at 1116  $\text{cm}^{-1}$  related to the HGS type lignin.

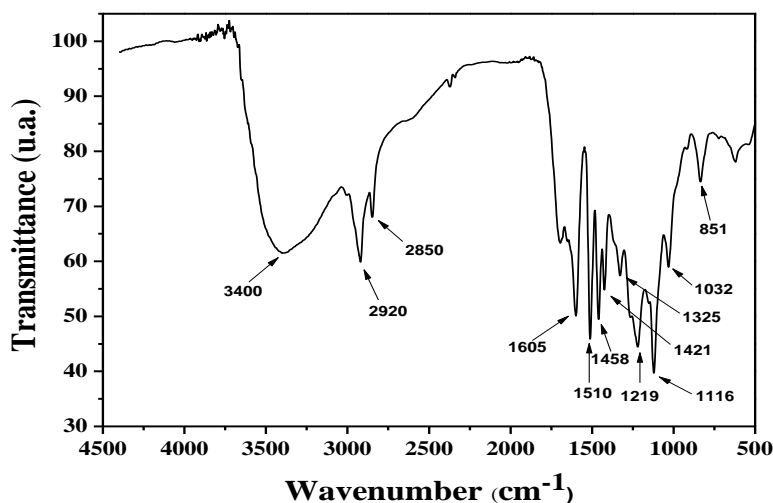


Figure 6. Fourier transform infrared spectrum of LSC (KBr).

The sugarcane bagasse lignin obtained through carbohydrates enzymatic hydrolysis presents 3.0% ash content and 91.3% of purity grade. The inorganic materials were determined by X-Rays fluorescence and atomic absorption. The results are given in Table 1.



Table 1. Inorganic components and CHO percentages found in LSC through X-Rays Fluorescence (XRF) and Atomic Absorption (AA).

<b>Method</b>	<b>S</b>	<b>Ca</b>	<b>Fe</b>	<b>Zn</b>	<b>K</b>	<b>Br</b>	<b>Cu</b>	<b>CHO</b>
	----- % -----							
XRF	0.62	0.073	0.066	0.05	0.039	0.0035	ND	99.16
AA	0.62	<DL	0.029	0.007	0.03	ND	0.0020	ND

DL = detection limit; ND = not determined.

The small amounts of minerals may be attributed to growing residues of the sugarcane plant, such as Fe, Ca, Zn, K, and Cu, detected by AA and XRF. Their presence depends on soil, climate and environmental conditions<sup>37</sup>.

Elemental analysis resulted in values equal to 59.1% for carbon, 5.5% for hydrogen, 0.81% for nitrogen, and 34.57% for oxygen. The results from the elemental analysis were used together with the NMR spectroscopy data for the determination of the minimum chemical formula of the studied lignin.

The <sup>13</sup>C NMR spectrum was obtained using the zppg30 pulse sequence and it is shown in Figure 7.

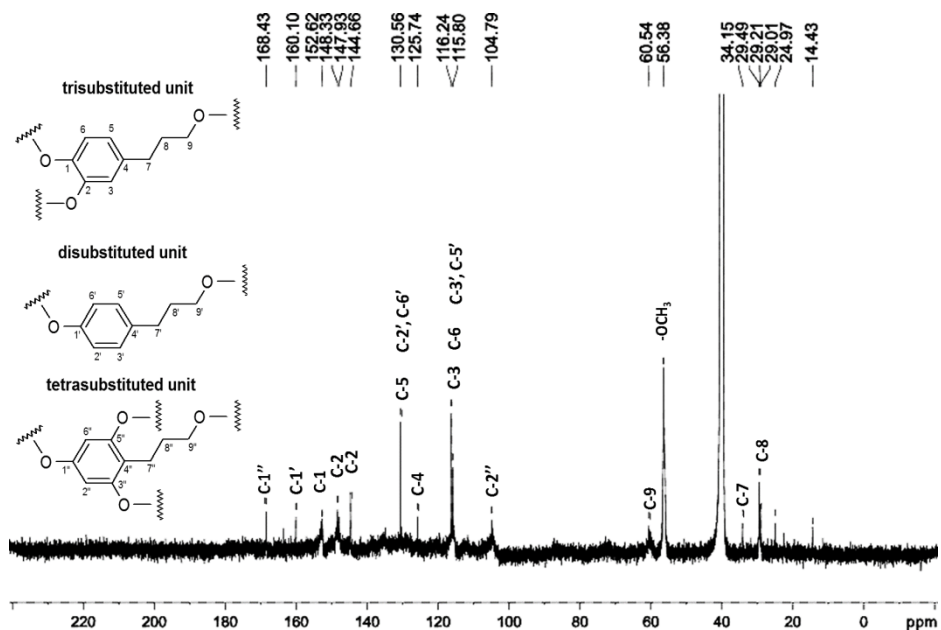


Figure 7. LSC  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum in  $\text{DMSO-}d_6$ . Parameters: ns= 60K, td= 32K, te= 300K, aq= 0.49s, d1 = 2s.

Nineteen signals were observed, presenting chemical shifts equal to 14.43, 24.97, 29.01, 29.21, 29.49, 34.15, 56.38, 60.54, 104.79, 115.80, 116.24, 125.74, 130.56, 144.66, 147.93, 148.33, 152.62, 160.10, and 168.43 ppm. The signals from 24.97 to 34.15 ppm were assigned to  $sp^3$  methylene carbon atoms, which agrees with the presence of phenylpropanoid units, while the signal at 60.54 ppm probably corresponds to C-9 (Figure 7) bonded to the oxygen atom. The signals at 24.97 and 34.15 ppm correspond to C-7 and C-8, respectively. As it can be seen, C-7 is slightly more deshielded due to the aromatic ring magnetic anisotropy.

The signal at 56.38 ppm is typical of a methoxyl group connected to an aromatic ring, while signals at 105 to 150 ppm can be assigned to aromatic ring carbon atoms. It was also noted the occurrence of di and trisubstituted aromatic systems as 1,4 and 1,2,4 patterns, respectively.

Tentative assignments of the signals for the trisubstituted unit led to signals at 152.62 (C-1), 148.33 (C-2), 115.60 (C-3), 125.74 (C-4), 130.56 (C-5), and 116.24 ppm (C-6). These assignments agree with the expected values for the carbon atoms of such pattern. Other chemical shifts were also assigned as follow: 160.10 (C-1'), 130.56 (C-2') and 115.60 ppm (C-3') for the 1,4 substituted ring. These assignments were confirmed by the DEPT-90 and DEPT-135 experiments (Figure 8).

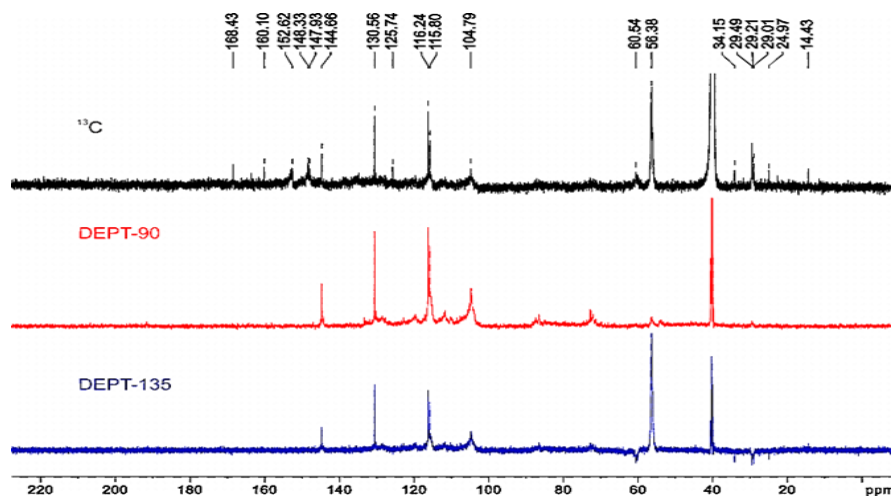


Figure 8. LSC  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum and the DEPT experiments.

