**Lignosulfonatos como forma de agregar valor a biorrefinaria de cana-de-açúcar**

OTTO HEINZ; UIRAJÁ RUSCHONI; CAIO ACHILES; RAIANNI FERNANDES

Universidade de São Paulo - Escola de Engenharia de Lorena - Departamento de Biotecnologia - Lorena/São Paulo.

**Resumo**

No presente estudo foi proposto a integração da produção de lignosulfonatos a uma biorrefinaria que utiliza o processo quimiotermomecânico sulfito alcalino como etapa de pré-tratamento. O pré-tratamento gerou um licor rico em lignina que foi utilizado em uma etapa subsequente de sulfonação e uma fração de sólidos ricos em polissacarídeos. Aos sólidos aplicou-se hidrólise enzimática, no qual obteve-se conversão de 74% de glucana e 75% de xilana. A fração sólida da hidrólise enzimática foi submetida a ensaios de sulfonação, utilizando o licor negro como agente de sulfonação. Avaliando o efeito das variáveis temperatura (140-180 °C) e adição de álcali (5-15% (m/m)) em um delineamento experimental 22 face centrada, sobre o teor de lignosulfonatos e distribuição de massa molar (Mw). No qual foi possível observar que a variável temperatura (X1) tem efeito significativo sobre a distribuição de massa molar mas não sobre o teor de lignosulfonatos nas condições estudadas, a variável adição de álcali (X2) tem um efeito significativo no teor de lignosulfonatos e distribuição de massa molar (Mw). A condição ótima adotada para a obtenção de maior teor de lignosulfonato foi de temperatura de 159 °C e 13,2% (m/m) de adição de álcali, onde obteve-se 25,3 ±1,6gL-1. Deste modo, por meio do balanço de massa do processo proposto foi obtido 27,4 g de glicose 14,3 g de xilose e 10,6 g de lignosulfonatos a partir de 100 g de bagaço de cana-de-açúcar. Portanto, a etapa de sulfonação é uma alternativa para melhor aproveitamento da fração de lignina, visto que a conversão dos polissacarídeos a açucares monoméricos não fora afetada.

**Palavras-chave:** Lignosulfonatos, Biorrefinaria, Pré-tratamento sulfito alcalino.

INTRODUÇÃO

Biorrefinaria é uma instalação que integra processos de conversão de biomassa em energia e um amplo espectro de produtos de valor agregado, criando cadeias de produtos semelhantes aos que se produz em uma refinaria de petróleo (VAZ, 2014). Os materiais lignocelulósicos são de grande interesse para utilização em biorrefinaria devido a sua composição e disponibilidade, entretanto, apresentam limitação em sua utilização devido à estrutura complexa da parede celular que os compõem (HIMMEL et al., 2007; MASARIM et al., 2011). Apesar dos açúcares monoméricos representarem os produtos de maior interesse na biorrefinaria, outros produtos com maior valor agregado podem melhorar a viabilidade econômica da biorrefinaria (JÖNSSON; ALRIKSSON; NILVEBRANT,2013; LIU; WANG; WOLCOTT, 2017). Desta forma, lignosulfonatos podem ser co-produtos na biorrefinaria de modo a dar um destino mais nobre a fração de lignina dos materiais lignocelulósicos (ZHOU et al., 2016; DU et al., 2017).

Atualmente, os lignosulfonatos são produzidos a partir da indústria de celulose que utiliza o processo sulfito ou através da sulfometilação da lignina Kraft, gerada nos processos industriais de polpação da madeira (ARO; FATEHI, 2017). A quantidade comercialmente disponível de lignina foi estimada em cerca de 1,1 milhão de toneladas no ano de 2014, sendo os lignosulfonatos 90% deste mercado, comercializada pelo valor de 180-500 USD/ton, dependendo de sua pureza. (KUN; PUKÁNSZKY, 2017; HODÁSOVÁ et al., 2015). A indústria de concreto consome lignosulfonatos como agente plastificante, o que a caracteriza como a principal consumidora do mercado (TOPÇU; ATEŞIN, 2016; COLOMBO et al.,2017).

Além do mercado da construção civil, há um potencial de aplicações dos lignosulfonatos como aditivos em formulações de rações animais, lubrificante em sistemas de perfuração de petróleo (ARO; FATEHI, 2017), preparo de compósitos (YAMINI et al., 2019), complexante de metais (LIU; WANG; WOLCOTT, 2018) e surfactantes (LIU; ZHU, 2010). Dentro deste contexto, biorrefinarias que apresentem um portfólio variado de produtos podem proporcionar maior viabilidade econômica (MENDES et al.,2017; 2018). A inclusão de lignosulfonatos no portfólio de produtos de uma biorrefinaria de resíduos de *Pinus* sp.(conífera) foi recentemente avaliada por Zhou et al (2016). Os autores demonstraram a produção eficiente de monossacarídeos que foram convertidos a etanol em um processo que incluía o pré-tratamento da biomassa com sulfito em meio ácido. O licor de pré-tratamento continha lignosulfonatos de baixa massa molar com níveis de sulfonação similares às encontradas em lignosulfonatos comerciais. Outros trabalhos incluem etapas de produção de lignosulfonatos como forma de melhor utilização da fração de lignina durante o processo. Huang et al. (2016) também incluiu uma etapa de sulfometilação dos resíduos de hidrólise de madeira dura (Árvore-do-âmbar) para produção de lignosulfonatos, demonstrando que a inclusão desta etapa poderia melhorar a viabilidade do processo. Du et al. (2017) estudaram a integração da produção de lignosulfonatos e celulose nanocristalina a partir do resíduo de hidrólise enzimática, como forma de melhorar a viabilidade ao processo.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento de um modelo de biorrefinaria utilizando o pré-tratamento quimiotermomecânico com sulfito alcalino. Nesse modelo, as frações de polissacarídeos foram destinadas para a produção de açúcares monoméricos e a lignina para produção de lignosulfonatos. Além disso, foi incluída uma etapa para aproveitamento da lignina do resíduo de hidrólise enzimática utilizando o licor negro oriundo do pré-tratamento como agente de sulfonação.

