



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Miguel José Rodrigues Santinho

**EXTRAÇÃO, ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
LENHINA DE *ACACIA DEALBATA*
RECORRENDO A SOLVENTES EUTÉTICOS E LÍQUIDOS
IÓNICOS**

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Química orientada pelo Doutor José António Ferreira Gamelas e pela Professora Doutora Maria da Graça Videira de Sousa Carvalho e apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Universidade de Coimbra

Setembro de 2022

Miguel José Rodrigues Santinho

Extração, isolamento e caracterização de lenhina de *Acacia dealbata* recorrendo a solventes eutéticos e líquidos iónicos

Dissertação do Mestrado Integrado em Engenharia Química, apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Supervisores:

Doutor José António Ferreira Gamelas

Professora Doutora Maria da Graça Videira de Sousa Carvalho

Instituições:

Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade de Coimbra
Centro de Investigação em Engenharia dos Processos Químicos e dos produtos da
Floresta

Coimbra, 2022



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”.

George Bernard Shaw

Agradecimentos

O culminar desta etapa com a realização desta dissertação apenas foi possível graças ao apoio dos meus amigos, colegas e professores que me acompanharam ao longo desta etapa no mestrado integrado em engenharia química, um bem haja a todos.

Em especial aos meus orientadores Dr. José Gamelas e Prof^a. Dr^a. Graça Carvalho pela disponibilidade e por todo o tempo despendido quer na discussão e análise de resultados, quer no esclarecimento de dúvidas que me iam surgindo.

Um enorme obrigado ao Mestre Ricardo Almeida por todos os ensinamentos e ajuda incansável na parte laboratorial. Um obrigado também aos “colegas de laboratório”: Mestre Solange Magalhães, Mestre Catarina Fernandes e Mestre Jorge Pedrosa por todos os esclarecimentos de dúvidas e conversas.

Deixo também um agradecimento à Mestre Cátia Mendes pela injeção das amostras na coluna de HPLC e à construção das curvas de calibração inseridas no respetivo software, à Dr^a. Ana Borba pela realização das análises FTIR e à Mestre Maria João Bastos pela realização das análises Termogravimétricas.

Aos meus amigos, com especial destaque para o “Gang do Uno” e os “CUT Esports”.

À Sofia pelo carinho, paciência, por estar sempre lá e ser o meu “Wonderwall”.

E por fim, aos meus pais, avós, tia, primos e ao Shanti, um muito obrigado a todos por sempre terem acreditado em mim. Um agradecimento especial à minha mãe por sempre ter feito tudo por mim e pela paciência por não levar todos os *tupperwares* a tempo.

Agradeço ainda a todas as pessoas não mencionadas, mas que de forma direta ou indireta, ajudaram na realização desta dissertação.

A todos, um sincero obrigado,
Miguel José Rodrigues Santinho

Resumo

A biomassa lenhocelulósica é uma matéria-prima renovável e abundante com potencial para a produção de biocombustíveis e produtos químicos, no contexto de Biorrefinaria. Um dos seus constituintes, a lenhina, cujo teor pode ascender a 35%, é frequentemente tratado como um resíduo, apesar do seu elevado potencial em inúmeras aplicações. A madeira de *Acacia dealbata* é um exemplo de biomassa lenhocelulósica duma espécie invasora abundante em Portugal, pelo que a extração e separação da lenhina possibilita a dupla valorização desta espécie e da lenhina, sendo este o principal objetivo deste trabalho.

Na última década, os líquidos iónicos (ILs) e os solventes de baixo ponto eutético (DESs) têm despertado bastante interesse por parte da comunidade científica graças à sua elevada capacidade de separar os constituintes da biomassa lenhocelulósica, para que estes possam depois ser valorizados individualmente. Neste trabalho, a madeira de *Acacia dealbata* (serradura, fração 0.25-0.84 mm) foi dissolvida em dois solventes diferentes: num líquido iónico - [BMIM]MeSO₄ + H₂O e num solvente de baixo ponto eutético - cloreto de colina+imidazol, em diferentes condições de temperatura (120 a 180°C) e tempo (8 a 24 h). O líquido iónico originou maiores rendimentos de dissolução que o solvente eutético, uma vez que esse é menos seletivo para com a lenhina. No primeiro caso, obtiveram-se rendimentos de dissolução de 64.4, 60.9 e 55.5% para as condições 140°C/24h, 140°C/8h e 120°C/24h, respetivamente. Já para o solvente eutético, os rendimentos obtidos foram 55.0, 50.7 e 49.0% para as condições 180°C/24h, 180°C/8h e 160°C/24h. Atendendo à percentagem mássica de lenhina na madeira original (~20%), estes resultados indicam que ocorreu dissolução de outros componentes da madeira.

Posteriormente, procedeu-se à precipitação do material dissolvido no passo anterior, através da adição de água destilada ao licor resultante da etapa de dissolução. Para as condições de extração referidas, e considerando que o material precipitado era “lenhina”, obtiveram-se rendimentos de precipitação de lenhina médios de >100, 80.9 e 67.8%, no caso do líquido iónico e 98.4, 68.2 e 75.7% no caso do solvente eutético.

De forma a avaliar o grau de pureza da lenhina contida na massa precipitada, foi quantificado o teor de lenhina e de polissacarídeos, tendo sido depois efetuada uma caracterização química que incluiu o uso de técnicas analíticas como FTIR, termogravimetria e espectroscopia UV-Vis.

Foi possível comprovar a elevada pureza das amostras de lenhina analisadas: todas apresentaram purezas acima de 83% (teor de lenhina total) bem como teores em polissacarídeos inferiores a 1%. Nas amostras referentes ao tratamento com o líquido iônico obtiveram-se lenhinas com purezas de 92.6, 83.2 e 88.3% para as amostras 140°C/24h, 140°C/8h e 120°C/24h, respetivamente. Já nas amostras provenientes do solvente eutético, conseguiram-se purezas de 85.2, 90.9 e 92.7% para as condições 180°C/24h, 180°C/8h e 160°C/24h, respetivamente.

A partir dos espetros de FTIR foi possível inferir acerca da existência de bandas características de grupos funcionais da lenhina e perceber que estes eram semelhantes entre amostras, mesmo que as condições de extração fossem diferentes. Foi ainda notório para todas as amostras que as bandas típicas da celulose apresentavam sinais muito fracos no espetro das lenhinas precipitadas.

Através da análise termogravimétrica verificou-se que as lenhinas provenientes de condições de extração mais severas, apresentaram uma estabilidade térmica maior. A estabilidade térmica apresentou também variabilidade com o tipo de lenhina analisada, já que as amostras provenientes de tratamento com líquido iônico apresentaram tipicamente uma estabilidade térmica mais elevada que as amostras provenientes de tratamento com o solvente eutético. Os valores de maior taxa de perda de massa por unidade de temperatura foram obtidos nas temperaturas de 391, 347 e 354°C para as amostras obtidas do tratamento com líquido iônico, correspondentes às condições 140°C/24h, 120°C/24h e 140°C/8h, respetivamente, e nas temperaturas de 345 e 271°C para as amostras obtidas do solvente eutético correspondentes às condições 180°C/24h e 160°C/24h, respetivamente. Estes valores foram no geral mais altos que o de uma lenhina kraft de referência (322°C), demonstrando uma estabilidade térmica superior das lenhinas precipitadas.

Através de espectroscopia UV-Vis verificou-se que as amostras de lenhina obtidas quer com líquido iônico quer com solvente eutético são mais coradas que a lenhina kraft, com máximos de absorção na região do ultravioleta-visível de cerca de 500 nm (lenhina extraída com líquido iônico), 400 nm (lenhina extraída com solvente eutético) e 360 nm (lenhina kraft).

Palavras-chave: Líquidos iónicos, Solventes eutéticos, Lenhina, Extração, *Acacia dealbata*

Abstract

Lignocellulosic biomass is an abundant renewable feedstock with the potential for the production of biofuels and chemicals, in the context of Biorefinery. One of its constituents, lignin, whose content can be as high as 35%, is often treated as a waste product, despite its high potential in numerous applications. The wood of *Acacia dealbata* is an example of lignocellulosic biomass of an invasive species abundant in Portugal, so the extraction and separation of lignin from it allows, simultaneously, the double valorization of this species and lignin, which is the main objective of this work.

In the last decade, ionic liquids (ILs) and deep eutectic solvents (DESs) have aroused much interest from the scientific community thanks to their high capacity to separate the constituents of lignocellulosic biomass, so that they can then be individually valorized. In this work, *Acacia dealbata* wood (sawdust, fraction 0.25-0.84 mm) was dissolved in two different solvents: an ionic liquid - [BMIM]MeSO₄ + H₂O and a deep eutectic solvent - choline chloride + imidazole, under different conditions of temperature (120 to 180°C) and time (8 to 24 h). The ionic liquid gave higher dissolution yields than the eutectic solvent since the former is less selective for lignin. In the first case, dissolution yields of 64.4, 60.9, and 55.5% were obtained for the conditions 140°C/24h, 140°C/8h, and 120°C/24h, respectively. For the eutectic solvent, yields were 55.0, 50.7, and 49.0% for 180°C/24h, 180°C/8h, and 160°C/24h, respectively. Given the mass percentage of lignin in the original wood (~20%), these results indicate that dissolution of other wood components has occurred.

Subsequently, the material dissolved in the previous step was precipitated by adding distilled water to the liquor resulting from the dissolution. For the mentioned extraction conditions and considering that the precipitated material was "lignin", average lignin precipitation yields of >100, 80.9, and 67.8% were obtained for the ionic liquid and 98.4, 68.2, and 75.7% for the eutectic solvent.

In order to assess the purity of the lignin contained in the precipitated mass, the lignin and polysaccharide contents were quantified, and then a chemical characterization was performed that included the use of analytical techniques such as FTIR, thermogravimetry, and UV-Vis spectroscopy.

It was possible to verify the high purity of the analyzed lignin samples: all of them presented purities above 83% (total lignin content) as well as polysaccharide contents

lower than 1%. In the samples treated with ionic liquids, lignin purities of 92.6, 83.2, and 88.3% were obtained for the samples 140°C/24h, 140°C/8h, and 120°C/24h, respectively. In the eutectic solvent samples, purities of 85.2, 90.9, and 92.7% were obtained for 180°C/24h, 180°C/8h, and 160°C/24h, respectively.

From the FTIR spectra, it was possible to infer the existence of bands characteristic of lignin functional groups and realize that these were similar between samples, even if the extraction conditions were different. It was also noticeable for all samples that the typical cellulose bands had very weak signals in the spectra of the precipitated lignins.

Through thermogravimetric analysis, it was found that the lignins obtained from more severe extraction conditions presented higher thermal stability. The thermal stability also presented variability with the type of lignin analyzed, since the samples from treatment with ionic liquid typically presented higher thermal stability than the samples from treatment with eutectic solvent. The highest values of mass loss rate per unit of temperature were obtained at 391, 347, and 354°C for the samples obtained from the ionic liquid treatment, corresponding to the conditions 140°C/24h, 120°C/24h, and 140°C/8h, respectively, and at 345 and 271°C for the eutectic solvent samples corresponding to the conditions 180°C/24h and 160°C/24h, respectively. These values were generally higher than that of a reference kraft lignin (322°C), demonstrating superior thermal stability of the precipitated lignins.