Another possible explanation for the signal at 160.10 ppm can be considered with another pattern of ring substitution. Low intensity signals were also observed at 168.43 (C-1''), 104.79 (C-2''), and 160.10 ppm (C-3'') in the  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum, which could be attributed to a 1, 3, 4 and 5 substituted ring. These signals were also confirmed by the DEPT experiments.

The solid-state CPMAS spectrum is shown in Figure 9. In this spectrum, signals in between 24.76 and 44.43 ppm correspond to the methylene carbon atoms of the C3 unit, while a signal at 55.79 ppm to the

methoxyl groups attached to the aromatic system. Signals between 104 and 160 ppm, not resolved, can be assigned to the  $sp^2$  aromatic ring carbon atoms.

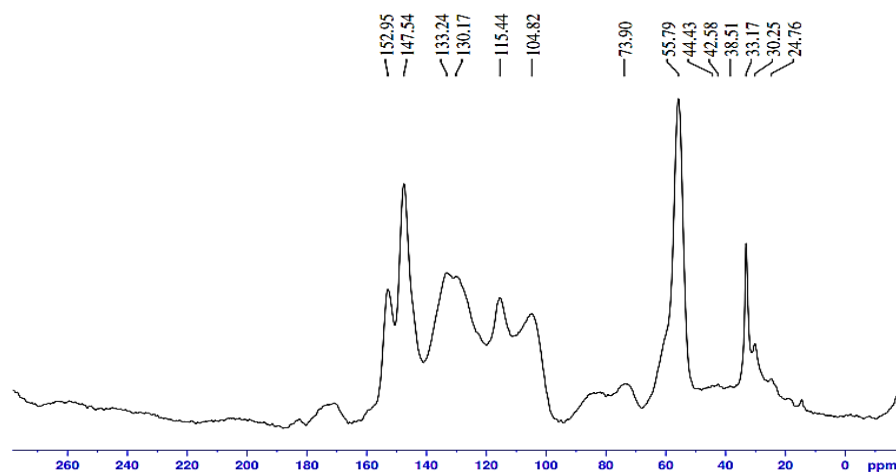


Figure 9. LSC solid sample  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum. Parameters: ns= 75K, td= 20K, te= 300K, aq= 0.034s, d1 = 2s.

The integration of the LSC  $^1\text{H}$  NMR spectrum allowed a semi-quantitative analysis as shown in Figure 10 and Table 2, according to Chen, Robert (1988)<sup>22</sup> and Gonçalves (2000)<sup>38</sup>.

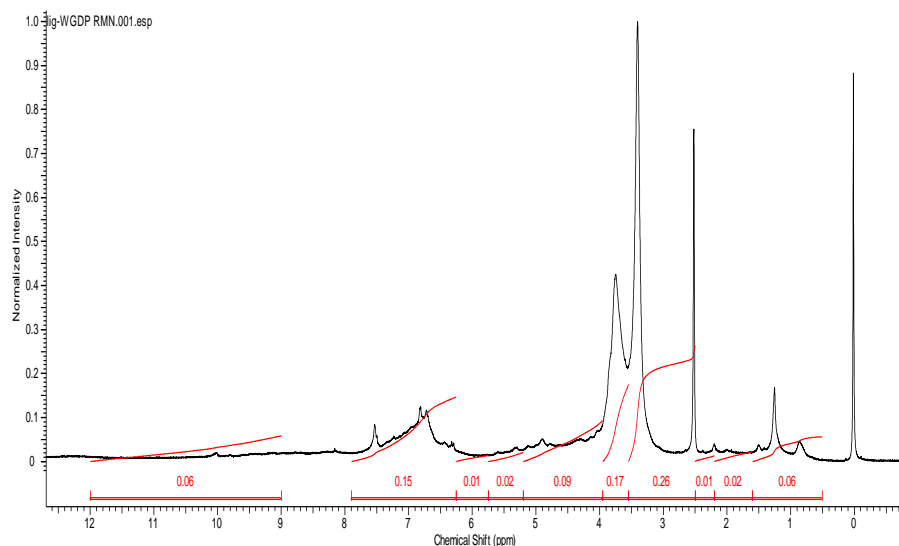


Figure 10. LSC  $^1\text{H}$  NMR spectrum showing the signals integration.

Table 2. LSC  $^1\text{H}$  NMR data.

Chemical shift range	Assignments (Arbitrary units)	Area	Hydrogen
			$\text{C}_{4.92}\text{H}_{5.5}\text{O}_{2.16}$
9.00 – 12.00	Carboxylic acids and aldehydes	0.06	0.39
6.25 – 7.90	Aromatic groups	0.15	0.97
5.75 – 6.25	Non cyclic benzyl groups	0.01	0.064
5.20 – 5.75	Cyclic benzyl groups	0.02	0.13
3.95 – 5.20 and 2.50 – 3.55	Aliphatic groups	0.35	2.26
3.55 – 3.95	Methoxyl group	0.17	1.1
2.20 – 2.50	Aromatic acetoxy groups	0.01	0.064
1.60 – 2.20	Aliphatic acetoxy groups	0.02	0.13
Smaller than 1.60	Non oxygenated aliphatic groups	0.06	0.39
	<b>Total</b>	<b>0.85</b>	<b>5.50</b>

In the average molecular formula  $\text{C}_{4.92}\text{H}_{5.5}\text{O}_{2.16}$ , determined from the elemental analysis, the presence of nitrogen was neglected and the amount of oxygen was calculated by the exclusion of carbon and hydrogen atoms.

The determined formula for the studied lignin corresponds to the structure of hydroxyphenyl, named as C<sub>9</sub>, which has six aromatic and three aliphatic carbon atoms (alpha, beta and gamma) in the side chain (Figure 5). The methoxyl group also occurs as shown in Table 2. Thus, the total area for the hydrogen atoms (0.85) corresponds to 5.5 hydrogens, while 0.37 methoxyl units (1.1/3) are found, leading to a new molecular formula C<sub>4.55</sub>H<sub>4.4</sub>O<sub>1.8</sub>(OCH<sub>3</sub>)<sub>0.37</sub>, which was changed for C<sub>9</sub>, resulting in C<sub>9.00</sub>H<sub>8.7</sub>O<sub>3.56</sub>(OCH<sub>3</sub>)<sub>0.73</sub>. These data are in agreement with values reported by classical methods and by Gonçalves (2000)<sup>38</sup>, who found 0.57 methoxyl groups for each C<sub>9</sub> unit. In the present work, the number of methoxyl groups found for each C<sub>9</sub> unit was 0.73.

## CONCLUSIONS

The reported data in the present work led to relevant information on lignin from carbohydrates of sugarcane bagasse (LSC) enzymatic hydrolysis, a byproduct from second generation of ethyl alcohol production. This lignin is very interesting since it presents a high purity, higher than 90%, low ash content and high calorific value. This suggests that the studied lignin can be used without further expensive purification processes. The calculated S/G ratio (2.09) reveals a higher amount of syringyl than guaiacyl groups in the lignin structure. The <sup>13</sup>C NMR spectrum in solution showed that di-, tri and tetra-substituted units are present, which was confirmed by the solid-state CPMAS experiment. The integrated <sup>1</sup>H NMR spectrum together with elemental analysis data led to the determination of the minimum molecular formula: C<sub>9.00</sub>H<sub>8.7</sub>O<sub>3.56</sub>(OCH<sub>3</sub>)<sub>0.73</sub>. All this information is relevant for the development of economically feasible processes that aim at converting lignin to materials and products of higher aggregated value. Thus, the present work can help to stimulate the

production of cellulosic ethyl alcohol from sugarcane bagasse lignin and also, the installation of biorefineries, as it occurred early when the ethyl alcohol production (first generation) led to the arising of several sugar and alcohol plants around the country.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the “Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ-UFLA)”, the Biomaterials Laboratory (DCF-UFLA) and the NMR Laboratory (IQ-UNICAMP) for the analyses; and CNPq, FAPEMIG, CAPES and FAPESP (Grant #2016/24109-0) for the financial support of this work as well as for the scholarship to W.G.D.P.S. #2016/12005-5.