# MATERIAIS E MÉTODOS

## Pré-tratamento quimiotermomecânico do bagaço de cana-de-açúcar

O processo de pré-tratamento de bagaço de cana com sulfito alcalino desenvolvido em trabalhos anteriores (Mendes et al., 2011; Reinoso et al., 2018) foi avaliado em escala ampliada, envolvendo o uso de 1200 g de bagaço de cana (Zilor, unidade Quatá-SP; 22º 14' 51" S; 50º 41' 54" W) em base seca impregnado com licor sulfito alcalino tendo como razão bagaço/licor 1:10 (p/V). A impregnação foi realizada aplicando vácuo ao reator por 30 min e, após este tempo, o licor de pré-tratamento foi deslocado para o interior do reator e submetido a vácuo por mais 15 min. O licor em questão correspondeu a 12 L de solução contendo carga de 7,5% de Na2SO3 e 3,75% de NaOH expressos com base na massa de bagaço seco. A digestão da biomassa foi realizada a 127°C por 2 h, seguido de separação sólido-líquido por centrifugação contra malha porosa de 200 mesh (tecido de algodão). O líquido (licor negro - LN) foi coletado e resfriado à temperatura ambiente. O líquido recebeu borbulhamento de N2 por 15 min para remoção de oxigênio dissolvido, selado em frasco plástico e armazenado em refrigerador até o momento do reuso. Os sólidos pré-tratados foram suspensos em água pré-aquecida a 95 oC até um volume final para se obter 3% consistência e refinado em refinador de discos REGMED MD-300 (REGMED, Brasil) com um espaço entre os discos de 0,1 mm e um consumo de energia de 650 kWh. Os discos do refinador foram mantidos aquecidos a 95 oC durante a operação de refino. Os sólidos resultantes foram recuperados por centrifugação e o licor de lavagem armazenado para caracterização posterior. O material pré-tratado foi seco ao ar e caracterizado quanto a composição química.

## Determinação da composição química das amostras de bagaço in natura, bagaço pré-tratado e resíduo da hidrólise enzimática

Amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram extraídas com etanol a 95% por 6 h em aparelho de Soxhlet, antes da hidrólise ácida. Amostras extraídas, materiais pré-tratados e resíduo sólido da hidrólise enzimática, foram hidrolisadas com 72% (p/p) de ácido sulfúrico a 30 °C por 1 h, empregando 300 mg de amostra e 3 mL de ácido sulfúrico, conforme descrito por Ferraz et al. (2000). O teor de cinzas dos materiais foi determinado conforme Sluiter et al. (2005).

## Caracterização química dos licores negros e licores de lavagem

Os teores de sólidos totais no licor negro (LN) e licor de lavagem (LL) foram determinados por gravimetria. Para cada amostra, 100 mL foram transferidos para um pesa filtro previamente tarado que foi levado a estufa a 105 °C até a completa remoção de água. Para a caracterização química dos LN e LL, os mesmos foram liofilizados e caracterizados por adaptação da metodologia de Ferraz et al. (2000). O teor de cinzas dos licores liofilizados foi determinado conforme Sluiter et al. (2005).

## FTIR do licor negro

Os sólidos liofilizados do licor negro foram analisados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Para tanto, foram preparadas pastilhas de KBr contendo 1% de amostra, compactadas a 8-10 kgf.cm-1 sob vácuo e obtidos os espectros na região de 4.000 a 400 cm-1 utilizando o espectrômetro modelo Spectrun One, Perkin Elmer.

## Hidrólise enzimática do material pré-tratado

A hidrólise enzimática do material pré-tratado com sulfito alcalino foi realizada utilizando Autoclave AU/E-20 (REGIMED, Brasil) como reator, com velocidade de agitação de 4 rpm, mantido a 45 °C. No reator foi realizado o processo em batelada, sendo adicionados 800 g de biomassa de base seca de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado de modo a ter consistência de 4% de sólidos. O pH da suspensão foi ajustado para 4,8 e adicionado o preparado comercial de celulases Cellic Ctec2 numa carga de 10 FPU/g de sólidos. Após 72 h de hidrólise, o hidrolisado foi filtrado e quantificado os teores de açúcares e lignina. Os sólidos residuais desta etapa foram lavados e secos a temperatura ambiente. Além disso, os materiais foram caracterizados quanto a composição química.

**Estudo da otimização da sulfonação da lignina presente no resíduo da hidrólise enzimática**

A etapa de sulfonação tem como objetivo o melhor aproveitamento da fração de lignina do resíduo sólido da hidrólise enzimática, utilizando o licor negro como agente de sulfonação. As reações foram conduzidas em reator de aço inox 316, utilizando relação sólido-líquido 1:10, por 3 h, em banho de silicone. As condições para a sulfonação foram estudadas em delineamento experimental 22 com face centrada. Foram avaliadas as influências das variáveis temperatura (X1) e adição de álcali (X2) sobre o teor de lignosulfonatos e distribuição de massa molar (Mw), conforme Tabela 1. Foram realizados 11 experimentos no total, com triplicata no ponto central.