Through UV-Vis spectroscopy, it was found that lignin samples obtained with either ionic liquid or eutectic solvent have more color than kraft lignin, with absorption maxima in the ultraviolet-visible region of about 500 nm (lignin extracted with ionic liquid), 400 nm (lignin extracted with eutectic solvent), and 360 nm (kraft lignin).

Keywords: Ionic liquids, Deep eutectic solvents, Lignin, Extraction, *Acacia dealbata*

Índice

1.	Introdução	1
1.1	Âmbito e Motivação.....	1
1.2	Objetivos	2
1.3	Organização da dissertação	2
2.	Revisão Bibliográfica.....	3
2.1	Composição da biomassa lenhocelulósica	3
2.1.1	Celulose.....	4
2.1.2	Hemiceluloses	5
2.1.3	Lenhina.....	6
2.1.4	Cinzas e Extratáveis	8
2.2	Pré-tratamentos da biomassa lenhocelulósica	9
2.3	Tratamento da biomassa lenhocelulósica recorrendo a líquidos iónicos.....	12
2.3.1	Dissolução da biomassa lenhocelulósica em líquidos iónicos	14
2.4	Tratamento da biomassa lenhocelulósica recorrendo a solventes eutéticos	17
2.4.1	Tipos de solventes eutéticos	18
2.4.2	Ponto de fusão dos DES	20
2.4.3	Preparação dos solventes eutéticos.....	21
2.4.4	Solubilização da biomassa usando solventes eutéticos	22
2.4.5	Precipitação da lenhina e propriedades	26
2.4.6	Valorização da lenhina	28
3.	Material e Metodologia Experimental.....	31
3.1	Matéria-prima – <i>Acacia dealbata</i>	31
3.2	Produtos químicos.....	31
3.3	Equipamentos e materiais de laboratório	32
3.4	Metodologia experimental.....	33
3.4.1	Preparação dos solventes eutéticos.....	34

3.4.2	Dissolução da madeira usando solvente eutético (cloreto de colina+imidazol)..	34
3.4.3	Dissolução da madeira usando o líquido iônico ([BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O).....	35
3.4.4	Precipitação dos materiais dissolvidos	36
3.4.5	Determinação de lenhina nos materiais precipitados	36
3.4.6	Determinação de polissacarídeos dos materiais precipitados.....	38
3.4.7	Análise do material rico em lenhina pela técnica de FTIR-ATR	38
3.4.8	Análise termogravimétrica (TGA)	40
3.4.9	Espetroscopia UV-VIS.....	41
4.	Resultados e Discussão	43
4.1	Dissolução da madeira	43
4.1.1	Dissolução da madeira no líquido iônico ([BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O).....	43
4.1.2	Dissolução da madeira no solvente eutético (Cloreto de colina + Imidazol)	44
4.2	Precipitação da lenhina.....	45
4.2.1	Precipitação do material dissolvido proveniente do pré-tratamento da madeira com líquido iônico ([BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O)	46
4.2.2	Precipitação da lenhina proveniente do pré-tratamento da madeira solvente eutético (Cloreto de colina + Imidazol).....	48
4.3	Determinação da lenhina e dos polissacarídeos	49
4.3.1	Determinação de lenhina nas amostras provenientes do pré-tratamento com líquido iônico ([BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O)	49
4.3.2	Determinação de lenhina nas amostras provenientes do pré-tratamento com solvente eutético (Cloreto de colina + Imidazol)	50
4.3.3	Determinação de polissacarídeos das amostras proveniente do pré-tratamento com líquido iônico ([BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O)	51
4.3.4	Determinação de polissacarídeos das amostras provenientes do pré-tratamento com solvente eutético (Cloreto de colina + Imidazol)	51
4.4	Análise das lenhinas precipitadas por FTIR-ATR	52
4.5	Análise das lenhinas precipitadas por Termogravimetria (TGA).....	56
4.6	Análise das lenhinas precipitadas por Espetroscopia UV-Vis	59

5. Conclusões	63
6. Referências Bibliográficas	66
Anexo I – Procedimentos experimentais utilizados na caracterização química das amostras	77
Anexo II – Extrações de lenhina realizadas	81
Anexo III – Amostras utilizadas para os diferentes testes.....	85
Anexo IV – Espectros de HPLC	86
Anexo V – Perigos e precauções a ter com os principais compostos químicos utilizados neste trabalho.....	89

Índice de figuras

Figura 2.1 - Representação esquemática da constituição da biomassa lenhocelulósica (adaptado de Fengel & Wegener, 1984)	3
Figura 2.2 – Representação da estrutura da celulose (adaptado de Liao <i>et al.</i> , 2020).....	5
Figura 2.3 - Estrutura molecular de diferentes tipos de hemiceluloses (adaptado de Shrotri <i>et al.</i> , 2017).	6
Figura 2.4 – Estrutura de unidades de fenilpropano precursoras da lenhina - Álcool cumarílico; II - Álcool coniferílico; III - Álcool sinapílico (adaptado de Fengel & Wegener, 1984)	7
Figura 2.5 - Diferentes tipos de ligações de unidades de fenilpropano e respetiva abundância em Hardwoods (HW) e Softwoods (SW) (adaptado de Shrotri <i>et al.</i> , 2017)	8
Figura 2.6 - Efeito do pré-tratamento na biomassa lenhocelulósica (adaptado de Pensri <i>et al.</i> , 2016)	9
Figura 2.7 - Exemplos de catiões e aniões típicos em ILs (adaptado de Yoo <i>et al.</i> , 2017).....	13
Figura 2.8 - Mecanismos de ação dos líquidos iónicos (adaptado de Bhaumik & Dhepe, 2016)	14
Figura 2.9 - Aceitadores e dadores de hidrogénio em solventes eutéticos (adaptado de Tomé <i>et al.</i> , 2018).	18
Figura 3.1 – Madeira de <i>Acacia dealbata</i> sob forma de a) aparas b) serradura	31
Figura 3.2 – Procedimento experimental seguido ao longo da dissertação	33
Figura 3.3 - Esquema do processo de análise de uma amostra (adaptado de Leite <i>et al.</i> , 2009).	39
Figura 3.4 – Princípio de funcionamento da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em reflexão total atenuada (FTIR-ATR)	40
Figura 4.1 – Espetros FTIR-ATR da madeira original (<i>Acacia dealbata</i>) e das amostras de lenhina obtidas recorrendo ao tratamento com [BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O para as diferentes condições de operação.....	53
Figura 4.2 - Espetros FTIR-ATR da madeira original (<i>Acacia dealbata</i>) e das amostras de lenhina obtidas recorrendo ao tratamento com o solvente eutético (cloreto de colina + imidazol) para as diferentes condições de operação.....	54
Figura 4.3 - Termogramas e respetivas primeiras derivadas	57
Figura 4.4 – Espetros UV-Vis obtidos em modo de reflectância e em modo de unidades k/s, respetivamente.....	60
Figura I.1 - Curva de Calibração da Glucose a) e da Xilose b).....	80
Figura IV.1 – Espectro referente às amostras LI 13 e 14 (140°C 24h)	86
Figura IV.2 - Espectro referente às amostras LI 15 e 16 (140°C 24h).....	86

Figura IV.3 - Espectro referente às amostras SE 7 e 8 (180°C 24h)	86
Figura IV.4 - Espectro referente às amostras SE 9 e 10 (180°C 24h)	86
Figura IV.5 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição LI 120°C 24h...	87
Figura IV.6 - Espectro referente à replica 2 das amostras referentes à condição LI 120°C 24h...	87
Figura IV.7 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição LI 140°C 8h.....	87
Figura IV.8 - Espectro referente à replica 2 das amostras referentes à condição LI 140°C 8h.....	87
Figura IV.9 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição DES 180°C 8h	88
Figura IV.10 - Espectro referente à replica 2 das amostras referentes à condição DES 180°C 8h	88
Figura IV.11 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição DES 160°C 24h	88
Figura IV.12 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição DES 160°C 24h	88

Índice de tabelas

Tabela 2.1 - Composição de diferentes biomassas lenhocelulósicas apresentadas em percentagem m/m (Rastogi & Shrivastava, 2017).....	4
Tabela 2.2 – Diferentes tipos de pré-tratamento da biomassa lenhocelulósica (H. Chen et al., 2017).	10
Tabela 2.3 - Solubilidade de lenhina Kraft em Líquidos Iônicos (Pu et al., 2007)	15
Tabela 2.4 - Percentagem de remoção de lenhina para diferentes tipos de líquidos iônicos	16
Tabela 2.5 - Diferentes tipos de solventes eutéticos (Kudłak et al., 2015; Abranches et al., 2019))	19
Tabela 2.6 - Temperatura de fusão de vários tipos de DES	20
Tabela 2.7 - Modo de preparação de alguns tipos de DES.....	22
Tabela 2.8 - Solubilidade da lenhina e celulose em solventes eutéticos	23
Tabela 2.9 – Percentagens de deslenhificação utilizando diversos solventes eutéticos	24
Tabela 2.10 – Principais solventes usados na precipitação, purezas e características da lenhina obtida.....	27
Tabela 3.1 – Reagentes utilizados no decorrer do trabalho experimental	32
Tabela 3.2 – Condições de extração adotadas do decorrer da dissertação	34
Tabela 4.1 - Dissolução da madeira no líquido iônico [BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O	44
Tabela 4.2 - Dissolução da madeira no solvente eutético ChCl+Imidazol (3:7).....	45
Tabela 4.3 - Resultados referentes ao processo de precipitação do material dissolvido para o líquido iônico	47
Tabela 4.4 - Resultados referentes ao processo de precipitação do material dissolvido para o solvente eutético	48
Tabela 4.5 - Determinação de lenhina nos materiais precipitados referentes ao líquido iônico. 49	
Tabela 4.6 - Determinação de lenhina nos materiais precipitados referentes ao solvente eutético	50
Tabela 4.7 – Resultados referentes à determinação de polissacarídeos nos materiais precipitados relativos ao líquido iônico	51
Tabela 4.8 - Resultados referentes à determinação de polissacarídeos nos materiais precipitados relativos ao solvente eutético	52
Tabela 4.9 – Picos obtidos nas amostras de lenhina provenientes do tratamento com o líquido iônico.....	55
Tabela 4.10 – Picos obtidos nas amostras de lenhina provenientes do tratamento com o solvente eutético.	55
Tabela 4.11 – Principais resultados resultantes da TGA.....	58

Tabela 4.12 – Máximo de k/s no ultravioleta-visível das amostras de lenhina	61
Tabela II.1 – Extrações de lenhina recorrendo ao líquido iónico [BMIM] MeSO ₄	81
Tabela II.2 - Extrações de lenhina recorrendo ao solvente eutético ChCl + Imidazol	83
Tabela III.1 – Diferentes amostras utilizadas na realização de todos os testes.	85
Tabela V. 1 - Perigos e precauções a ter com os principais compostos químicos utilizados neste trabalho.....	89