**Conflict of interest:** The authors declare no competing financial interest.

## REFERENCES

- [1] Welfle, A. Balancing growing global bioenergy resource demands-Brazil's biomass potential and the availability of resource for trade. *Biomass Bioenergy*. 105, **2017**, 83-95.
- [2] Cunha-Pereira, F.; Hickert, L. R.; Sehnem, N. T.; Souza-Cruz, P. B.; Rosa, C. A.; Ayuba, M. A. Z. Conversion of sugars present in rice hull hydrolysates into ethanol by *Spathaspora arborariae*, *Saccharomyces cerevisiae*, and their co-fermentations. *Biores Tech*. 102, **2011**, 4218-4225.
- [3] Nigam; P. S; Singh, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Prog Energy Combust Sci*. 37, **2011**, 52-68.
- [4] Sindhu, R.; Gnansounou, E.; Binod, P.; Pandey, A. Bioconversion of sugarcane crop residue for value added products—An overview. *Renew Ener*. 98, **2016**, 203-215.

- [5] Duff, S. J. B., Murray, W. D. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review. *Biores Tech.* 55, **1996**, 1 - 33.
- [6] Oladi, S.; Aita, G. M. Interactive effect of enzymes and surfactant on the cellulose digestibility of un-washed and washed dilute ammonia pretreated energy cane bagasse. *Biomass Bioenergy.* 109, **2018**, 221-230.
- [7] Fengel, D.; Wegener, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions.** New York: Walter de Gruyter, p. 113, 1989.
- [8] Kai, D.; Tan, M. J.; Chee, P. L.; Chua, Y. K.; Yap, Y. L.; Loh, X. J. Towards lignin-based functional materials in a sustainable world. *Green Chem.* 18, **2016**, 1175-1200.
- [9] Menezes, F. F.; Rencoret, J.; Nakanishi, S. C.; Nascimento, V. M.; Silva, V. F. N.; Gutiérrez, A.; del Río, J. C.; Rocha, G. J. M. Alkaline Pretreatment Severity Leads to Different Lignin Applications in Sugar Cane Biorefineries. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 5, **2017**, 5702-5712.
- [10] Bechara, R.; Gomez, A.; Saint-Antonin, V.; Schweitzer, J.; Maréchal, F. Methodology for the optimal design of an integrated sugarcane distillery and cogeneration process for ethanol and power production. *Energy.* 117, **2016**, 540-549.
- [11] Yanga, W.; Owczarek, J. S.; Fortunati, E.; Kozanecki, M.; Mazzaglia, A.; Balestra, G. M.; Kenny, J. M.; Torre, L.; Puglia, D. Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol/chitosan films for active packaging. *Ind Crops Prod.* 94, **2016**, 800-811.
- [12] Gilca, I. A.; Popa, V. I.; Crestini, C. Obtaining lignin nanoparticles by sonication. *Ultrason Sonochem.* 23, **2015**, 369-375.
- [13] Aditiya, H. B.; Mahlia, T.M.I.; Chong, W.T.; Nurc, H.; Sebayang, A.H. Second-generation bioethanol production: A critical review. *Renew Sust Energ Rev.* 66, **2016**, 631-653.
- [14] Laskar, D. D.; Yang, B.; Wang, H.; Lee, J. Pathways for biomass-derived lignin to hydrocarbon fuels. *Biofuel Bioprod Bior.* 7, **2013**, 602-626.
- [15] Shimanskaya, E.; Stepacheva, A. A.; Sulman, E.; Rebrov, E.; Matveeva, V. Lignin-containing Feedstock Hydrogenolysis for Biofuel Component Production. *Bull Chem Reaction Eng Cat.* 13, **2018**, 74-81.



- [16] Yun, B. L.; Haijun, H.; Amin, C.; Yuanhua, S.; Mingshan, L.; Li, W. X. A high-performance and environment-friendly gel polymer electrolyte for lithium ion battery based on composited lignin membrane. *J Solid State Electrochem.* 22, **2018**, 1-10.
- [17] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. E 1755: Standard test method for ash in biomass. West Conshohocken, 3 p. 1995a.
- [18] Şimşek, S. Adsorption properties of lignin containing bentonite–polyacrylamide composite for ions. *Desalin Water Treat.* 57, **2016**, 23790-23799.
- [19] Lin, S. Y.; Dence, C. W. **Methods in lignin chemistry**. Berlin: Springer Verlag, 1992.
- [20] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. D 2015: Standard test method for gross calorific value of coal and coke by the adiabatic bomb calorimeter, 2000.
- [21] Gomide, J. L.; Demuner, B. J. Determinação do teor de lignina em material lenhoso: método Klason modificado. *O papel.* 47, **1986**, 36-38.
- [22] Chen, C. L.; Robert, D. **In Methods in Enzimology**, 161, Wood, W. A.; Kellog, S. T., Eds.; Academic Press; New York, p. 137, 1988.
- [23] Günther, B.; Gebauer, K.; Barkowski, R.; Rosenthal, M.; Bues, C. Calorific value of selected wood species and wood products. *Eur J Wood Wood Prod.* 70, **2012**, 755-757.
- [24] Martinka, J.; Martinka, F.; RantuchIvan, P.; Blinová, H. L.; Balog, K. Calorific value and fire risk of selected fast-growing wood species. *J Therm Anal Calorim.* 131, **2018**, 899-906.
- [25] Paula, L.E.R.; Trugilho, P. F.; Napoli, A.; Bianchi, M. L. Characterization of residues from plant biomass for use in energy generation. *Cerne.* 17, **2011**, 237-246.
- [26] Ahuja, D.; Kaushik, A.; Chauhan, G. S. Fractionation and physicochemical characterization of lignin from waste jute bags: Effect of process parameters on yield and thermal degradation. *Int J Biol Macromol.* 97, **2017**, 403-410.

- [27] Domínguez-Robles, J.; Sánchez, R.; Espinosa, E.; Savy, D.; Mazzei, P.; Piccolo, A.; Rodríguez, A. Isolation and characterization of gramineae and fabaceae soda lignins. *Int J Mol Sci.* 18, **2017**.
- [28] Nair, S. S.; Sharma, S.; Pu, Y.; Sun, Q.; Pan, S.; Zhu, J. Y.; Deng, Y.; Ragauskas, J. High shear homogenization of lignin to nanolignin and thermal stability of Nanolignin-Polyvinyl alcohol blends. *Chem Sus Chem.* 7, **2014**, 3513-3520.
- [29] Yang, W.; Kenny, J. M.; Puglia, D. Structure and properties of biodegradable wheat gluten bionanocomposites containing lignin nanoparticles. *Ind. Crops. Prod.* 74, **2015**, 348-356.
- [30] Chimenez, T. A.; Gehlen, M. H.; Marabezi, K.; Curvelo, A. A. S. Characterization of sugarcane bagasse by autofluorescence microscopy. *Cellulose.* 21, **2014**, 653-664.
- [31] Tsujiyama, S.; Miyamori, A. Assignment of DSC thermograms of wood and its components. *Thermochim. Acta.* 351, **2000**, 177-181.
- [32] Barbosa, L. C. A.; Maltha, C. R. A.; Silva, V. L.; Colodette, J. L. Determinação da relação siringila/guaiacila da lignina em madeiras de eucalipto por pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas (PI CG/EM). *Quím. Nova.* 31, **2008**, 2035-2041.
- [33] Santos, R. C.; Carneiro, A. C. O.; Vital, B. R.; Castro, R. V. O.; Vidaurre, G. B.; Trugilho, P. F.; Castro, A. F. N. M. Influência das propriedades químicas e da relação siringil/guaiacil da madeira de eucalipto na produção de carvão vegetal. *Ciência Florestal.* 26, **2016**, 657-669.
- [34] Moreira, P. H. S. S.; Freitas, J. C. O.; Braga, R. M.; Araujo, R. M.; Souza, M. A. F. Production of carboxymethyl lignin from sugar cane bagasse: A cement retarder additive for oilwell application. *Ind. Crops. Prod.* 116, **2018**, 144-149.
- [35] Sarkanem, K. V.; Ludwig, C. H. Lignins, Occurrence, formation, structure and reations, John Wiley and Sons. **Lignins, Occurrence, formation, structure and reations, John Wiley and Sons**, 1971.
- [36] del Rio J. C.; Lino, A. G.; Colodette, J. L.; Lima, C. F.; Gutiérrez, A.; Martinez, A. T.; Lu, F.; Ralph, J.; Rencoret, J. Differences in the chemical structure of the lignins from sugarcane bagasse and straw. *Biomass Bioenergy.* 81, **2015**, 322-338.