**Tabela 1 – Avaliação do efeito da temperatura (**X1) **e da adição de álcali**(X2) **sobre o teor e a massa molar dos lignosulfonatos produzidos durante a sulfonação de lignina residual do processo de hidrólise enzimática**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ENSAIOS | Variáveis reais e codificadas | |
| Temperatura (°C)  X1 | Adição de álcali % (m/ m)  X2 |
| 1 | 140 (-1) | 5 (-1) |
| 2 | 180(+1) | 5 (-1) |
| 3 | 140 (-1) | 15 (+1) |
| 4 | 180 (+1) | 15 (+1) |
| 5 | 160 (0) | 10 (0) |
| 6 | 160 (0) | 10 (0) |
| 7 | 160 (0) | 10 (0) |
| 8 | 131,72 (-1,41) | 10 (0) |
| 9 | 188,28 (+1,41) | 10 (0) |
| 10 | 160 (0) | 2,93 (-1,41) |
| 11 | 160 (0) | 17,07(+1,41) |

Após a reação de sulfonação, os reatores foram resfriados em banho de gelo. Os sólidos foram separados por filtração em filtro poroso n° 3 previamente tarado. Os sólidos retidos foram secos a temperatura ambiente e pesados, sendo utilizados para o cálculo da porcentagem de resíduos desta etapa. A fração líquida da filtração foi utilizada para quantificação do teor de lignosulfonatos e estudo da distribuição da massa molar.

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o programa *Statistica* 13.5. Foram consideradas como variáveis dependentes o teor de lignosulfonatos e a distribuição da massa molar (Mw). Os resultados foram expressos em gráficos de Pareto e tabelas de análise de variância (ANOVA) considerando a significância p<0,05. As condições ótimas do experimento para o teor de lignosulfonatos foram determinadas a partir da análise dos gráficos de superfície de resposta, sendo realizados ensaios para a confirmação do modelo estatístico obtido.

**Determinação do teor de lignosulfonatos em solução**

Para o presente estudo foi considerado como lignosulfonato a porção de lignina presente nos licores que não precipita após acidificação até pH 2,0, sendo empregada a técnica de espectroscopia UV-vis para quantificar a lignina na fração solúvel. Cada licor foi acidificado até pH 2,0 utilizando solução HCl 4,0 M. A suspensão produzida foi filtrada sob vácuo em filtro sinterizado n° 3 (SCHOTT) tarado. Os sólidos retidos foram secos em estufa a 105°C e considerados como lignina insolúvel. O filtrado teve o pH elevado a 12,0 com solução de NaOH 4,0 M e submetido à leitura de absorbância em 280 nm. A concentração de lignosulfonatos foi calculada considerando-se um valor de absortividade de 20,0 L.g-1.cm-1 (GUERRA et al., 2000; MASARIN et al., 2011).

## Determinação da distribuição da massa molar dos lignosulfonatos

A massa molar dos lignosulfonatos foi determinada por cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) utilizando coluna Superose 12/300 (GE) e eluente NaOH 10 mM. Para preparo das amostras, o pH dos licores foi ajustado para 2,0 utilizando HCl 4,0 M e a suspensão foi filtrada sob vácuo em filtro sinterizado n° 3 (SCHOTT). Em seguida, o pH do filtrado foi elevado a 12,0 pela adição de NaOH 4,0 M. A amostra foi diluída até que a leitura de absorbância em 280 nm desta solução tenha valor 1,0 UA. Um volume de 1,0 mL da solução de lignosulfonatos foi aplicado na coluna, com fluxo de 0,6 mL.min-1. A coluna foi calibrada com padrões de ácido vanílico (168,14 g.mol-1 – Sigma Aldrich, Brasil), lignina kraft (932,0 g.mol-1), lignina de bagaço de cana (4362,0 g.mol-1), citocromo c (12.384,0 g.mol-1 – Sigma Aldrich, Brasil), anidrase carbônica (29.000,0 g.mol-1 – Sigma Aldrich, Brasil), lignosulfonato (52.000,0 g.mol-1 Sigma Aldrich, Brasil) e albumina (66.000,0 g.mol-1 – Sigma Aldrich, Brasil). A detecção dos lignosulfonatos foi realizada por um detector UV em linha com a coluna para detecção a 280 nm.

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Composição química e pré-tratamento do bagaço de cana de áçucar

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado nesse trabalho apresentou em sua composição química: 19,7% de lignina, 40,2% de glucana e 26,9% de hemicelulose (21,6% de xilana, 2,1% de grupos arabinosil e 3,2% de grupos acetil). Esses valores estão em conformidade com os dados de composição química de bagaço de cana-de-açúcar reportados na literatura, que são 38-48% para celulose, 25-30% para hemiceluloses e 19-25% para lignina (MASARIN et al., 2011; ROCHA et al., 2015; TAVARES et al. 2018).