1. Introdução

1.1 Âmbito e Motivação

Durante o último século, a maior parte da energia e dos produtos químicos produzidos industrialmente eram derivados de recursos à base de combustíveis fósseis. A preocupação com o esgotamento dos combustíveis fósseis e as questões ambientais associada à utilização destes combustíveis em larga escala levou à procura de novos recursos ambientais (Takkellapati *et al.*, 2018). A biomassa lenhocelulósica é uma matéria-prima renovável e ubíqua com muito potencial para a produção de biocombustíveis e produtos químicos no contexto de biorrefinaria. É composta por três grandes componentes: celulose, hemicelulose e lenhina. Nas últimas décadas, os esforços de investigação têm sido dedicados à conversão dos polissacarídeos num espectro amplo de biocombustíveis e produtos químicos, tais como etanol, butanol e derivados do furano (Kawaguchi *et al.*, 2016). No entanto, a lenhina gerada em operações de biorrefinaria permanece subutilizada e é frequentemente tratada como um subproduto de resíduos e queimada para aquecimento e geração de energia elétrica. A valorização da lenhina maximizaria a utilização da biomassa ao mesmo tempo que reduziria a produção de resíduos (Chen *et al.*, 2020). A lenhina possui propriedades que permitem aplicações em diversas indústrias como aditivo, dispersante, componente de compósitos ou de resinas, agente de modificação de superfície, agente microbiano, podendo ainda ser utilizada para incorporar vários combustíveis de hidrocarbonetos ou bioprodutos (por exemplo, produtos químicos aromáticos e macromoléculas), pelo que o seu isolamento a partir de biomassa se revela como um assunto de grande interesse.

Neste trabalho, optou-se pela utilização da matéria-prima acácia (*Acacia dealbata*) dado tratar-se de uma espécie invasora abundante em Portugal, especialmente na região centro do país. Vulgarmente conhecida por mimosa, a *Acacia dealbata* é uma *hardwood* da família das *Leguminosae* e é uma espécie de árvore nativa da Austrália que existe em praticamente todo o mundo: América do Norte, Ásia, Índia, Egito, Norte da África, China, Austrália e Brasil (Raposo *et al.*, 2021). O género *Acacia*, que não faz parte da flora nativa portuguesa, inclui cerca de 1200 espécies, pertence à subfamília *Mimosoidea*, que inclui várias das espécies vegetais mais invasoras do mundo (Cronk & Fuller, 2001). Cerca de 13 espécies de acácia foram introduzidas em Portugal no início do século XX com o objetivo de estabilização de dunas nas zonas costeiras do país. Entre elas estavam: a *A.*

melanoxylon, a *A. longifolia*, a *A. saligna*, e a *A. dealbata*. Atualmente, a *Acacia dealbata* destaca-se como uma das mais prolíferas invasoras em Portugal. Esta propagação crescente está fortemente relacionada com o aumento dos incêndios, já que, nestas condições, as sementes de acácia acumuladas no solo são estimuladas a germinar e, como esta espécie é crescimento rápido, acaba por ocupar o lugar das espécies nativas da flora nacional. A tudo isto acresce a anormal capacidade da espécie de fixar azoto, o que permitiu que as acácias invadissem também, ambientes pobres em nutrientes (Marchante *et al.*, 2003). Como a madeira de acácia não tem utilização comercial e não apresenta boas propriedades para utilizações por parte das indústrias de pasta e papel, valorizar este recurso surge como uma oportunidade de elevado interesse económico e ambiental especialmente para a região centro de Portugal.

1.2 Objetivos

O trabalho desenvolvido no decorrer desta dissertação teve como objetivos principais a extração seletiva de lenhina da madeira proveniente da espécie arbórea *Acacia dealbata* recorrendo a líquidos iónicos e a solventes de baixo ponto eutético, e, numa fase posterior, a caracterização das amostras de lenhina isoladas. Os solventes a utilizar foram escolhidos com base em resultados obtidos em trabalhos realizados anteriormente no DEQ-FCTUC e este trabalho complementa esses estudos (Almeida, 2018; Moreira, 2021).

1.3 Organização da dissertação

A dissertação está estruturada em cinco capítulos: no primeiro capítulo são apresentados o âmbito, a motivação e os objetivos do trabalho. No segundo capítulo é apresentada a revisão da bibliografia, onde é feita uma contextualização acerca da temática do presente trabalho. No terceiro capítulo são apresentados os procedimentos experimentais adotados. O quarto capítulo destina-se à apresentação e discussão dos resultados obtidos. Finalmente, no quinto capítulo são apresentadas as principais conclusões do trabalho realizado.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Composição da biomassa lenhocelulósica

A biomassa lenhocelulósica é uma das matérias-primas mais abundantes na natureza, a partir da qual se produz mais de 220 mil milhões de toneladas anuais de resíduos em todo o mundo. Estes resíduos podem ter origem na atividade agrícola (p.e. caules e espigas de milho, bagaço de cana-de-açúcar), florestal (p.e serragem, casca, ramos), ou industrial, podendo ser convertidos em biocombustíveis equivalente a 60-80 mil milhões de toneladas de petróleo bruto (Rastogi & Shrivastava, 2017; Roy, 2017). Não sendo propriamente um resíduo, a Acácia é uma espécie invasora sem as qualidades adequadas para a indústria da madeira e da celulose, cuja quantidade no nosso país tem vindo a aumentar cada vez mais. Estima-se que em 2015, as acácias tivessem presentes em cerca de 8.4 mil ha por todo o país (Uva, 2015).

A biomassa lenhocelulósica, como ilustra a Figura 2.1, é sobretudo constituída por três polímeros: celulose, hemiceluloses e lenhina. Para além destes, contém ainda compostos de baixo peso molecular como extratáveis (de origem orgânica) e cinzas (de origem inorgânica) (Fengel & Wegener, 1984; Roger M, 2013).

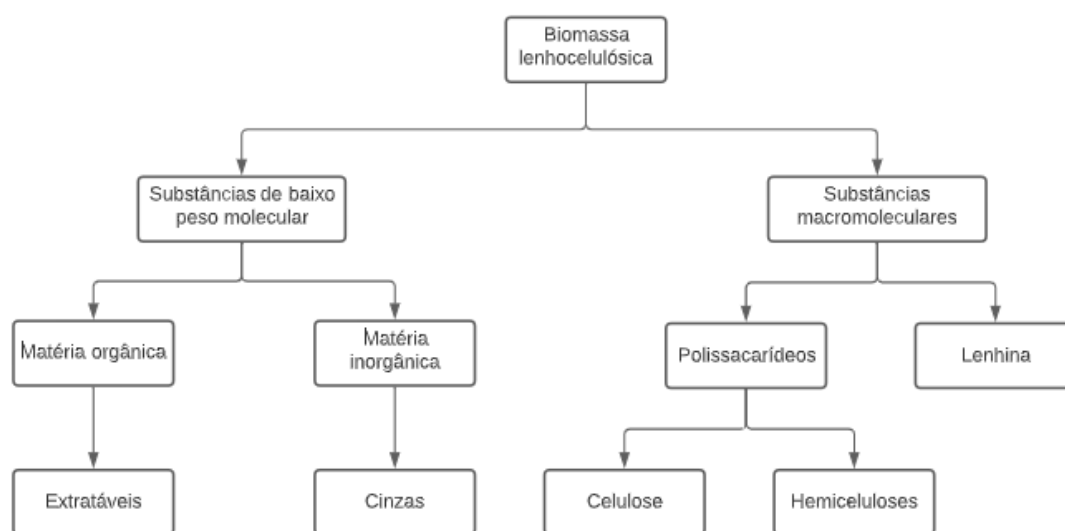


Figura 2.1 - Representação esquemática da constituição da biomassa lenhocelulósica (adaptado de Fengel & Wegener, 1984)

A composição mássica depende do tipo de biomassa, da localização geográfica, das condições climáticas e do solo de onde é proveniente (Y. Singh *et al.*, 2017). Na Tabela 2.1 encontram-se valores típicos de composições aproximadas de vários tipos de

biomassa lenhocelulósica. Como se pode comprovar, o teor de lenhina varia entre 18 e 35 % na biomassa arbórea, sendo, por isso, relevante a sua valorização.

Tabela 2.1 - Composição de diferentes biomassas lenhocelulósicas apresentadas em percentagem m/m (Rastogi & Shrivastava, 2017).

Biomassa lenhocelulósica	Celulose (%)	Hemiceluloses (%)	Lenhina (%)	Cinzas (%)
Bagaço de cana-de-açúcar	32-48	19-24	23-32	1.5-5
Palha de arroz	28-36	23-28	12-14	14-20
Palha de trigo	33-38	26-32	17-19	6-8
<i>Softwoods</i>	45-50	25-35	25-35	0.2-0.8
<i>Hardwoods</i>	40-55	24-40	18-25	0.2-0.4
Papel de jornal	40-55	25-40	18-30	0.8-1.8

2.1.1 Celulose

A celulose foi descoberta em 1838 pelo químico francês Anselme Payen enquanto estudava diferentes tipos de madeira. Payen mostrou que vários materiais vegetais produziram uma substância fibrosa após realizar uma purificação com amónia e extração com água, álcool e éter (Heinze, 2016). Chamou a essa substância “celulose”, visto que a obteve através das paredes celulares de plantas (Lavanya *et al.*, 2011). Trata-se do polímero natural mais abundante na biosfera e serve de base estrutural das células vegetais. Por conseguinte, é a substância natural mais importante produzida por organismos vivos. A celulose está presente em todas as plantas, desde árvores até organismos primitivos tais como algas marinhas ou bactérias. No algodão, pode atingir 95% da composição mássica (Fengel & Wegener, 1984).

A fórmula química geral da celulose é $(C_6H_{10}O_5)_n$. O grau de polimerização é representado por n, o qual varia entre 10 000 unidades na madeira até 15 000 unidades em algodão nativo (Agbor *et al.*, 2011). Trata-se de um homopolímero de cadeia longa, com uma estrutura química relativamente simples, formado por unidades de anidro-D-glucopiranoose. As ligações β -1,4-glicosídicas entre unidades de glucose vizinhas, resultam numa rotação alternada de 180° em relação ao eixo da cadeia celulósica, que determinam a linearidade da cadeia, tal como se pode observar na Figura 2.2 (Liao *et al.*, 2020; Heinze, 2016). A unidade repetida da celulose é o dissacarídeo celobiose.