[37] Gar, P. S.; Suresh, N.; Bindiganavile, V. Sugar cane bagasse ash as a pozzolanic admixture in concrete for resistance to sustained elevated temperatures. *Constr. Build. Mater.* 153, **2017**, 929-936.

[38] Gonçalves, A. R.; Schuchardt, U.; Bianchi, M. L.; Curvelo, A. A. S. Piassava fibers (*Attalea funifera*): NMR spectroscopy of their lignin. *J. Braz. Chem. Soc.* 11, **2000**, 491-494.

**ARTIGO 2****ESTUDO DA ESTRUTURA QUÍMICA DE LIGNINA DE BAGAÇO DE  
CANA-DE-AÇÚCAR OBTIDA POR DIFERENTES MÉTODOS DE  
EXTRAÇÃO**

**Artigo redigido conforme norma da revista Química Nova “Versão  
Preliminar”**

Janaína Alves Carvalho<sup>a</sup>, Matheus Felipe Freire Pego<sup>b</sup>, Elton Francisquini<sup>a</sup>,  
Dieimes Ribeiro Resende<sup>b</sup>, Maria Lúcia Bianchi<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química (DQI), Universidade Federal de Lavras, CEP 37200-000, Caixa Postal 3037, Lavras, MG, Brasil

<sup>b</sup>Departamento de Ciências Florestais (DCF), Universidade Federal de Lavras, CEP 37200-000, Caixa Postal 3037, Lavras, MG, Brasil

\*e-mail: bianchi@dqi.ufla.br

## Resumo

O bagaço de cana-de-açúcar é um subproduto do processo de produção de etanol de primeira geração, gerado em grande quantidade no Brasil e utilizado na cogeração de energia. Um dos componentes deste é a lignina, uma subunidade com função importante no complexo lignocelulósico. Recentemente, tem-se observado grande aumento no interesse pela extração de lignina de biomassa não-madeira, como a cana-de-açúcar, devido ao grande potencial de utilização e abundância. Neste estudo foram analisadas as características estruturais de ligninas de bagaço de cana-de-açúcar isoladas pelos métodos Klason, Lignina de Madeira Moída (MWL) e Álcali, obtidas de uma mesma amostra. Foram realizadas as análises de caracterização do bagaço de cana-de-açúcar: análise elementar, poder calorífico, umidade, densidade aparente e energética, extrativos, cinzas, teor de lignina, carbono fixo e quantificação dos monômeros S e G. As análises demonstraram concordância com outros estudos sobre o bagaço de cana. As ligninas obtidas pelos diferentes métodos de isolamento foram caracterizadas por TG, DSC e FTIR. As informações obtidas após o isolamento apontaram resultados característicos de cada lignina. Estas informações podem contribuir com estudos sobre as modificações causadas pelos diferentes métodos de obtenção da lignina e fortalecer futuros estudos sobre a transformação desta matéria prima renovável em produtos de maior valor econômico.

Palavras-chave: Klason, MWL, Biomassa, Lignina Álcali.

## Introdução

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e o primeiro a produzir açúcar e etanol a partir dela, dessa forma, gera, anualmente, milhares de toneladas de bagaço, resíduo lignocelulósico com grande potencial de utilização (FIORELLE et al, 2011; SOARES, 2017; BRASIL, 2018). Entretanto, esse resíduo é utilizado, principalmente, como combustível e na preparação de adubos e ração, não existindo, ainda, tecnologias viáveis para obtenção de materiais e insumos de maior valor econômico a partir dele. Um dos componentes do bagaço de cana-de-açúcar que possui grande potencial de utilização é a lignina (CARVALHO, 2013).

A lignina é constituída por anéis aromáticos, unidades de fenilpropanóide, formada pelos precursores principais p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) em quantidades e sequências variadas (SARKANEN, 1971, GOMES GOUVÊA, 2017). Existem diferentes métodos de extração da lignina a partir dos materiais lignocelulósicos, porém, devido à complexidade da sua estrutura, nenhum método consegue isolar a lignina em sua forma nativa, sem provocar modificações na estrutura original. Portanto, cada método diferente utilizado produz uma lignina diferente, modificada, dificultando sua posterior conversão e aplicação (PASQUINI et al., 2002; JOHN; THOMAS, 2008).

Assim, estudos com foco na caracterização de ligninas de bagaço de cana-de-açúcar podem elucidar modificações causadas nas estruturas químicas e auxiliar na descoberta de novos métodos e tecnologias de conversão desta biomassa (AL ARNI, 2018). Métodos de extração de lignina utilizados para madeiras podem ser aplicados também em gramíneas, como o bagaço de cana-de-açúcar (BALAKSHIN, 2011; TARMADI, 2017). O método Klason, por exemplo, remove os polissacarídeos do material por reação de hidrólise ácida,

sendo a lignina obtida como um resíduo (GOMIDE E DEMUNER, 1986). Já no processo de isolamento por extração com solvente, Lignina de Madeira Moída (ou Milled Wood Lignin - MWL), são utilizados solventes orgânicos (tolueno, dioxano, acetona, dentre outros) durante a moagem do material lignocelulósico em moinho de bolas, provocando pequenas modificações nas características da estrutura inicial (FENGEL; WEGENER, 1989). No método Álcali, hidróxido de sódio é utilizado para liberar produtos solúveis que são separados por precipitação, processo usado em polpação (DOMÍNGUEZ-ROBLES, 2017; MOREIRA, 2018).

O conhecimento da estrutura da lignina extraída ou isolada por diferentes métodos é muito importante, já que pode ser utilizado como ferramenta para explorar as potencialidades do bagaço de cana-de-açúcar e para transformar as diferentes ligninas em produtos químicos e biomateriais, além da sua utilização como fonte energética (bioeletricidade). Assim, este estudo avaliou as características de ligninas de bagaço de cana-de-açúcar isoladas pelos métodos Klason, Lignina de Madeira Moída (MWL) e Álcali, todas obtidas de uma mesma amostra.

## **Material e Métodos**

### *Material*

A matéria-prima utilizada neste estudo foi bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) doado pelo alambique de cachaça Bocaina localizado na Rodovia BR 265, km 349, Lavras, Minas Gerais. O material foi processado em moinho de facas utilizando uma peneira com malha de aproximadamente 5,5 mm e, posteriormente, acondicionado para secagem a 60 °C, em condições de umidade de aproximadamente 15%.

*Caracterização do bagaço de cana*

A quantificação dos componentes elementares carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, foi realizada em triplicata, num analisador universal Elementar, modelo Vario Micro Cube. Foram utilizados os gases hélio, como gás de arraste e oxigênio para ignição. A massa de cada amostra seca utilizada foi de aproximadamente 2 mg, que foram acondicionados em cápsula de estanho e incinerados a 1.200 °C. A quantificação do elemento oxigênio foi realizada por diferença.

As análises instrumentais do bagaço de cana-de-açúcar foram realizadas em triplicata. A determinação do poder calorífico superior (PCS) foi realizada segundo a norma ASTM E711-87 (ASTM, 2004) em calorímetro digital modelo IKA C-200, utilizando 0,3 g de amostra com granulometria de 40-60 mesh, secas em estufa a  $103 \pm 2$  °C até massa constante antes da determinação. O poder calorífico inferior e útil (PCI e PCU), foram calculados segundo Faria et al. (2016), e as Equações 1 e 2 mostram o cálculo matemático utilizado:

$$PCI = PCS - (600 \times 9 \times H/100) \quad (1).$$

Em que:

- PCI: Poder calorífico inferior ( $\text{kcal kg}^{-1}$ );
- PCS: Poder calorífico superior ( $\text{kcal kg}^{-1}$ );
- H: Teor de hidrogênio (%) obtido na análise química elementar.

$$PCU = PCI \times \frac{100 - U_{bu}}{100} - (6 \times U_{bu}) \quad (2).$$

Em que:

- PCU: Poder calorífico útil ( $\text{kcal kg}^{-1}$ );



- PCI: Poder calorífico inferior ( $\text{kcal kg}^{-1}$ );
- Ubu: Umidade na base úmida (%).