O pré-tratamento sulfito alcalino já foi abordado por nosso grupo de pesquisa, nos trabalhos de Mendes et al. (2011); Laurito-Friend et al. (2015) e Reinoso et al. (2018), porém em menor escala. O presente estudo visou a ampliação de escala e a reprodutibilidade do método. O pré-tratamento sulfito alcalino produziu materiais com alto rendimento de sólidos (80,0±0,5%) e demonstrou boa reprodutibilidade.

A composição química do material pré-tratado e o balanço de massa para os componentes do bagaço de cana-de-açúcar estão apresentados na Tabela 1. O pré-tratamento removeu majoritariamente a fração de lignina (37,6±2,7%) do bagaço de cana-de-açúcar como esperado, além de 16,1±1,0% da xilana e 9,1±1,5% de glucana. A maior solubilização de xilana em relação a glucana pode ser atribuída ao seu menor grau de polimerização em relação à molécula de celulose, além de sua estrutura amorfa (FENGEL; WEGENER, 1989). Desta forma, obteve-se uma recuperação após o pré tratamento de cerca 91,0 % da glucana e 84,0% de xilana.

Tabela 1– Rendimento de pré-tratamento, composição química e balanço de massas para o pré-tratamento utilizando 7,5% de Na2SO3 e 3,75% de NaOH

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bagaço de Cana** | **Rendimento**  **(%)** | **Composição de bagaço**  **(g/100 g de bagaço pré-tratado)** | | | | | **Balanço de massa para componentes de bagaço após o Pré-tratamento**  **(g /100 g de bagaço in natura)** | | | | | |
| **Lignina** | **Glucana** | **Xilana** | **Arabinosil** | **Acetil** | | **Lignina** | **Glucana** | **Xilana** | **Arabinosil** | **Acetil** |
| ***In natura*** | 100 | 19,7±1,2 | 40,2±0,6 | 21,6±0,3 | 2,1±0,0 | 3,2±0,1 | | 19,7 | 40,2 | 21,6 | 2,1 | 3,2 |
| **PT-1** | 80,4 | 16,1±0,6 | 46,1±0,4 | 22,7±0,2 | 2,5±0,0 | 0,3±0,0 | | 12,9 | 37,1 | 18,2 | 2,0 | 0,2 |
| **PT-2** | 80,1 | 14,8±0,0 | 45,7±0,1 | 22,9±0,0 | 2,5±0,0 | 0,3±0,0 | | 11,9 | 36,6 | 18,3 | 2,0 | 0,2 |
| **PT-3** | 79,5 | 15,3±0,3 | 45,2±0,5 | 22,5±0,2 | 2,4±0,1 | 0,3±0,0 | | 12,1 | 35,9 | 17,9 | 1,9 | 0,2 |

***Caracterização do Licor negro***

A composição química do licor negro e do licor de lavagem está indicada na Tabela 2. Devido ao baixo teor de sólidos totais, o licor de lavagem não foi empregado em etapas subsequentes deste trabalho. O pH ao final do pré-tratamento atingiu valor de 8,5, indicando que quase todo o álcali foi consumido durante a reação de pré-tratamento. O teor de sólidos totais no licor negro foi de 35,1 g.L-1.O teor de lignina total encontrado nos licores foi cerca de 8 g.L-1, sendo a concentração da fração solúvel em pH 2 próxima a 5,0 g.L-1, ou seja, cerca de 62% da lignina no licor pode ser considerada sulfonada durante a etapa de pré-tratamento.

## Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 1 mostra o espectro infravermelho para o Licor negro liofilizado obtido do pré-tratamento, tendo-se como comparação um lignosulfonato (52.000 g.mol-1 Sigma Aldrich, Brasil). Foram observadas similaridades entre os espectros obtidos para o licor negro e o lignosulfonato comercial. É possível notar uma banda forte e ampla em torno de 3400 cm-1, característica dos grupos OH (XU et al., 2015). A banda em 2900 cm-1 pode ser associada ao estiramento de ligações C-H em carbono saturado (XU et al., 2015; ZHANG et al., 2017). Já a banda de absorção em 1593 cm-1 é atribuída ao alongamento C-C do esqueleto aromático (ARO; FATEHI, 2015). As bandas de absorção em 1200 cm-1 e 1046 cm-1 foram atribuídas à sobreposição de estiramento de C-O e S=O, além da banda em 610 cm − 1 atribuída ao estiramento S-O, que comprovam a vibração de grupos sulfônicos (XU et al., 2015; ZHANG et al., 2017). Os resultados obtidos a partir dos espectros FTIR sustentam a hipótese inicial de que lignina que não precipita em pH 2 nestes licores é efetivamente lignina sulfonada.

Figura 1 – FTIR do Licor negro liofilizado e do padrão de Lignosulfonato de 52 kDa



Tabela 2– Composição química do Licor negro oriundo dos pré-tratamentos de bagaço de cana *in natura* quimiotermomecânico utilizando licor sulfito alcalino