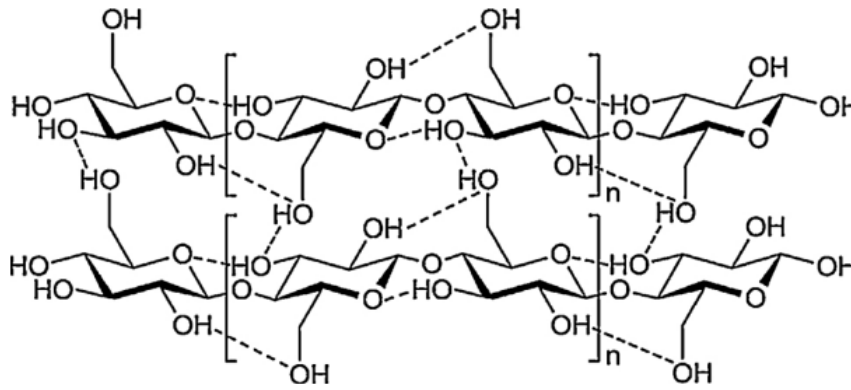


Figura 2.2 – Representação da estrutura da celulose (adaptado de Liao *et al.*, 2020)

As cadeias de celulose estão associadas de maneira a formar microfibrilas e estas, por sua vez, são agrupadas formando fibras celulósicas. Esta ultraestrutura da celulose resulta de ligações por pontes de hidrogénio e forças de Van der Waals entre cadeias, que determinam a sua cristalinidade (Agbor *et al.*, 2011). Estas microfibrilas apresentam então estruturas que alternam entre zonas bem organizadas (zonas cristalinas) e zonas menos organizadas (zonas amorfas). Devido a esta estrutura fibrosa, a celulose revela-se insolúvel na maior parte dos solventes dificultando assim a sua degradação e digestão pela maioria dos organismos vivos, incluindo bactérias (Dahadha *et al.*, 2017).

2.1.2 Hemiceluloses

As hemiceluloses são o segundo polímero mais abundante e diferem da celulose na medida em que são polímeros heterogéneos, por serem constituídas por vários tipos de unidades de açúcares: pentoses (xilose, arabinose), hexoses (manose, glicose, galactose) e açúcares acetilados. Têm uma massa molecular consideravelmente menor quando comparados à celulose e são ramificados com cadeias laterais curtas que são facilmente hidrolisadas (Fengel & Wegener, 1984). São classificadas tendo em conta o principal resíduo de açúcar na espinha dorsal (Figura 2.3), como xilanas (glucoronoxilanas), mananas (glucomananas e galactomananas, entre outras), xiloglucanas e β -glucanas (Shrotri *et al.*, 2017). Tipicamente, as hemiceluloses de *hardwoods* ou de biomassa agrícola contêm sobretudo xilanas, enquanto as hemiceluloses de *softwoods* contêm principalmente glucomananas (Agbor *et al.*, 2011; Saha, 2003).

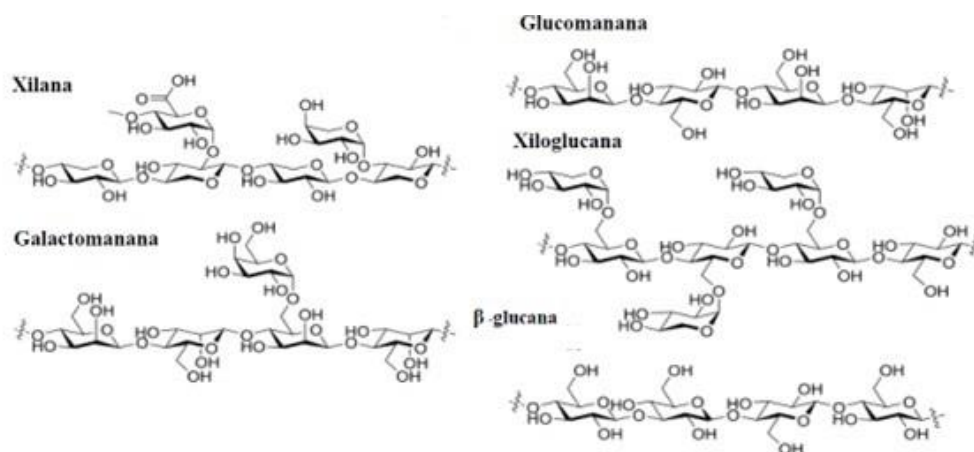


Figura 2.3 - Estrutura molecular de diferentes tipos de hemiceluloses (adaptado de Shrotri *et al.*, 2017).

As xilanas são poliose geralmente com uma espinha dorsal homopolimérica de unidades de xilose que estão ligadas por ligações β -(1-4)-glicosídicas. No caso das *hardwoods*, as cadeias de xilana são ramificadas, em intervalos irregulares, com grupos de ácido 4-O-metilglucurônico ligadas às unidades de xilose por uma ligação α -(1-2)-glicosídica (Fengel & Wegener, 1984).

As galactomananas possuem uma cadeia de manose modificada com galactose conectada por uma ligação α -1,6-glicosídica, enquanto as glucomananas possuem glucose e manose na cadeia principal, com ligação β -1,4-glicosídica (Shrotri *et al.*, 2017; Moreira & Filho, 2008).

A β -glucana é um homopolímero de glucose que contém ambas as ligações β -1,3- e β -1,4-glicosídica sem ramificações. Este tipo de hemicelulose é específico de gramíneas (Shrotri *et al.*, 2017).

2.1.3 Lenhina

A lenhina foi mencionada pela primeira vez em 1813 pelo botânico suíço Candolle, que a nomeou de "lignine", que deriva da palavra latina *lignum*, que significa madeira (Sjöström, 1993). É o terceiro polímero mais abundante na natureza e está presente nas paredes de células vegetais, conferindo uma rígida e impermeável resistência a ataques microbianos e a stress oxidativo. A lenhina é geralmente aceita como a "cola" que liga os diferentes componentes da biomassa lenhocelulósica, tornando-a assim insolúvel na água. (Agbor *et al.*, 2011).

Estruturalmente, a lenhina consiste num polímero fenólico altamente ramificado cujas unidades precursoras primárias são provenientes do fenilpropano (Figura 2.4) e

pode ser considerado a única fonte abundante de compostos aromáticos na natureza. Este material amorfo polifenólico resulta da polimerização desidrogenada enzimática de três monómeros, nomeadamente, o álcool cumarílico (p-hidroxifenilo) (Figura 2.4.I), o álcool coniferílico (Figura 2.4.II) e o álcool sinapílico (Figura 2.4.III), resultando na lenhina tipo H, tipo G (guaiacilo) e do tipo S (siringilo) (Lebo *et al.*, 2002).

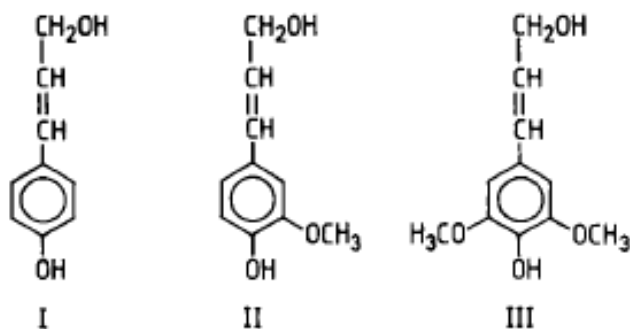


Figura 2.4 – Estrutura de unidades de fenilpropano precursoras da lenhina - Álcool cumarílico; II - Álcool coniferílico; III - Álcool sinapílico (adaptado de Fengel & Wegener, 1984)

As *softwoods* contêm maioritariamente unidades guaiacílicas (G). Nas *hardwoods*, para além destas, estão presentes também unidades siringílicas (S) (Carvalho, 1999). Já no caso das gramíneas, a lenhina é composta por todas as subunidades: siringilo (S), guaiacilo (G) e hidroxifenilo (H). Os monómeros fenilpropanoídeos são polimerizados durante a biossíntese para formar uma complexa estrutura tridimensional. Estas unidades podem estar ligadas por vários tipos de ligações tais como: β -O-4, 5-5, β -5, 4-O-5, β -1, dibenzodioxocina, ligações β - β , sendo que as ligações em *softwoods* e *hardwoods* são sobretudo do tipo β -O-4 (Shrotri *et al.*, 2017). Na Figura 2.5 encontram-se representadas as estruturas e respetivas proporções (em % (m/m)) das ligações principais estabelecidas entre as subunidades da lenhina, nas *hardwoods* e nas *softwoods*.

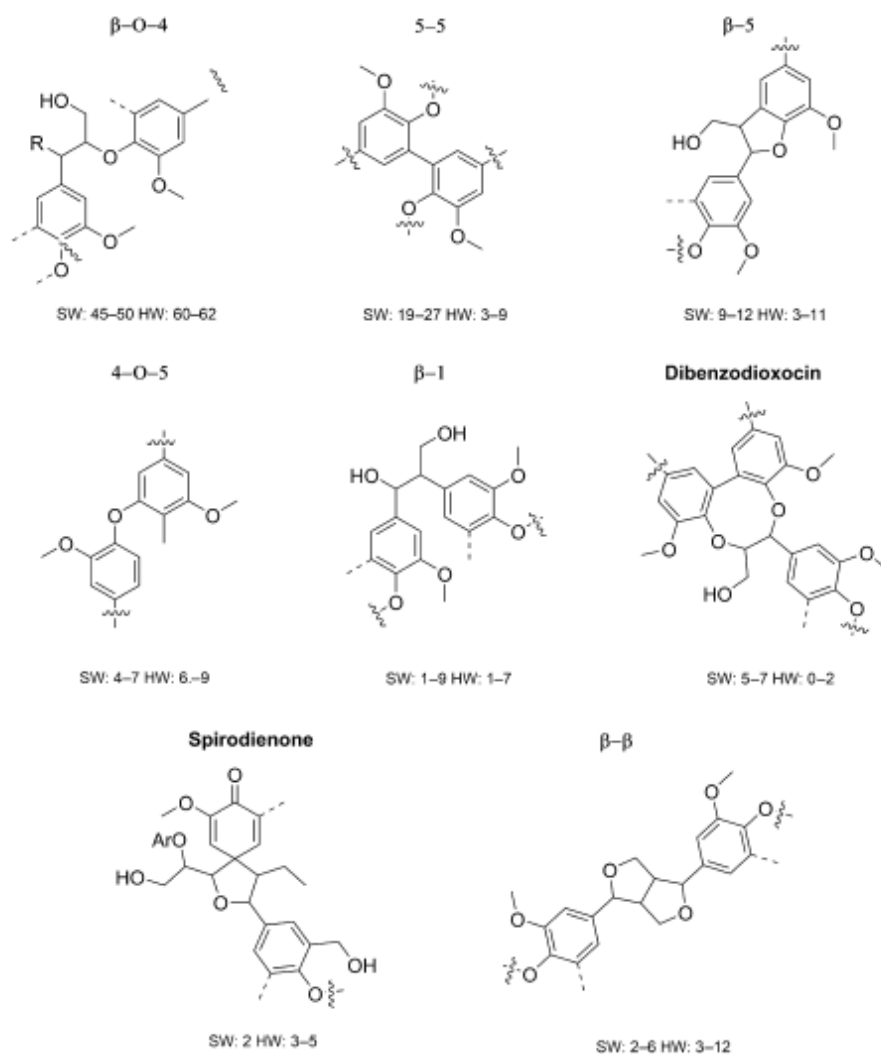


Figura 2.5 - Diferentes tipos de ligações de unidades de fenilpropano e respetiva abundância em Hardwoods (HW) e Softwoods (SW) (adaptado de Shetri *et al.*, 2017)

2.1.4 Cinzas e Extratáveis

Uma grande variedade de componentes de madeira, embora geralmente representem uma fração menor, são solúveis em solventes orgânicos neutros ou água. São denominados extratáveis e compreendem um número extraordinariamente grande de compostos individuais de ambos os tipos, lipofílicos e hidrofílicos. Os extratáveis podem ser considerados como constituintes não estruturais da madeira, e são quase exclusivamente compostos por componentes extracelulares e de baixo peso molecular (Sjöström, 1993). Incluem resinas, proteínas, fitoesteróis, gorduras, ceras, sais, e uma série de hidrocarbonetos não voláteis disponíveis em porções menores (Karimi & Taherzadeh, 2016).