As umidades do bagaço de cana, na base seca (Ubs) e base úmida (Ubu), foram determinadas de acordo com a norma DIN EN 14774-1 (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG, 2010a), em estufa a  $105 \pm 2$  °C, utilizando as Equações 3 e 4:

$$U_{bs} = \frac{\mu - ms}{ms} \times 100 \quad (3).$$

Em que:

- Ubs: Umidade na base seca (%);
- $\mu$ : massa de biomassa úmida (g);
- ms: massa de biomassa seca em estufa (g).

$$U_{bu} = \frac{\mu - ms}{\mu} \times 100 \quad (4).$$

Em que:

- Ubu: Umidade na base úmida (%);
- $\mu$ : massa de biomassa úmida (g);
- ms: massa de biomassa seca em estufa (g).

A determinação da densidade aparente (DA) foi realizada em condições ambientes de temperatura e umidade relativa. Uma proveta de  $1000 \text{ cm}^3$  foi preenchida com o bagaço de cana-de-açúcar e pesada com precisão de 0,1 g. O valor da DA foi obtido dividindo-se a massa obtida na pesagem pelo volume da amostra ( $1000 \text{ cm}^3$ ).

A densidade energética superior (DES), densidade energética inferior (DEI) e a densidade energética útil (DEU) foram obtidas multiplicando a densidade aparente pelo poder calorífico superior, inferior e útil, respectivamente.

Os extrativos foram determinados em solução de etanol/tolueno 1:2 (v/v) de acordo com norma NBR 14853 (ABNT, 2010). A lignina total (solúvel e insolúvel - Método Klason) foi determinada segundo Gomide e Demuner (1986). A holocelulose foi obtida por diferença como mostrado na Equação 5.

$$\text{HOL} = 100 - \text{EXT} - \text{LT} - \text{CZ} \quad (5).$$

Em que:

- HOL: Holocelulose (%);
- EXT: Extrativos (%);
- LT: Lignina total (%);
- CZ: Cinzas (%).

A caracterização química imediata, quantificando a composição de materiais voláteis, cinzas e, por diferença, carbono fixo foi determinada de acordo com a norma ASTM D1762-84 (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS - ASTM, 2007). O teor de carbono fixo foi determinado por diferença.

A análise quantitativa dos monômeros siringil e guaiacil foi feita por oxidação com nitrobenzeno de acordo com procedimentos descritos por Lin e Dence (1992) com adaptações. A cromatografia foi realizada em aparelho Shimadzu CBM-20A, equipado com detector UV-SPD-20A, operando em comprimento de onda de 280 nm. Foi utilizada coluna LC-18, temperatura do forno de 40°C e volume de injeção das amostras de 10µL. A fase móvel

utilizada foi acetonitrila/água (1:6 v/v) com fluxo de 1,0 mL/min, ajustando do pH em 2,6 com ácido trifluoracético 5%. Para obtenção das curvas de calibração foram utilizadas soluções padrões de vanilina nas concentrações 0,10; 0,15; 0,21; 0,30; 0,50; 0,75 e 1,50 mmol/L para os derivados das unidades de guaiacil e soluções padrão de siringaldeído nas concentrações de 0,22; 0,33; 0,47; 0,66; 1,10; 1,65 e 3,30 mmol/L para os derivados das unidades de siringil. As soluções foram preparadas em mistura de acetonitrila/água (1:1 v/v).

#### *Extração de lignina de bagaço de cana-de-açúcar*

##### *Método Klason (LKL)*

A lignina foi obtida pelo método Klason de acordo com metodologia proposta por Gomide e Demuner (1986) com a amostra de bagaço de cana-de-açúcar livre de extrativos. Os extrativos foram obtidos utilizando-se solução de etanol:tolueno 1:2 (v/v) de acordo com a norma TAPPI T 204 cm-97 (TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY - TAPPI, 1997). Após a extração a amostra foi acondicionada em cadinhos previamente forrados com óxido de alumínio e secos na estufa a aproximadamente 105 °C até peso constante. O volume de 3 mL de ácido sulfúrico 72% (10 a 15 °C) e 0,3 g de bagaço de cana-de-açúcar foram colocados em tubo de ensaio. Estes foram colocados em banho Maria a 30 °C por uma hora. Logo após, foram transferidos para frascos com capacidade de 100 mL e lacrados. Os frascos foram aquecidos à 120 °C por um período de 60 min. O conteúdo foi filtrado à vácuo e colocado em cadinhos com óxido de alumínio. As amostras foram secas a 50 °C por 24 h, guardadas em dessecador.

### *Lignina de madeira moída (MWL)*

A lignina foi obtida de acordo com Bjorkman (1956) e Balakshin (2011) com adaptações. O isolamento foi realizado com a amostra livre de extrativos. A extração sequencial foi realizada de acordo com Norma - ABTCP – M5/68 (ABTPC, 1974) com adaptações. Foram utilizados 600 mL de NaOH 1% (m/v), 35,0 g de bagaço de cana-de-açúcar e extração por 6h. A amostra foi filtrada a vácuo e lavada com mistura água/acetona (1:1 v/v), posteriormente foi seca em estufa por 24 h a 60 °C. A massa de 25 g de amostra foi colocada em moinho de bolas marca Marconi com 750 mL de tolueno (P.A.) pelo período de 12 h. A mistura moída foi centrifugada a 8000 rpm por 25 min e descartado o sobrenadante. Logo após, o material sólido foi tratado com 500 mL de dioxano/água, 96: 4 (v/v), sob agitação em capela, durante 5 dias. A amostra foi centrifugada a 8000 rpm por 25 min e descartado o sobrenadante. Posteriormente, ao material sólido, foi adicionado ácido acético 90% e deixado em repouso por 2 h. Novamente, a amostra foi centrifugada a 8000 rpm por 25 min e descartado o sobrenadante. Posteriormente, foram adicionados 200 mL de clorofórmio ao conteúdo sólido que ficou em repouso por 7 dias. Depois, foi novamente centrifugada e colocados 50 mL de etanol 75% com agitação por 2 h para posterior centrifugação. Dicloroetano e etanol (2:1), 75 mL, foram adicionados e a amostra foi deixada em repouso por 2 h. Para secagem do material foi utilizado éter de petróleo e colocado em estufa a 60 °C por 12 h.

### *Álcali (LA)*

A lignina Álcali foi obtida de acordo com Dominguez-Robles (2017) com adaptações. A extração foi realizada em sistema fechado, com reator de bancada de aço inoxidável, equipado com agitador magnético, manômetro e

controlador de temperatura, em um banho de óleo. O sistema constituiu de quatro frascos, cada um contendo 0,1 g de bagaço de cana (40 mesh) e 7 mL de solução de hidróxido de sódio 7% (m/v). A temperatura de trabalho foi fixada em 100 °C e o tempo de reação em 150 minutos.

Após esse tempo, o reator foi rapidamente resfriado até a temperatura ambiente, com a passagem de água. O filtrado foram recolhidos por meio de filtração em papel e o licor negro foi acidificado com ácido sulfúrico 95% até pH 2 depois colocado em repouso por 24 h. Foi realizada centrifugação para separar o precipitado (lignina) do sobrenadante e dupla lavagem com água. Posteriormente, o precipitado lavado foi seco por 48 h em estufa a 60°C.

#### *Caracterização das ligninas extraídas*

As análises termogravimétricas das ligninas extraídas foram realizadas em faixa de temperatura entre 25 °C e 650 °C, em atmosfera de nitrogênio (50 mL min<sup>-1</sup>), sob taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, em um analisador termomecânico Shimadzu DTG-60AHA. As massas de amostras utilizadas foram de aproximadamente 10 mg.

A análise calorimétrica foi realizada na faixa de temperatura de 25 °C a 570 °C com taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> sob atmosfera de nitrogênio, fluxo de 30 mL min<sup>-1</sup> em um equipamento DSC-60Ab Diferential Scanning Calorimeter Shimadzu, utilizando aproximadamente 8 mg de amostra.