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Licor dos pré-tratamentos** | **pH do licor** | **Teor de sólidos no licor**  **(g.L-1)** | **Volume**  **(L)** | **Composição do licor negro**  **(g.L-1)** | | | | | | | | | | | | | |
| **Lignina Total** | | **Lignina solúvel em pH 2** | | **Glucana** | | **Xilana** | | **Arabinosil** | | **Acetil** | | **Cinzas** | |
| LN-PT-1 | 8,4 | 34,7±0,1 | 8,5 | 8,2 | ±0,8 | 5,3 | ±0,3 | 0,6 | ±0,1 | 1,6 | ±0,1 | 0,5 | ±0,1 | 3,4 | ±0,3 | 13,0 | ±1,3 |
| LN-PT-2 | 8,5 | 35,3±0,4 | 8,5 | 8,3 | ±1,1 | 5,2 | ±0,2 | 0,6 | ±0,5 | 1,6 | ±1,8 | 0,5 | ±0,1 | 3,5 | ±0,5 | 13,2 | ±0,5 |
| LN-PT-3 | 8,7 | 35,6±0,4 | 8,5 | 8,4 | ±0,2 | 5,6 | ±0,1 | 0,6 | ±0,1 | 1,6 | ±0,02 | 0,5 | ±0,1 | 3,5 | ±0,2 | 13,4 | ±1,7 |
| LL-PT-1 | 7 | 3,2±0,4 | 22 | 0,8 | ±0,6 | 0,2 | ±0,1 | 0,1 | ±0,1 | 0,1 | ±0,1 | 0,1 | ±0,2 | 0,3 | ±0,4 | 1,2 | ±2,9 |
| LL-PT-2 | 7,9 | 3,2±0,4 | 22 | 0,8 | ±1,7 | 0,2 | ±0,1 | 0,1 | ±0,2 | 0,1 | ±0,3 | 0,1 | ±0,2 | 0,3 | ±0,2 | 1,2 | ±1,7 |
| LL-PT-3 | 8,2 | 3,2±0,4 | 22 | 0,8 | ±1,9 | 0,2 | ±0,1 | 0,1 | ±0,2 | 0,1 | ±0,2 | 0,1 | ±0,2 | 0,3 | ±0,2 | 1,2 | ±2,5 |

## Hidrólise enzimática do material

A hidrólise enzimática foi realizada em escala preparativa com 4% de consistência, obtendo-se sacarificação de 74% de glucana e 75% de xilana. Entretanto houve perda de 41 % da lignina do material pré-tratado para o hidrolisado durante esta etapa. Essa perda possivelmente é devido ao fato da lignina presente no material pré-tratado conter grupos sulfônicos o que torna a lignina mais hidrofílica e com colapso das fibras causado pela hidrólise ocorra a solubilização de parte da lignina. Mendes et al. (2011), conseguiram 85% de sacarificação da glucana em 96 h de hidrólise em consistência de 2%, utilizando pré-tratamento sulfito alcalino em condição de maior carga de sulfito (10%). Tavares et al. (2018) conseguiram a conversão similar de glucana 79,9% em consistência de 5%, em material pré-tratado com sulfito alcalino utilizando condições mais severas de pré-tratamento 160 °C e 10% de carga de sulfito, porém estes trabalhos não relataram solubilização da lignina na etapa de hidrólise enzimática.

Os resíduos sólidos da etapa de hidrólise enzimática foram lavados e secos ao ar, para posterior utilização na etapa de sulfonação. A composição química do resíduo de hidrólise está apresentada na Tabela 3, onde é possível observar que a quantidade de lignina no resíduo de hidrólise aumentou em função da hidrólise dos polissacarídeos, porém ainda há 37,5% glucana e 17,6 % xilana no material.

Tabela 3–Composição química do resíduo da hidrólise enzimática em escala preparativa de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **% de resíduossólidos da hidrólise enzimatica** | **Composição do resíduo da hidrólise**  **(g/100 g de resíduo sólidos da hidrólise)** | | | | | |
| **Lignina** | **Glucana** | **Xilana** | **Arab.** | **Acetil** | **Cinzas** |
| 31,7 | 29,5±0,2 | 37,5±0,2 | 17,6±0,3 | 1,4±0,1 | 0,3±0,1 | 7,5±0,1 |

## Estudo da produção de lignosulfonatos e distribuição da massa molar (Mw)

A etapa de sulfonação tem como objetivo o melhor aproveitamento da fração de lignina presente no resíduo de hidrólise enzimática, convertendo-a em lignosulfonatos. Para o estudo, foi utilizado o licor negro como agente de sulfonação, sendo realizados experimentos correspondentes a um planejamento fatorial 2² face centrada. Foi avaliada a influência causada pelas variáveis temperatura de reação (X1) e adição de álcali (X2) para estudo do teor de lignosulfonatos e distribuição de massa molar (Mw). (Tabela 4)

Tabela 4– Teor e distribuição de massa molar dos lignosulfonatos obtidos por meio das reações propostas no planejamento composto 22 de face centrada com triplicata no ponto central

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **ENSAIOS** | **RESPOSTAS** | | | |
| **Lignosulfonato (g.L-1) Y1** | **MW(Da)**  **Y2** | **Mn (Da)** | **Dispersibilidade** |
| 1 | 12,1 | 7813 | 1091 | 7,2 |
| 2 | 18,2 | 6884 | 1135 | 6,1 |
| 3 | 24,4 | 8220 | 1042 | 7,9 |
| 4 | 23,6 | 5632 | 1083 | 5,2 |
| 5 | 23,9 | 8605 | 1288 | 6,7 |
| 6 | 24,3 | 8430 | 1253 | 6,7 |
| 7 | 25,2 | 8860 | 1365 | 6,5 |
| 8 | 22,7 | 5391 | 653 | 8,3 |
| 9 | 21,0 | 3622 | 571 | 6,3 |
| 10 | 14,0 | 6283 | 650 | 9,7 |
| 11 | 25,2 | 4654 | 562 | 8,3 |

A concentração de lignosulfonato no licor negro é de 5,3 g.L-1. Neste contexto a reação de sulfonação na condição experimental do ponto central (160 °C e 10 % (m/m) de adição de álcali) elevou esta concentração para 24,5 g.L-1, o que significou um aumento de concentração de 4,6 vezes, demonstrando que a etapa de sulfonação apresenta potencial para um melhor aproveitamento da fração de lignina do resíduo de hidrólise.