As cinzas representam a matéria inorgânica da biomassa lenhocelulósica e estão presentes em quantidades inferiores a 1%. São constituídas maioritariamente por sais, tais

como fosfatos, oxalatos, carbonatos e silicatos de cálcio, potássio ou magnésio. A maioria dos compostos inorgânicos está combinada com substâncias orgânicas e possui funções fisiológicas, exercendo assim, um papel importante no metabolismo das plantas (Philipp & d'Almeida, 1988).

2.2 Pré-tratamentos da biomassa lenhocelulósica

O pré-tratamento da biomassa lenhocelulósica é um passo fundamental para a fracionamento/separação dos seus três principais constituintes (Figura 2.6) e subsequente conversão em produtos de valor acrescentado, com elevada eficiência (Mankar *et al.*, 2021). Como exemplo, a produção de açúcares, por hidrólise enzimática, e posteriores processos fermentativos, necessita de pré-tratamentos que incluam a redução da cristalinidade e do grau de polimerização da celulose, o aumento da porosidade e, em simultâneo, a minimização do consumo de energia e da formação de produtos inibitórios (Rastogi & Shrivastava, 2017).

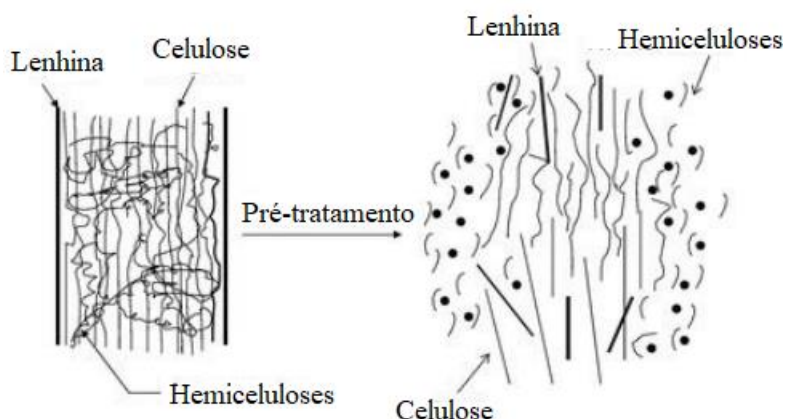


Figura 2.6 - Efeito do pré-tratamento na biomassa lenhocelulósica (adaptado de Pensri *et al.*, 2016)

Os métodos de pré-tratamento mais comuns podem ser classificados em físicos, físico-químicos, químicos e biológicos, conforme apresentado na Tabela 2.2 (H. Chen *et al.*, 2017).

Tabela 2. 2 – Diferentes tipos de pré-tratamento da biomassa lenhocelulósica (H. Chen *et al.*, 2017).

Métodos de pré-tratamento	Vantagens	Desvantagens	
Físicos	Fragmentação da biomassa	Reduz o tamanho das partículas e a cristalinidade da celulose	Não remove lenhina e hemiceluloses, elevado consumo de energia
	Micro-ondas	Funcionamento simples, eficiente em termos energéticos	Custo elevado
	Ultrassons	Melhora a acessibilidade e a reatividade da celulose	Nefasto para a hidrólise enzimática
	Radiação electrónica de alta energia	Reduz o grau de polimerização da celulose	Custo elevado
	Pirólise	Decompõe a celulose rapidamente	Elevado consumo de energia, baixa produtividade
Químicos	Ácido concentrado	Alta conversão de açúcares	Elevada corrosividade e toxicidade, custo elevado
	Ácido diluído	Rápido e não requer reciclagem de ácido	temperatura e pressão elevadas, formação de inibidores
	Pré-tratamento alcalino	Temperatura ambiente	Menor degradação de açúcares; destruição da lenhina
	Oxidação	Remove lenhina eficientemente	Custo elevado
	Organosolv	Obtenção de lenhina pura, celulosos e hemicelulosos	Custo elevado, impactes ambientais
	Líquidos iónicos/solventes eutéticos	Larga amplitude de temperaturas; Lenhinas de elevada pureza	Custo elevado a moderado
Físico-químicos	Explosão a vapor	Transformações na lenhina, solubilização de hemicelulosos e eficaz em termos de custo	Transformações na lenhina; temperatura e pressão elevadas
	Explosão de fibra de amónia (APEX)	Aumento da área de superfície da celulose, ausência de inibidores	Custo elevado, pouco eficiente para materiais com elevados teores de lenhina
	Catalise eléctrica	Não produz compostos de inibição, eficaz em termos de custo, aumenta área de superfície, remove lenhina efetivamente	Baixas eficiências
Biológicos	-	Baixo consumo de energia	Degrada lenhina e hemicelulosos; baixa taxa de hidrólise

Os métodos físicos apresentam como grande vantagem o facto de causarem menor poluição ambiental e serem processos relativamente simples. No entanto, requerem elevadas quantidades de energia e de potência, o que resulta num aumento de custos, e, embora alguns deles sejam imprescindíveis, não são suficientes para os materiais

lenhocelulósicos mais incrustantes. Neste tipo de materiais, o primeiro passo obrigatório é redução de tamanho (Chen *et al.*, 2017).

Os tratamentos químicos, tal como o nome indica, utilizam produtos químicos como ácidos, bases, solventes orgânicos, líquidos iônicos ou solventes eutéticos.

Os ácidos mais frequentemente utilizados são o ácido sulfúrico, ácido acético, ácido fosfórico (Rezania *et al.*, 2020). Existem dois tipos de tratamentos ácidos: ácido diluído (0.1%) a temperatura elevada (>200°C) e ácido concentrado (30-70%) a temperaturas relativamente mais baixas (<50°C) (Den *et al.*, 2018). Os reatores necessitam de apresentar resistência aos ácidos corrosivos, perigosos e tóxicos, o que torna o pré-tratamento ácido muito caro (Aftab *et al.*, 2019). Para a produção de açúcares em processos fermentativos, estes tratamentos, que hidrolisam os polissacarídeos, geram também espécies inibidoras como os furfurais, aldeídos, 5-hidroximetilfurfural, e ácidos fenólicos (Rezania *et al.*, 2020).

No tratamento alcalino usa-se, principalmente, NaOH, KOH, Ca(OH)₂, ou amónia que levam à degradação e solubilização da lenhina (Mirmohamadsadeghi *et al.*, 2016). O tratamento alcalino com NaOH (coadjuvado com Na₂S) é amplamente usado na indústria da pasta e papel, em que o objetivo principal é preservar a celulose (Kim *et al.*, 2016).

O uso de solventes orgânicos a temperaturas elevadas (100–250°C) deu origem à designação do tratamento “*organosolv*”. Os solventes mais comuns são etanol, metanol, acetona, ácidos orgânicos (tais como fórmico e ácido acético) e álcoois de alto ponto de ebulição (Den *et al.*, 2018). Este processo de pré-tratamento permite obter lenhina com elevada pureza e com poucas alterações estruturais, podendo ser utilizada como subproduto de alto valor acrescentado (Chen *et al.*, 2017). No entanto, a eficiência da extração da lenhina é baixa quando se tratam materiais lenhocelulósicos sendo necessários processos catalíticos para se obterem elevados graus de deslenhificação. (Nitsos *et al.*, 2018)

Os tratamentos físico-químicos incluem métodos que combinam alterações físicas e reações químicas durante o processamento. Geralmente, a biomassa lenhocelulósica é tratada a elevada temperatura e/ou sob pressão com um composto inorgânico que leva à rutura da sua estrutura recalcitrante. Como resultado, os componentes básicos da biomassa são fracionados, o que facilita o seu processamento posterior (Jędrzejczyk *et al.*, 2019). A explosão a vapor é um dos métodos mais utilizados em biomassa lenhocelulósica, fazendo uso de vapor saturado de alta pressão (160 a 240°C; 7 a 48 bar).

A rápida redução de pressão causa a descompressão explosiva aumentando a acessibilidade da celulose (Agbor *et al.*, 2011; Jędrzejczyk *et al.*, 2019). A adição de amónia permite a utilização de condições mais moderadas (60 a 170 °C; 15-30 bar e tempo mais curtos, 5-60 min), designando-se esse método por explosão de fibra com amónia (AFEX) (Mankar *et al.*, 2021).

Os tratamentos biológicos, em geral, são mais dirigidos para a produção de açúcares e subsequentes processos fermentativos, pelo que não serão descritos nesta dissertação.

De forma a ultrapassar algumas das desvantagens dos métodos anteriores, nesta dissertação utilizaram-se líquidos iónicos e solventes eutéicos para solubilizar e recuperar posteriormente a lenhina com a maior eficiência e pureza possível, pelo que este tipo de pré-tratamentos será desenvolvido nas próximas secções.

2.3 Tratamento da biomassa lenhocelulósica recorrendo a líquidos iónicos

Os líquidos iónicos (ILs) são sais orgânicos que permanecem no estado líquido abaixo dos 100°C. O termo "líquido iónico" é muito amplo, e múltiplas estruturas podem ser convertidas em forma de ILs introduzindo complexidade e diversidade à estrutura e propriedades dos ILs. De facto, os ILs consistem tanto em iões orgânicos e/ou inorgânicos e podem conter mais do que um catião ou anião (Shamshina *et al.*, 2018). As fortes forças eletrostáticas entre os iões nos ILs conferem baixa volatilidade/inflamabilidade e alta estabilidade química e electroquímica (MacFarlane *et al.*, 2014).

Os líquidos iónicos são geralmente classificados como “solventes verdes” graças à sua baixa pressão de vapor, o que reduz o risco de contaminação atmosférica e as preocupações com a saúde humana. Além disso, os ILs podem ter características distintas pois podem ser sintetizados por uma combinação de catiões e aniões devidamente selecionados. As principais desvantagens residem no facto de alguns catiões e aniões serem altamente tóxicos e de baixa biodegradabilidade. Outras desvantagens adicionais são o elevado custo e os complexos processos de purificação que lhes estão associados (Huang *et al.*, 2019).

Quando os catiões dos IL são orgânicos, por exemplo, o imidazólio, piridínio, amónio alifático, fosfónio alquilado e iões de sulfónio, podem ser utilizados como aniões tanto os iões inorgânicos como os orgânicos (Yoo *et al.*, 2017). Na Figura 2.7 apresentam-se alguns catiões e aniões típicos nos ILs.