As ligninas foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em pastilhas de KBr, em um equipamento IRAffinity-1 da Shimadzu, 32 scans, resolução 4 cm<sup>-1</sup>, faixa 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

## Resultados e Discussão

A análise elementar do bagaço de cana-de-açúcar (CHNS-O) apresentou 47,38% de carbono, 6,20% de hidrogênio, 1,36% de nitrogênio, 0,03% de enxofre e 44,45% de oxigênio.

Para as análises de poder calorífico superior (PCS), inferior (PCI) e útil (PCU) foram encontrados os valores de 4490, 4155 e 3764 (cal g<sup>-1</sup>). Para umidade na base seca (Ubs%) e na base úmida (Ubu%) foram encontrados os resultados de 8,97 e 8,22, respectivamente. A densidade aparente calculada foi de 63,3 kg m<sup>-3</sup>. As densidades energéticas superior (DES), inferior (DEI) e útil (DEU) foram 1,19; 1,10 e 1,00 (GJ m<sup>-3</sup>).

Os resultados de análise química e imediata são apresentados na Tabela 1.

Análise	Valores obtidos (%)
Holocelulose	59,26
Lignina Insolúvel (LI)	18,92
Lignina Solúvel (LS)	2,34
Lignina Total	21,26 (LI + LS)
Extrativos	18,90
Cinzas	0,58
Carbono Fixo	14,14
Voláteis	85,27

Na quantificação dos monômeros siringil e guaiacil foi encontrada uma relação de 1,67 (S/G), sendo 2,53 mg L<sup>-1</sup> de siringil e 1,51 mg L<sup>-1</sup> de guaiacil.

Essa caracterização está diretamente relacionada com a aplicação do bagaço como matéria-prima. A composição química tem impacto sobre o uso do bagaço de cana para a polpação e produção de celulose, assim como a

caracterização energética se faz importante quando o uso do bagaço for como fonte de energia (CORTEZ et al.,1992; GUILHERME et al., 2015).

A lignina é um dos constituintes químicos que mais contribuem positivamente para o aumento do poder calorífico (DEMIRBAS, 2002) da biomassa por possuir maior quantidade de carbono na sua constituição em comparação à celulose e hemiceluloses (holoceluloses). As holoceluloses possuem muitos átomos de oxigênio e, no bagaço, constituem maior porção da parede celular (59,26%).

#### *Caracterização das ligninas extraídas*

A estabilidade térmica das ligninas extraídas foi investigada por meio de análise termogravimétrica (TG). A Figura 1 mostra a perda de massa da lignina Klason (LKL) em função da temperatura.

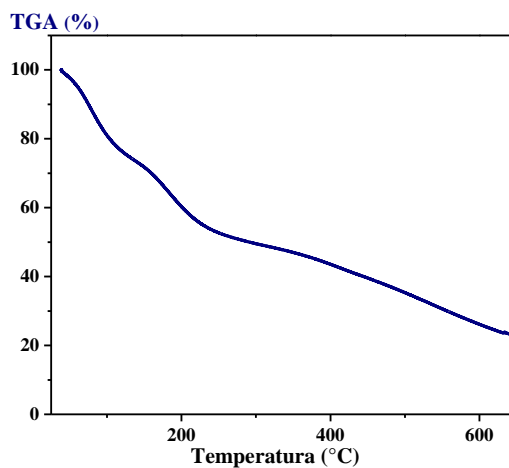


Figura 1: TG da lignina Klason (LKL)

Na reação de pirólise, a amostra de LKL apresentou pouca estabilidade térmica. A primeira perda significativa de massa ocorre em torno de 60 °C de

forma bem acentuada que, provavelmente, corresponde a perda de água. Um segundo evento próximo ocorre logo após, com início em torno de 100 °C e término 300 °C também, de forma acentuada, correspondente à degradação de parte da amostra. Após 300 °C a degradação ocorre de forma mais lenta. No método Klason utilizam-se condições drásticas de reação, dessa forma, ocorrem modificações e quebras na macromolécula original, produzindo moléculas menores, tornando a lignina LKL mais suscetível à degradação (menos resistente termicamente) (GOMIDE E DEMUNER, 1986).

Na Figura 2, que apresenta o TG da lignina de madeira moída (MWL), observa-se que próximo de 60 °C a amostra apresenta um evento inicial, correspondente à desidratação. A MWL demonstra certa estabilidade térmica em até aproximadamente 250 °C, mas, após esta temperatura, mostra uma segunda perda significativa de massa próximo a 300 °C e uma degradação mais lenta após 400 °C. O método de extração da lignina por moagem e dissolução (MWL) não provoca grandes alterações na estrutura da lignina do bagaço de cana-de-açúcar, quando comparada a outros métodos, já que faz utilização de solventes orgânicos em temperatura e pressão ambientes. Assim, a amostra ainda possui características da macromolécula inicial, sendo mais resistente à degradação térmica do que a lignina Klason (FENGEL; WEGENER, 1989).



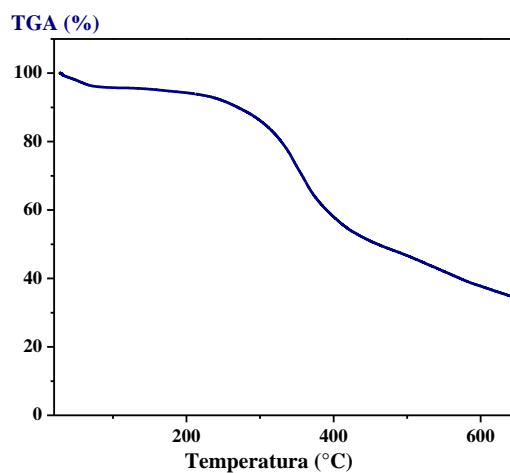


Figura 2: TG da lignina de madeira moída (MWL)

A curva obtida em análise de TG da lignina Álcali é apresentada na Figura 3. Um primeiro evento de perda de massa ocorre em torno de 60 °C correspondente à perda de água da amostra. A degradação térmica ocorre lentamente após aproximadamente 100 °C. Devido ao método utilizado (LA, com NaOH), a amostra apresentou alta estabilidade térmica.

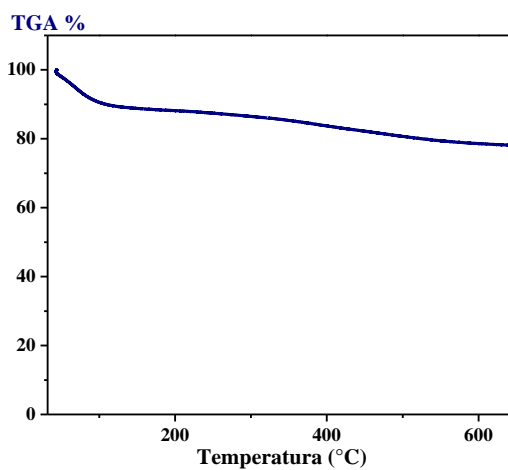


Figura 3: TG da lignina álcali (LA)

Analisando as Figuras 1, 2 e 3 observa-se a grande diferença de comportamento diante à degradação térmica das três ligninas, mesmo essas sendo extraídas de uma mesma amostra de bagaço de cana-de-açúcar.

Ligninas de materiais não madeira formam complexos estáveis com carboidratos (celulose e hemiceluloses), dificultando a purificação da mesma (Buranov e Mazza, 2008).

O comportamento desses complexos lignina-carboidrato também deve ser diferente frente a cada método de extração utilizado, promovendo modificações (reações, condensações, etc) na estrutura da lignina.

As Figuras 4, 5 e 6 apresentam as curvas de DSC das amostras de lignina LKL, MWL e LA, respectivamente. Na Figura 4 observa-se uma ocorrência endotérmica acentuada (provavelmente dois eventos). Um evento inicial em torno de 70 °C referente à desidratação da amostra e outro evento (sobreposto) em torno de 100 °C que, provavelmente, refere-se a degradação de moléculas menores geradas na quebra da macromolécula no processo de isolamento da lignina. A amostra apresentou evento exotérmico em aproximadamente 380 °C.