A distribuição de massa molar (Mw) dos lignosulfonatos (Tabela 4) indica que tanto o aumento da temperatura, quanto o aumento da adição de álcali ocasionam em uma menor massa molar. Tal fato pode ser relacionado a reações de quebra da molécula de lignosulfonato em temperaturas elevadas e altas concentrações de álcali (ARO; FATEHI, 2017). Portanto, em temperaturas acima de 160 °C e 10% de adição de álcali, obtém-se lignosulfonatos de menores massas molares.

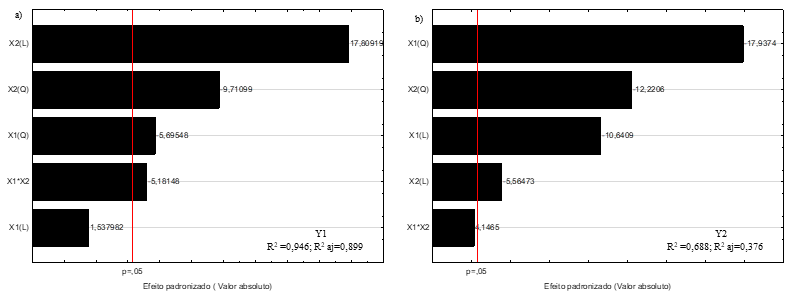
De maneira geral, os valores de Mn dos lignosulfonatos foram muito menores em relação aos valores de Mw (Tabela 4), acarretando em elevados valores de dispersibilidade para os lignosulfonatos.

***Analise estatística***

Os dados apresentados no gráfico de Pareto da Figura 2 indicam que o parâmetro linear adição de álcali (X2) foi estatisticamente significativo para a produção de lignosulfonatos, sendo que o aumento da adição de álcali leva a um maior teor de lignosulfonato. Já a variável temperatura não teve efeito significativo nas condições estudadas. Para a distribuição de massa molar (Mw), os parâmetros lineares temperatura (X1) adição de álcali (X2) foram estatisticamente significativos, de modo que ambas as variáveis afetam o tamanho molar dos lignosulfonatos, dentro do nível de confiança de 95%.

O efeito positivo da adição de álcali durante a sulfonação é resultante da desprotonação dos grupos OH fenólicos da lignina, de modo que resulta na formação do intermediário metileno quinona, a partir da eliminação do substituinte ligado originalmente ao carbono alfa. O sulfito residual presente no licor negro (SO3-2) pode se ligar a molécula de metileno quinona, sulfonando-a.

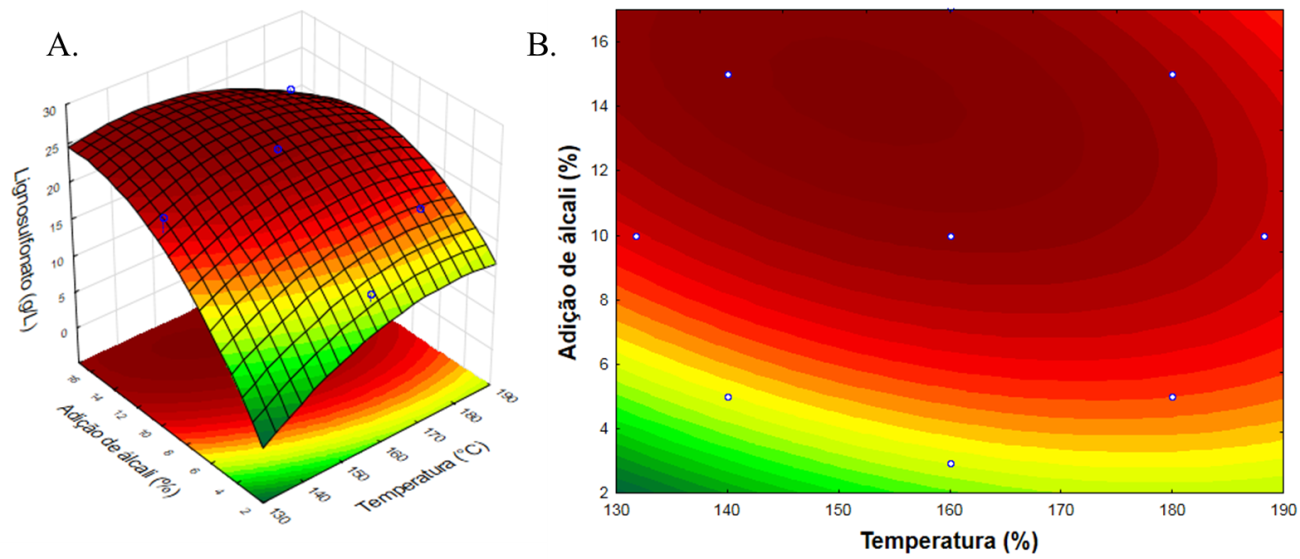
**Figura 2-Efeitos das variáveis independentes X1= Temperatura(°C) e X2 = Adição de álcali (% m/m) e suas interações sobre a produção de lignosulfonatos(a) e para a distribuição de massa molar (Mw) para o modelo 22 face centrada**