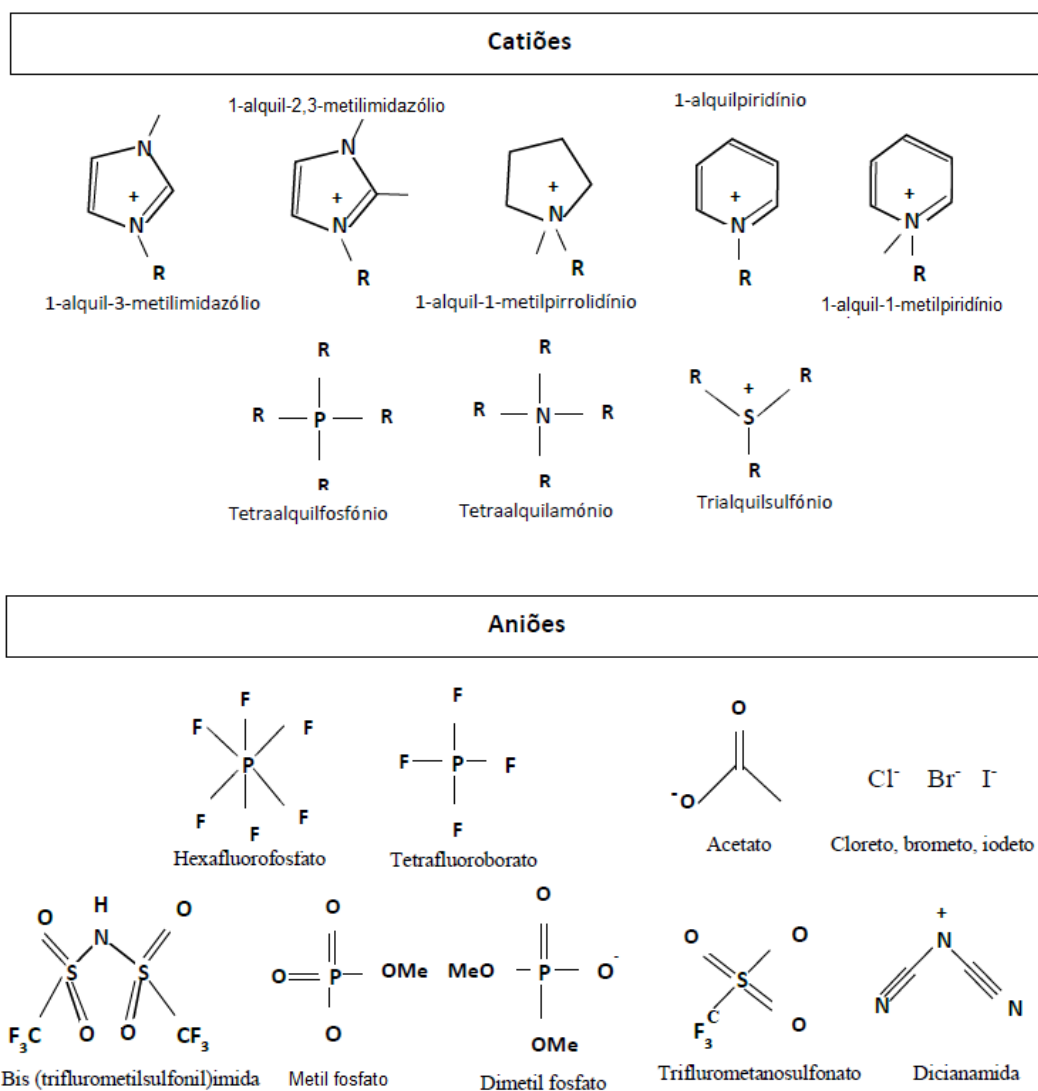


Figura 2.7 - Exemplos de catiões e aniões típicos em ILs (adaptado de Yoo *et al.*, 2017)

Os IL têm sido utilizadas numa variedade de aplicações, incluindo a biocatálise e o pré-tratamento de biomassa lenhocelulósica, bem como na sua conversão e caracterização. Os ILs podem efetivamente dissolver as paredes das células vegetais e/ou remover seletivamente alguns dos seus componentes (nomeadamente celulose, hemiceluloses e lignina) em condições de reação suaves, para caracterização ou posterior conversão em muitas aplicações (Yoo *et al.*, 2017).

Existem fundamentalmente duas abordagens diferentes para o tratamento de biomassa lenhocelulósica recorrendo a líquidos iónicos. A primeira abordagem é a dissolução simultânea e não seletiva da celulose, hemiceluloses e lenhina. A segunda abordagem consiste numa dissolução seletiva parcial da lenhina (e hemiceluloses), permanecendo a celulose intacta sem ser dissolvida (Q. Hou *et al.*, 2017). Para a utilização bem-sucedida da biomassa, a dissolução parcial ou total da biomassa é um passo

importante. No entanto, a dissolução da biomassa não é fácil devido à sua rigidez e estrutura complexa. Os ILs foram introduzidos como um meio eficaz para a modificação química e/ou dissolução da biomassa e seus componentes (Yoo *et al.*, 2017).

2.3.1 Dissolução da biomassa lenhocelulósica em líquidos iónicos

A celulose pode ser dissolvida em solventes, através da disrupção das ligações de hidrogénio inter e intra-moleculares (Bhaumik & Dhepe, 2016), tal como demonstrado na Figura 2.8. Os líquidos iónicos são ainda bastante efetivos na diminuição da cristalinidade da celulose e na clivagem das ligações entre a lenhina e as hemiceluloses.

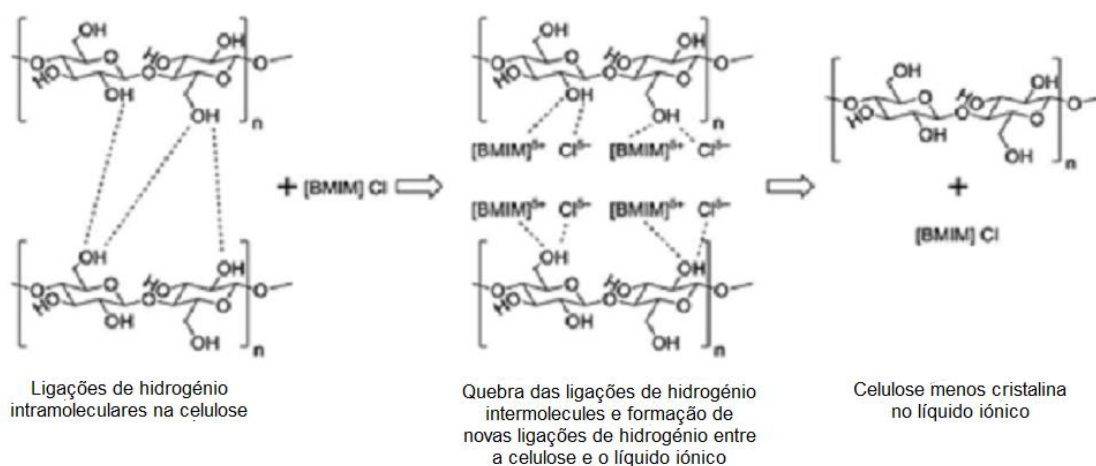


Figura 2.8 - Mecanismos de ação dos líquidos iónicos (adaptado de Bhaumik & Dhepe, 2016)

O mecanismo de dissolução da lenhina ainda não se encontra bem definido, mas a hipótese comumente aceite é a interação não covalente e formação de pontes de hidrogénio entre a lenhina e os solventes. A solubilidade da lenhina nos ILs depende dos seus iões, uma vez que estes determinam as suas propriedades. Os catiões mais utilizados para a solubilização da lenhina são imidazólio, piridínio, pirrolidínio, amónio, fosfónio e colínio (Radhakrishnan *et al.*, 2021).

Pu *et al.* (Pu *et al.*, 2007) testaram em 2007 a solubilidade lenhina kraft proveniente de *softwood* em líquidos iónicos, os seus resultados podem ser consultados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Solubilidade de lenhina Kraft em Líquidos Iônicos (Pu *et al.*, 2007)

Líquido iônico	Temperatura (°C)	Solubilidade (g/L)
[MMIM][MeSO ₄]	50	344
	25	74.2
[HMIM][CF ₃ SO ₃]	70	275
	50	<10
[BMIM][MeSO ₄]	50	312
	25	61.8
[BMIM]Cl	75	13.9
[BMIM]Br	75	17.5
[BMIM][PF ₆]	70-120	Insolúvel

[MMIM][MeSO₄] = metilsulfato de 3-dimetilimidazóliometilsulfato; [BMIM]MeSO₄ = Metilsulfato de 1-butil-3-metilimidazólio; [BMIM][CF₃SO₃] = Trifluorometanosulfato de 1-hexil-3-metilimidazólio.

Pu *et al.* observaram que a lenhina não se conseguia dissolver em [HMIM][CF₃SO₃] à temperatura ambiente. Com o aumento da temperatura, a lenhina dissolveu-se rapidamente em [MMIM][MeSO₄], [HMIM][CF₃SO₃] e [BMIM][MeSO₄] produzindo misturas mais viscosas devido à existência reações de condensação entre o IL e a lenhina. A maior solubilidade da lenhina foi obtida usando [MMIM][MeSO₄] e [BMIM][MeSO₄], à temperatura de 50°C. Para os ILs [BMIM], a ordem de solubilidade da lenhina tendo em conta os aniões foi: MeSO₄⁻ > Br⁻ > Cl⁻ >> PF₆⁻, o que indica que a solubilidade da lenhina é diretamente influenciada pela natureza dos aniões (Pu *et al.*, 2007).

Devido à solubilidade efetiva da biomassa nos IL, os IL têm sido amplamente utilizados para pré-tratamento de biomassa e subsequente fracionamento da lenhina (Zhu *et al.*, 2018). Na Tabela 2.4 são apresentados alguns valores de deslenhificação obtidos através de tratamentos com diferentes tipos de líquidos iônicos.

Tabela 2.4 - Percentagem de remoção de lenhina para diferentes tipos de líquidos iônicos

Líquido iónico	Matéria-prima	Condições	Remoção de lenhina (%)	Referencia
[EMIM][OAc]	Plátano	130°C, 1,5h	52	(Lee <i>et al.</i> , 2009)
[EMIM][OAc]	Carvalho	100°C, 16h	35	(Sun <i>et al.</i> , 2009)
[BMIM][MeSO ₄] (20% água)	<i>Miscanthus</i>	120°C, 2h	27	(Brandt <i>et al.</i> , 2011)
[BMIM][MeSO ₄] (20% água)	<i>Miscanthus</i>	120°C, 22h	93	(Brandt <i>et al.</i> , 2011)
[BMIM][HSO ₄] (20% água)	Pine	120°C, 22h	65	(Brandt <i>et al.</i> , 2011)
[BMIM][MeSO ₄] (20% água)	Acácia	140°C, 24h	92,4	(Almeida <i>et al.</i> , 2022)

Pelos resultados representados na Tabela 2.4, é possível perceber que o [BMIM][MeSO₄] apresenta os melhores resultados no que respeita à deslenhificação, incluindo para o caso da matéria prima de acácia que vai ser utilizada neste trabalho (Almeida *et al.*, 2022).