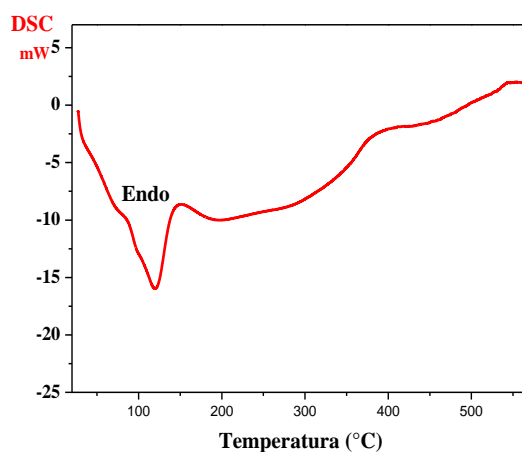


Figura 4: DSC da lignina klason (LKL)

A curva de DSC da lignina de madeira moída (MWL) aponta um evento endotérmico em torno de 70 °C referente ao calor latente de perda de água. Um possível evento endotérmico em torno de 300 °C é observado, talvez devido à quebra de ligação entre os componentes da macromolécula em estruturas menores. Em aproximadamente 360 °C a pirólise da lignina (degradação) é observada com evidência exotérmica.

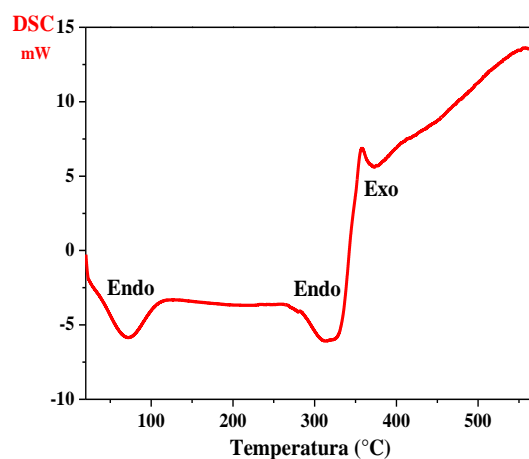


Figura 5: DSC da lignina de madeira moída (MWL)

A Figura 6 aponta um evento endotérmico em torno de 70 °C referente à desidratação da amostra. Outro evento endotérmico em torno de 260 °C e um exotérmico em aproximadamente de 420°C são mostrados na curva.

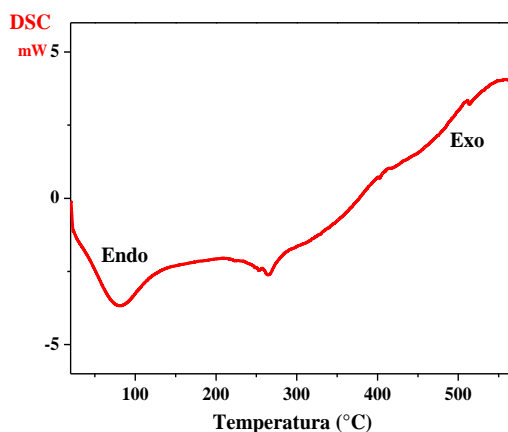


Figura 6: DSC da lignina álcali (LA)

Os espectros de infravermelho das ligninas isoladas são apresentados nas Figuras 7, 8 e 9. A Figura 7 mostra a análise de FTIR da lignina LKL. O material utilizado neste estudo, bagaço de cana-de-açúcar, é classificado como gramínea e, dessa forma, podem ser atribuídos sinais seguindo modelos de gramíneas de acordo com Sarkanem (1971). A banda larga centrada em  $3402\text{ cm}^{-1}$  corresponde a grupos hidroxílicos (OH) de compostos aromáticos/alifáticos e as bandas sobrepostas na faixa de  $2920\text{-}2840\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas a C-H alifáticos. Inkrod (2018) estudou o isolamento ácido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) da lignina de diferentes biomassas, incluindo bagaço de cana-de-açúcar, e observou banda em  $1715\text{ cm}^{-1}$  atribuindo a alongamento não conjugado de C=O, bandas em  $1618\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas a vibrações do esqueleto aromático, bandas em  $1180\text{ cm}^{-1}$  foram relacionadas a estiramento em grupos ésteres (HGS) e a banda de  $1051\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a C-H aromático em deformação G>S. Segundo Saliba (2001), que estudou métodos e caracterização de lignina também de gramínea, atribuiu à banda de  $870\text{ cm}^{-1}$  a C-H aromáticos.

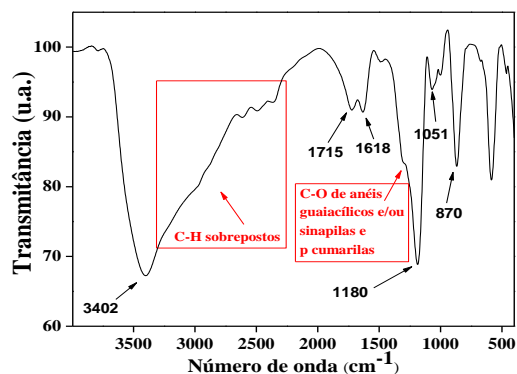


Figura 7: FTIR da lignina klason (LKL)

A Figura 8 mostra a análise de FTIR da lignina MWL. Segundo Sarkanem (1971), a banda larga centrada em  $3405\text{ cm}^{-1}$  corresponde a grupos hidroxílicos (OH) de compostos aromáticos/alifáticos e a banda de  $2888\text{ cm}^{-1}$  é atribuída a C-H alifáticos. De acordo com Saliba (2001), banda de  $1641\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a C=O de cetona *p*-substituída, banda de  $1464\text{ cm}^{-1}$  atribui-se a C-H de grupos metílicos e a banda de  $1265\text{ cm}^{-1}$  pode-se atribuir a C-O de anéis guaiacólicos. Inkrod (2018), em seu estudo, atribuiu a banda de  $1728\text{ cm}^{-1}$  a C=O de alongamento não conjugado e  $1043\text{ cm}^{-1}$  a C-H aromático na deformação G>S.

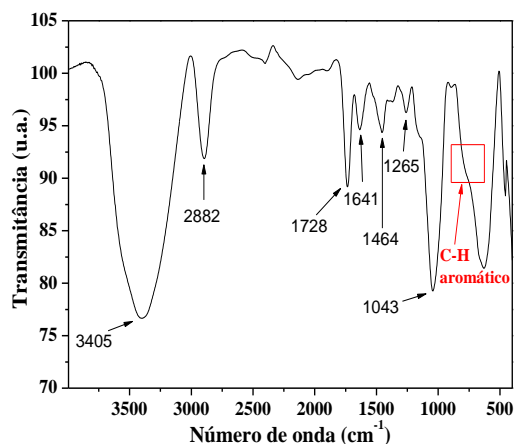


Figura 8: FTIR da lignina de madeira moída (MWL)

A Figura 9 mostra a análise de FTIR da lignina LA. Segundo Sarkanem (1971), a banda larga em 3432 cm<sup>-1</sup> corresponde a grupos hidroxílicos (OH) de compostos aromáticos/alifáticos e as bandas sobrepostas na faixa de 2980-2840 cm<sup>-1</sup> podem ser atribuídas a C-H alifáticos. De acordo com Saliba (2001), a banda em 1647 cm<sup>-1</sup> pode ser atribuída a C=O de cetonas conjugadas *p*-substituídas e segundo Domínguez-Robles e Naron (2017) a banda de 1420 cm<sup>-1</sup> atribui-se a vibrações do anel aromático das unidades fenil propano (esqueleto da lignina).