O teor de lignosulfonatos e a distribuição de massa molar ponderal (Mw) (Tabela 4) foram estudados estatisticamente com objetivo de se encontrar o ponto de máxima obtenção de lignosulfonato e verificar os efeitos causados pelas reações na distribuição da massa molar (Mw). O coeficiente R2 de 0,946 para o teor de lignosulfonatos indica adequação ao modelo polinomial de segunda ordem selecionado para descrever os dados experimentais (*Y1* = *-127,430+1,467X1+5,775X2-0,017X1\*X2-3,988x10-3\*X12-0,108\*X22*). Para a distribuição de massa molar (Mw), o coeficiente R2 foi de 0,688, demonstrando que o modelo polinomial de segunda ordem selecionado não é adequado para descrever os dados experimentais (*Y2 =-91992 +1211,2\*X1+1408,2\*X2 -3,77\*X12-41,16\* X22)*.

A Figura 3 mostra os gráficos de superfície de resposta e gráfico de contorno para a resposta teor de lignosulfonatos (Y1). A condição para obtenção do máximo teor de lignosulfonatos (26,3 g.L-1) foi estimada em temperatura de 159 °C e 13,2% (m/m) de adição de álcali. Estas condições são semelhantes às condições no ponto central (160 °C e 10% (m/m) de adição de álcali). Após a realização da reação de sulfonação nas condições de temperatura de 159 °C e 13,2% (m/m) de adição de álcali foi obtida uma concentração de 25,3±1,6 g.L-1, evidenciando um bom ajuste do modelo aos dados experimentais.

Figura 3 – (A.) Gráfico de Superfície de resposta para produção de lignosulfonato, após sulfonação, em função de X1=Temperatura (°C) e X2= Adição de álcali (%); (B.) Gráfico de contorno de resposta para produção de lignosulfonato, após sulfonação, em função de X1=Temperatura (°C) e X2= Adição de álcali (%)



**Temperatura(°C)**

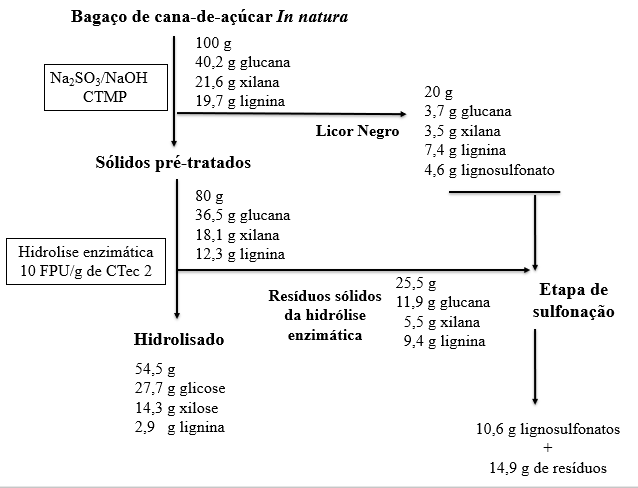
***Balanço de massa dos componentes do bagaço de cana sob processamento na biorrefinaria proposta***

A Figura 4 ilustra o balanço de massa global para a biorrefinaria proposta, na qual fica evidenciado o destino de cada fração durante o processamento. Ao final da etapa de hidrólise enzimática foi possível obter 27,4 g de glicose e 14,3 g de xilose a partir de 100 g de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado. Neste sentido, foi observada uma conversão de cerca de 63% de glucana em glicose e 58% de xilana em xilose.

Quanto a fração de lignina recuperada na forma de lignosulfonato, que após o pré-tratamento correspondia em um aproveitamento de 4,3 g de lignosulfonato/100 g de bagaço, houve aumento para 10,6 g/100 g de bagaço com o acréscimo da etapa de sulfonação. Desta forma, obteve-se 23% de conversão de lignina em lignosulfonato na etapa de pré-tratamento, sendo que a adição da etapa de sulfonação resultou em uma conversão superior (54%).

Zhou et al., (2015, 2016), em estudos similares, alcançaram produção de 68 kg de lignosulfonato por tonelada de madeira processada através do processo SPORL. Os estudos foram conduzidos em escala piloto (40 kg de biomassa seca), empregando madeira dura (*Populus deltoides****)*** e madeira de conífera (*Pinus* sp.), com 3% e 8% de bissulfito de sódio, respectivamente, em temperatura de 160 oC por 40 min. Em comparação, o presente estudo demonstrou que seria possível produzir 43 kg de lignosulfonato por tonelada de bagaço de cana-de-açúcar, após o pré-tratamento com sulfito alcalino. A inclusão da etapa de sulfonação permite a produção de 106 kg de lignosulfonato por tonelada de cana-de-açúcar.

Figura4 - Balanço de massa para o bagaço de cana durante pré-tratamento quimiotermomecânico seguido da hidrólise enzimática e reação de sulfonação no ponto ótimo



# CONCLUSÕES

Através deste trabalho foi possível realizar a integração de processos buscando melhorar a utilização de material lignocelulósico com consequente formação de lignosulfonato e açúcares fermentescíveis. O resíduo da hidrólise enzimática foi utilizado nas reações de sulfonação, no qual o licor negro oriundo do pré-tratamento foi utilizado como agente de sulfonação. O desempenho do método de sulfonação foi avaliado por meio do delineamento experimental, onde se demostrou que a adição de álcali foi mais significativa para uma maior produção de lignosulfonato, de 5,3 g.L-1 para 25,3 g.L-1 na condição experimental ótima. Portanto, a produção de lignosulfonato é uma alternativa atrativa para a biorrefinaria do material lignocelulósico, corroborando para a integração da tecnologia, visto que a conversão do substrato a açucares não fora afetada.