A grande desvantagem deste tipo de métodos reside na necessidade de serem necessárias condições de tratamento severas para se obter elevados graus de deslenhificação, o que causa muitas vezes um aumento da condensação da lenhina. Dependendo do método de tratamento, com o aumento da severidade das condições, tem sido verificado uma diminuição no número de ligações β -O-4, o que complica a posterior valorização deste recurso (Espinoza-Acosta *et al.*, 2014).

2.4 Tratamento da biomassa lenhocelulósica recorrendo a solventes eutéticos

De acordo com os princípios da química verde, a utilização de solventes ecológicos é um critério vital para definir a renovabilidade global de um processo (Wang *et al.*, 2012). Os solventes convencionais atualmente utilizados nas indústrias são tóxicos e representam uma séria ameaça para o ambiente. Consequentemente, a procura do desenvolvimento de solventes verdes alternativos aumentou. A este respeito, os solventes de baixo ponto eutético (DES – *deep eutectic solvents*) têm-se revelado uma real alternativa nas últimas duas décadas (Mankar *et al.*, 2021).

Quando comparados com outros solventes convencionais e líquidos iónicos, os DES são solventes económicos, não tóxicos, e biodegradáveis. Além disso, a síntese de DES é em geral simples e não envolve etapas complexas de purificação. Uma das maiores vantagens dos solventes eutéticos é a possibilidade de adequar as propriedades do solvente às impostas pelo utilizador, bem como as características físico-químicas semelhantes aos ILs (Chen & Mu, 2019).

Os DES são uma mistura de dois componentes: um dador de ligação de hidrogénio (HBD – *hydrogen-bond donor*) e um aceitador de ligação de hidrogénio (HBA *hydrogen-bond acceptor*), sendo que o ponto de fusão dos DES é muito mais baixo do que os seus componentes (HBD e HBA), devido à forte interação hidrogénio-ligação entre HBD e HBA. São normalmente obtidos pela complexação de um sal de amónio quaternário com um dador de ligação de hidrogénio (HBD) (Smith *et al.*, 2014). Na Figura 2.9 encontram-se demonstrados alguns exemplos de HBAs e de HBDs utilizados na formação de DES.

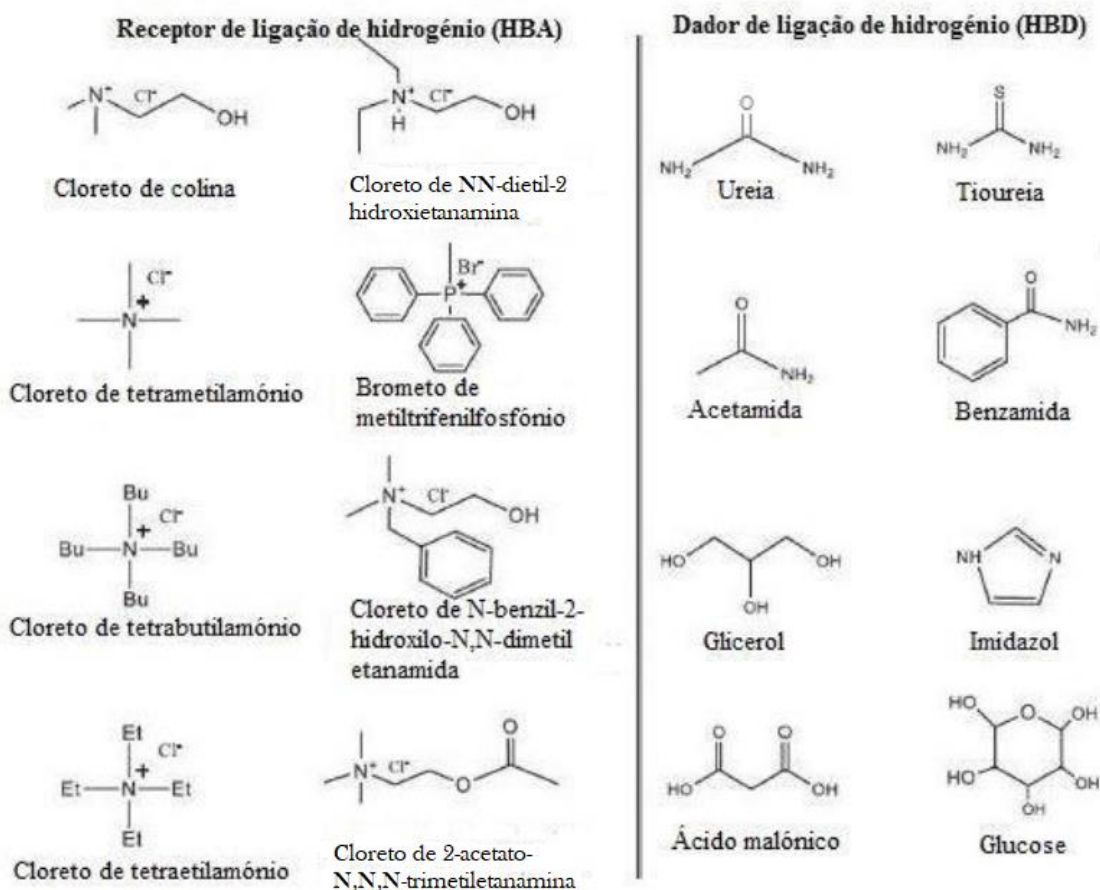


Figura 2.9 - Aceitadores e dadores de ligações hidrogénio em solventes eutéticos (adaptado de Tomé *et al.*, 2018).

2.4.1 Tipos de solventes eutéticos

Os solventes de baixo ponto eutético podem ser descritos pela fórmula geral Cat^+X^-zY , onde Cat^+ é em princípio qualquer catião amónio, fosfónio, ou sulfónio, e X^- é uma base de Lewis, geralmente um anião haleto. As espécies aniónicas complexas são formadas entre X^- e um ácido Y de Lewis ou de Brønsted (z refere-se ao número de moléculas Y que interagem com o anião). A maioria dos estudos tem-se concentrado em catiões quaternários de amónio e imidazol com particular ênfase a sistemas mais práticos utilizando cloreto de colina (Smith *et al.*, 2014).

O número de combinações possíveis de HBA e HBD que são capazes de formar misturas eutéticas é extremamente elevado, e muitos têm sido desenvolvidos ultimamente. A fim de racionalizar as propriedades e o seu comportamento, classificou-se estes solventes em quatro tipos diferentes (Tabela 2.5): Tipo I (sal quaternário e halogeneto metálico), Tipo II (sal quaternário e halogeneto metálico hidratado), Tipo III

(dador de sal quaternário e dador de ligação de hidrogénio), Tipo IV (dador de halogeneto metálico e dador de ligação de hidrogénio) e Tipo V (Grupo fenólico + Grupo hidroxilo alifático). (Tomé *et al.*, 2018; Abranches *et al.*, 2019).

Tabela 2.5 - Diferentes tipos de solventes eutéticos (Kudlak *et al.*, 2015; Abranches *et al.*, 2019))

Tipo	Componentes	Fórmula Geral	Exemplo
I	Metal + Sal orgânico	$Cat^+ X^- zMCl_x;$ M = Zn, Sn, Fe, Al, Ga, In	ZnCl ₂ + ChCl
II	Hidrato de sal metálico + sal orgânico	$Cat^+ X^- zMCl_x.yH_2O;$ M= Cr, Co, Cu, Ni, Fe	CoCl ₂ .6H ₂ O + ChCl
III	HBD + sal orgânico	$Cat^+ X^- zRZ;$ Z=CONH ₂ , COOH, OH	Ureia + ChCl
IV	Zinco / Cloreto de alumínio + HBD	$MCl_x + RZ=MCl_{x-1}^+. RZ + MCl_{x+1}^-;$ M=Al, Zn&Z=CONH ₂ , OH	ZnCl ₂ + ureia
V	Grupo fenólico + Grupo hidroxilo alifático	-	Timol + Mentol

Os DES de Tipo I têm aplicação limitada em processamento de biomassa devido aos elevados pontos de fusão dos halogenetos metálicos não hidratados, enquanto os DES de Tipo II são mais viáveis para processos industriais devido aos custos relativamente mais baixos dos halogenetos metálicos hidratados. No entanto, os DES de Tipo III são os mais estudados devido à sua preparação rápida e fácil, não reatividade com água, natureza biodegradável e relação custo-eficiência. Os DES de tipo IV incorporam a utilização de metais de transição inorgânicos com ureia para formar misturas eutéticas, ainda que os sais metálicos, normalmente não ionizam em meios não aquosos (Loow *et al.*, 2017). Por fim, os DES de tipo V são compostos somente por moléculas não iónicas e são normalmente hidrofóbicos. Neste tipo é difícil de diferenciar entre os HBAs e HBDs. Uma anormalmente forte interação resultante da diferença de acidez dos grupos fenólicos e hidróxido alifáticos (OH) foram considerados a chave para a preparação de DES do tipo V (Abranches *et al.*, 2019).

A maioria dos DES utilizados são de Tipo III. Nestes, a formação do DES deve-se a fortes interações entre um aceitador de ligação de hidrogénio (HBA) e um dador de ligações de hidrogénio (HBD). Um dos mais prevalentes Cat^+-X^- é o cloreto de colina (ChCl) também conhecido como Vitamina B4. Exemplos comuns da HBD de Tipo III

são a ureia, etilenoglicol e glicerol, que dão origem a DES com os nomes comuns de relina, etalina e glicelina (Brett, 2018).

2.4.2 Ponto de fusão dos DES

Uma das propriedades distintas e essenciais dos DESs é o ponto de fusão mais baixo em comparação com os seus componentes constituintes. A acentuada diminuição do ponto de fusão de DES é devido à deslocalização de carga como um resultado da ligação de hidrogénio entre o HBD e o ião haleto (Loow *et al.*, 2017). Este comportamento foi observado pela primeira vez por Abbott *et al.*, 2004 na combinação de cloreto de colina em pó (ponto de fusão, $T_f \approx 302$ °C) com ureia cristalina ($T_f \approx 133$ °C), na fração molar de 1:2, que resultou num líquido à temperatura ambiente com um ponto de fusão da mistura de composição eutética, de cerca de 12 °C (Hansen *et al.*, 2020). A diminuição significativa do ponto de fusão provém da interação entre o anião haleto e o dador da ligação de hidrogénio, aqui ureia (Zhang, De Oliveira Vigier, *et al.*, 2012). Na Tabela 2.6 encontram-se os pontos de fusão de vários DESs, listados na literatura.