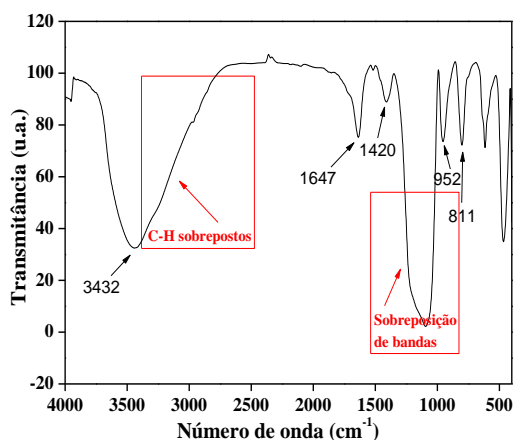


Figura 9: FTIR da lignina álcali (LA)

## Conclusões

A caracterização do bagaço de cana-de-açúcar mostrou maiores quantidades de carbono (47,38%), oxigênio (44,45%) e hidrogênio (6,20%) do que nitrogênio e enxofre. Valores de poder calorífico encontram-se em concordância com a literatura, assim como, densidade aparente e energética. Foram encontradas maiores quantidades de monômeros siringil (2,53 mg L<sup>-1</sup>) do que guaiacil (1,51 mg L<sup>-1</sup>).

Quase 60% da composição do bagaço de cana-de-açúcar analisado é de holocelulose (celulose e hemiceluloses) compreendendo a maior parte da amostra já que a participação da lignina (total) é de aproximadamente 21% e extrativos 18%. A análise imediata apontou pequena quantidade de cinzas (0,58%), uma maior quantidade de voláteis (85,27%) e 14% de carbono fixo.

Análises das ligninas isoladas pelos métodos Klason, Madeira moída e Àlcali, mostraram algumas características comuns e outras diferentes. No infravermelho, por exemplo, foram observadas bandas largas em torno de 3400-3450 cm<sup>-1</sup> correspondente a hidroxila (OH) e em torno de 1020-1050 cm<sup>-1</sup> referente a OH de álcool primário em todas as amostras de lignina. Já em análise de estabilidade térmica foram observados comportamentos diferentes em função do método de extração utilizado. Foram observadas maiores modificações nos compostos extraídos pelos métodos Klason e Àlcali. No primeiro, o ácido utilizado provavelmente provocou rompimento de ligações e geração de compostos de menor massa molar e, no segundo, a utilização da base, pH alto e condições de reação mais drásticas promoveu também modificações maiores na lignina. Já na extração realizada pelo método MWL, o qual utiliza solventes orgânicos e temperatura ambiente, foi observada maior preservação da estrutura original (protolignina).

## Agradecimentos

À Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ-UFLA) pelas análises de FTIR e TG/DSC e à CAPES, FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro.

## Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL. A.B.T.C.P: Normas Técnicas (M5/68). ABTCP. São Paulo, 1974.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS – A. S. T. M. **ASTM E711-87**: Standard Test Method for Gross Calorific Value of Refuse-Derived Fuel by the Bomb Calorimeter. Philadelphia: ASTM International, 2004. 8p.

AL ARNI, S. Extraction and isolation methods for lignin separation from sugarcane bagasse: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 115, p. 330-339, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14853**: determinação do material solúvel em etanol-tolueno e em diclorometano e em acetona. Rio de Janeiro, 2010.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS – A. S. T. M. **ASTM D 1762-84**: Standard method for chemical analyses of wood charcoal. Philadelphia, 2007. 2 p.

BALAKSHIN, M. et al. Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy. **Planta**, Berlin, v. 233, n. 6, p. 1097-1110, 2011.

BJORKMAN, A. Studies on finely divided wood. Part I. Extraction of lignin with neutral solvents. **Svensk Papperstidn**; 59; 477-485, 1956.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 05 fev. 2018.



BURANOV, A. U.; MAZZA, G. Lignin in straw of herbaceous crops. **Industrial crops and products**, v. 28, n. 3, p. 237-259, 2008.

CARVALHO, L. et al; Cana-De-Açúcar e Álcool Combustível: Histórico, Sustentabilidade e Segurança Energética; **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 16; 2013.

CORTEZ, L.; MAGALHÃES, P.; HAPP, J. Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. *Revista Brasileira de Energia*, Campinas, v. 2, n. 2, p. 111- 146, 1992.

DEMIRBAS, A. Relationships between heating value and lignin, moisture, ash and extractive contents of biomass fuels. **Energy Exploration & Exploitation**, v. 20, n. 1, p. 105-111, 2002.

DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG, D. I. N. **DIN EN 14774-1**: Determination of moisture content – Oven dry method – Part 1: Total moisture – Reference method. Berlin: CEN, 2010a. 10 p.

DOMÍNGUEZ-ROBLES, J. et al. Isolation and characterization of gramineae and fabaceae soda lignins. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 18, n. 2, p. 327, 2017.

FARIA, W. S. et al. Transformação dos resíduos lignocelulósicos da cafeicultura em *pellets* para geração de energia térmica. **Coffee Science**, v. 11, n. 1, p. 137-147, 2016.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry, ultrastructure, reactions, walter de gruyte**. New York: Publisher, 1989. 2ed, 613 p.

FIORELLI, J. et al. Painéis de partículas a base de bagaço de cana e resina de mamona: produção e propriedades. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 401-406, 2011.

GOMES GOUVÊA, A. F. et al. Estudo da adição da lignina kraft nas propriedades mecânicas dos briquetes de resíduos da indústria moveleira. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 3, 2017.

GOMIDE, J. L.; DEMUNER, B. J. Determinação do teor de lignina em material lenhoso: método Klason modificado. **O papel**, v. 47, n. 8, p. 36-38, 1986.

GUILHERME, A. A. et al. Evaluation of composition, characterization and enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 32, n. 1, p. 23-33, 2015.

INKROD, C. et al. Characteristics of Lignin Extracted from Different Lignocellulosic Materials via Organosolv Fractionation. **BioEnergy Research**, v. 11, n. 2, p. 277-290, 2018.

JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibers and biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 343-364, 2008.

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

MOREIRA, P. H. S. S. et al. Production of carboxymethyl lignin from sugar cane bagasse: A cement retarder additive for oilwell application. **Industrial Crops and Products**, v. 116, p. 144-149, 2018.

NARON, D. R. et al. Characterisation of lignins from different sources by appropriate analytical methods: Introducing thermogravimetric analysis-thermal desorption-gas chromatography-mass spectroscopy. **Industrial crops and products**, v. 101, p. 61-74, 2017.

PASQUINI, D. et al. Surface morphology and molecular organization of lignins in Langmuir-Blodgett films. **Langmuir**, v. 18, p. 6593-6596, 2002.

SALIBA, E. O. S. et al. Lignins: Isolation methods and chemical characterization. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 917-928, 2001.

SARKANEM, K. V.; LUDWIG, C. H. Lignins, Occurrence, formation, structure and reations, John Wiley and Sons. **Lignins, Occurrence, formation, structure and reations, John Wiley and Sons**, 1971.

SOARES, S. S. et al. Valorização do bagaço de cana-de-açúcar na produção de painéis aglomerados de baixa densidade. **Revista Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science)**, v. 8, n. 2, 2017.

TARMADI, D. et al. The effects of various lignocelluloses and lignins on physiological responses of a lower termite, *Coptotermes formosanus*. **Journal of Wood Science**, v. 63, n. 5, p. 464-472, 2017.

TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY, T.  
A. P. P. I. **TAPPI T 204 cm-97**. Solvent extractives of wood and pulp. 4 p.,  
1997.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O potencial de utilização do bagaço de cana-de-açúcar como matéria-prima renovável é inegável. A produção de etanol de primeira geração produz uma quantidade enorme de bagaço de cana e, sua utilização na produção de etanol de segunda geração em larga escala, está cada vez mais próximo. Assim, a lignina de bagaço de cana-de-açúcar (subproduto) será, futuramente, obtida em grande quantidade.

Esta possui uma utilização pouco nobre (cogeração de energia) e o desenvolvimento de processos de conversão da lignina em biomateriais e insumos de maior valor agregado, pode fazer com que haja competição às fontes fósseis. Porém, o conhecimento da estrutura da lignina ainda é obscura.

Este estudo trouxe informações sobre a composição e estrutura química da lignina de bagaço de cana-de-açúcar obtida pelo método enzimático, klason, madeira moída e álcali, apontando características encontradas nas diferentes amostras para melhor elucidar as modificações causadas pelos diferentes métodos. Um tema ainda desafiador para pesquisadores.