# REFERÊNCIA

ARO, T.; FATEHI, P. Production and Application of Lignosulfonates and Sulfonated Lignin. **ChemSusChem**, v. 10, n. 9, p. 1861–1877, 2017.

DU, L. et al. A co-production of sugars, lignosulfonates, cellulose, and cellulose nanocrystals from ball-milled woods. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 254–262, 2017.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: Chemistry, Ultrastructure reactions**. New York: W. De Gruyter, 1989. p. 613.

FERRAZ, A. et al. Estimating the chemical composition of biodegraded pine and eucalyptus wood by DRIFT spectroscopy and multivariate analysis. **Bioresource Technolology**, v.74, p.201-212, 2000.

GUERRA, A. et al. Polymerization of lignin fragments contained in a model effluent by polyphenoloxidases and horseradish peroxidase/hydrogen peroxide system**. Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, n. 5–6, p. 315–323, 2000.

HIMMEL, M. E. et al. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. **Science** (New York, N.Y.), v. 315, n. 5813, p. 804–807, 2007.

HODÁSOVÁ, Ľ. et al. Lignin, potential products and their market value. **Wood research**, v. 60, n. 2003, p. 973–986, 2015.

HUANG, C. et al. Novel process for the coproduction of xylo-oligosaccharides, fermentable sugars, and lignosulfonates from hardwood. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 600–607, 2016.

JÖNSSON, L.; ALRIKSSON, B.; NILVEBRANT, N. Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. **Biotechnology for Biofuels**, v. 21, n. 12, p. 10, 2013.

KUN, D.; PUKÁNSZKY, B. Polymer/lignin blends: Interactions, properties, applications. **European Polymer Journal**, 2017.

LAURITO-FRIEND, D. F. et al. Sugarcane hybrids with original low lignin contents and high field productivity are useful toreach high glucose yields from bagasse. **Biomass and Bioenergy**, v. 75, p. 65–74, 2015.

LIU, Y.; WANG, J.; WOLCOTT, M. P. Evaluating the effect of wood ultrastructural changes from mechanical treatment on kinetics of monomeric sugars and chemicals production in acid bisulfite treatment. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 24–30, 2017.

MASARIN, F. et al. Chemical composition and enzymatic digestibility of sugarcane clones selected for varied lignin content. **Biotechnology for Biofuels**, v. 4, p. 55, 2011.

MENDES, F. M. et al. Techno-economic impacts of varied compositional profiles of sugarcane experimental hybrids on a biorefinery producing sugar, ethanol and electricity. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 125, p. 72–78, 2017.

MENDES, F. M. et al. Alkaline sulfite pretreatment for integrated first and second generation ethanol production: A techno-economic assessment of sugarcane hybrids. **Biomass and Bioenergy**, v. 119, n. September, p. 314–321, 2018.

REINOSO, F. A. M. et al. Fate of p-hydroxycinnamates and structural characteristics of residual hemicelluloses and lignin during alkaline-sulfite chemithermomechanical pretreatment of sugarcane bagasse. **Biotechnology for Biofuels**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2018.

ROCHA, G. J. DE M. et al. Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical-chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 52–58, 2015.

SLUITER, A., HAMES, B., RUIZ, R., SCARLATA, C., SLUITER, J., TEMPLETON, D. **Determination of Ash in Biomass**. National Renewable Energy Laboratory (NREL), 1-8, 2005.

TAVARES, J. et al. Hydrothermal alkaline sulfite pretreatment in the delivery of fermentable sugars from sugarcane bagasse. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 6, p. 4474–4484, 2018.

TOPÇU, İ. B.; ATEŞIN, Ö. Effect of high dosage lignosulphonate and naphthalene sulphonate based plasticizer usage on micro concrete properties. **Construction and Building Materials**, v. 120, p. 189–197, 2016.

VAZ, S. A renewable chemistry linked to the Brazilian biofuel production. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2014.

XU, H. et al. Effect and characterization of sodium lignosulfonate on alkali pretreatment for enhancing enzymatic saccharification of corn stover. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 638–646, 2015.

YAMINI, G. et al. Cure kinetics of modified lignosulfonate/epoxy blends. **Thermochimica Acta**, v. 675, n. November 2018, p. 18–28, 2019.

ZHANG, G. et al. Acid-catalyzed hydrolysis of conifer lignosulfonate in black liquor for the production of value-added chemicals. **Applied Catalysis A: General**, v. 542, n. April, p. 1–9, 2017.

ZHOU, H. et al. High Titer Ethanol and Lignosulfonate Production from SPORL Pretreated Poplar at Pilot Scale. **Frontiers in Energy Research**, v. 3, n. April, p. 1–9, 2015.

ZHOU, H. et al. Pilot-scale demonstration of SPORL for bioconversion of lodgepole pine to bioethanol and lignosulfonate. **Holzforschung**, v. 70, n. 1, p. 21–30, 2016.

ZHU, J. Y.; PAN, X. J. Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: Technology and energy consumption evaluation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4992–5002, 2010.