Tabela 2.6 - Temperatura de fusão de vários tipos de DES

HBA	HBD	Razão molar (HBA/HBD)	Tf (°C)	Referência
ChCl	Ácido oxálico	1:1	34	(Abbott <i>et al.</i> , 2004)
	Ácido málico	1:1	10	
	Ácido succínico	1:1	71	
	Ácido cítrico	2:1	69	
	Ácido benzoico	1:1	95	
ChCl	Imidazol	3:7	56	(Ren <i>et al.</i> , 2016)
ChCl	Ureia	1:2	12	(Ren <i>et al.</i> , 2016)
		1:1	>50	
ChCl	Frutose	1:1	20	(Hayyan <i>et al.</i> , 2012)
		1,5:1	13	
		2:1	10	
		2,5:1	37	

ChCl corresponde a cloreto de colina

Embora para todos os DES relatados na Tabela 2.6, o ponto de fusão seja inferior a 100°C, deve ser assinalado que o número de DES que são líquidos à temperatura ambiente ainda é bastante limitado. De entre estes pode-se citar a combinação de ureia com ChCl, presumivelmente devido à sua capacidade mais forte de formar interações de ligação de hidrogénio com ChCl. Significa que, dependendo do sal haleto, a escolha de HBDs é um fator crítico ponto na formação de um DES com um ponto de fusão baixo (De Oliveira Vigier & Jérôme, 2020). Por exemplo, com ChCl como sal, HBDs como ácidos carboxílicos (ácido levulínico, ácido malónico, ácido fenilpropiónico, etc.) ou polióis derivados do açúcar (por exemplo xilitol, d-isosorbido, e d-sorbitol) originam DESs líquidos à temperatura ambiente. Da mesma forma, para um HBD, a natureza dos sais de haleto (por exemplo, sais de amónio ou de fosfónio) também afeta os pontos de fusão dos DES correspondentes. Por exemplo, quando a ureia é selecionada como HBD e misturada com diferentes sais numa proporção molar de 2:1 (ureia:sal), os DES obtidos exibem pontos de fusão muito diferentes que podem variar entre -38 a 113°C. Para um sal semelhante, a natureza do anião é também importante para a ponto de fusão dos DES. O ponto de fusão de um DES derivado do cloreto de colina em combinação com a ureia decresce na ordem $F^- > NO_3^- > Cl^- > BF_4^-$. Outro parâmetro que pode afetar o ponto de fusão dos DES é a razão molar sal/HBD. (De Oliveira Vigier & Jérôme, 2020). Um exemplo que comprova esta afirmação são os diferentes pontos de fusão que a mistura de ureia com ChCl demonstra nas proporções de 1:1 e 1:2, respetivamente (12°C e >50°C).

2.4.3 Preparação dos solventes eutéticos

A síntese de DES pode ser feita por diferentes vias: i) aquecimento de uma mistura de dois componentes com agitação constante, formando-se uma solução líquida; ii) dissolução dos componentes em água e posterior evaporação, mantendo a mistura num exsiccador até ser atingido um peso constante (Loow *et al.*, 2017).

A primeira metodologia é a mais comum e consiste em fundir o componente com o ponto de fusão mais baixo e adicionar depois o segundo componente em estado sólido. A mistura é depois agitada a uma temperatura elevada até formar um líquido (Francisco *et al.*, 2013). Na Tabela 2.7 encontra-se resumida a forma de preparação de alguns solventes eutéticos.

Tabela 2.7 - Modo de preparação de alguns tipos de DES

HBA	HBD	Razão molar (HBA/HBD)	Modo de preparação	Referência
ChCl	Ácido oxálico	1:1	Mistura simultânea a 100°C, sob agitação	(Abbott <i>et al.</i> , 2004)
	Ácido málico	1:1		
	Ácido succínico	1:1		
	Ácido cítrico	2:1		
	Ácido benzoico	1:1		
ChCl	Imidazol	3:7	Mistura simultânea a 100°C	(Ren <i>et al.</i> , 2016)
ChCl	Ureia	1:2	Mistura simultânea a 80°C, sob agitação	(Ren <i>et al.</i> , 2016)
		1:1		
ChCl	Frutose	1:1	Mistura simultânea a 80°C com agitação	(Hayyan <i>et al.</i> , 2012)
		1.5:1		
		2:1		
		2.5:1		

2.4.4 Solubilização da biomassa usando solventes eutéticos

As propriedades únicas dos DES como a elevada polaridade, miscibilidade com a água e outros co-solventes, etc., também têm encorajado a sua utilização para a deslenhificação eficiente de diferentes fontes de biomassa. Os DES têm a capacidade de remover seletivamente a lenhina do complexo lenhocelulósico, demonstrando-se assim como uma via válida e ecológica para o tratamento de biomassa lenhocelulósica em condições de reação suaves (Mankar *et al.*, 2021). Na Tabela 2.8 encontram-se reportados alguns exemplos de resultados relativos à solubilidade da lenhina e celulose em solventes eutéticos.

Tabela 2.8 - Solubilidade da lenhina e celulose em solventes eutécticos

HBA	HBD	Razão molar (HBD/HBA)	Temperatura (°C)	Tempo de reação (h)	Lenhina (wt.%)	Celulose (wt.%)	Referência
ChCl	Ácido láctico	10:1	60°C	24h	13	<3	Lynam <i>et al.</i> , 2017
		2:1	60°C	24h	5.3	0	Francisco <i>et al.</i> , 2012
		5:1	60°C	24h	7.7	0	Francisco <i>et al.</i> , 2012
ChCl	Ácido acético	2:1	60°C	-	12	<1	Lynam <i>et al.</i> , 2017
ChCl	Ácido málico	1:1	60°C	24h	3.4	0	Francisco <i>et al.</i> , 2012
ChCl	Ureia	2:1	110°C	12h	-	<0.2	Zhang <i>et al.</i> , 2012
ChCl	ZnCl ₂	2:1	110°C	12h	-	<0.2	Zhang <i>et al.</i> , 2012
ChCl	Ácido Oxálico	1:1	60°C	24h	3.62	0.00	Francisco <i>et al.</i> , 2012
ChCl	Imidazol	7:3	110°C	1.5	-	2.48	Ren <i>et al.</i> , 2012

Francisco *et al.* (2012) foram os primeiros a relatar a utilização de DESs para o pré-tratamento da biomassa. Os resultados sugeriram que os DES foram eficazes para a solubilização da lenhina, enquanto a solubilização para a celulose foi reportada como insignificante. Zhang *et al.* (2012) também relataram uma solubilidade insignificante (<0.2 wt%) de celulose em DES baseados em cloreto de colina (ChCl) em condições de 110°C durante 12 h. Lynam *et al.* (2017) também reportaram resultados semelhantes como se pode ver na Tabela 2.8, indicando que os DES são atrativos para a deslenhificação de biomassa lenhocelulósica.

A principal razão para a solubilização seletiva da lenhina em relação à celulose prende-se com a existência de uma forte rede de ligações de hidrogénio em ambos, a celulose e os DES. A intensa energia de coesão da celulose impede a dissociação e reorganização da ligação de hidrogénio que é necessária para dissolução da celulose em DES. Além disso, a presença de grupos hidroxilo no cloreto de colina leva à formação de uma forte rede de ligações de hidrogénio com a celulose estabilizando assim o sistema DES-celulose (Vigier *et al.*, 2015). Conforme reportado nos trabalhos apresentados na Tabela 2.8, a solubilização da celulose é insignificante.

O passo inicial para a valorização da lenhina é a sua extração seletiva a partir de biomassa. Pode-se ver na Tabela 2.9, a eficaz deslenhificação utilizando diferentes tipos de DESs que tem sido demonstrada por diferentes estudos. A maioria dos DES utilizados para tratamentos de biomassa têm cloreto de colina (ChCl) como HBA, enquanto as HBDs são mais diversificadas, sendo os ácidos carboxílicos e polióis os mais usados (Chen *et al.*, 2020).

Tabela 2.9 – Percentagens de deslenhificação utilizando diversos solventes eutéticos

Biomassa	DES (HBA:HBD)	Razão molar (HBA:HBD)	Condições de reação	S/L	Remoção de lenhina (%)	Referência
Espiga de milho	ChCl:Ácido Lático	1:2 1:15	90°C, 24h 90°C, 24h	1/20	64.7 93.1	(Zhang <i>et al.</i> , 2016)
Espiga de milho	ChCl:Ácido Oxálico	1:1	90°C, 24h	1/20	98.5	(Zhang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	ChCl:Ácido Lático	1:10	110°C, 6h	1/30	80	(Shen <i>et al.</i> , 2019)
Palha de arroz	ChCl:Ácido Lático	1:2	120°C, 1h	1/20	75.9	(Hou <i>et al.</i> , 2018)
Espiga de milho	ChCl: Etilenoglicol	1:2	90°C, 24h	1/20	87.6	(Zhang <i>et al.</i> , 2016)
Espiga de milho	ChCl: Glicerol	1:2	150°C, 15h	1/20	59.0	(Procentese <i>et al.</i> , 2015)
Espiga de milho	ChCl:Imidazol	3:7	115°C, 15h	1/16	76.7	(Procentese <i>et al.</i> , 2015)
Espiga de milho	ChCl:Ureia	1:2	80°C, 15h	1/20	27.1	(Procentese <i>et al.</i> , 2015)
Palha de trigo	ChCl: Monoetanolamina	1:6	90°C, 12h	1/20	81.0	(Zhao <i>et al.</i> , 2018)
Palha de trigo	ChCl: Dietanolamina	1:8	90°C, 12h	1/20	73.5	(Zhao <i>et al.</i> , 2018)
Acácia	ChCl:Imidazol	3:7	180°C, 24h	1/10	90.2	(Almeida <i>et al.</i> , 2022)

S/L – relação sólido/líquido

Numerosos ácidos carboxílicos derivados de biomassa, tais como ácido fórmico, ácido lático e ácido oxálico, têm sido utilizados como HBD na síntese de DES. Dependendo dos tipos de ácidos carboxílicos e condições de tratamento, a eficiência de deslenhificação dos DES varia. A remoção mais extensa de lenhina (98,5%) foi relatada num trabalho onde foi usada espiga de milho como matéria-prima e cloreto de colina +

ácido oxálico como solvente de baixo ponto eutético (Zhang *et al.*, 2016). O cloreto de colina com ácido láctico também demonstrou bom desempenho na remoção da lenhina (93,1 %) (Zhang *et al.*, 2016). A razão molar de ChCl e ácido carboxílico também afeta a eficiência da extração da lenhina. Por exemplo, aumentando a relação molar de ácido láctico para ChCl de 2 para 15, a deslenhificação aumentou de 64,7% para 93,1% (Zhang *et al.*, 2016). Esse aumento na deslenhificação pode ser atribuído a prótons ativos doados pelo ácido láctico que facilitaram a clivagem de várias ligações na biomassa (p.e ligações éteres na lenhina, ligações glicosídicas nos polissacarídeos) (Chen *et al.*, 2020).

Polióis (por exemplo, glicerol, etilenoglicol, propilenoglicol) são outra categoria importante de HBD para DES. Entre esta família de DES, a combinação ChCl:glicerol é a mais popular, uma vez que o glicerol é um subproduto de baixo custo gerado na indústria do biodiesel. O DES ChCl:glicerol é promissor para a deslenhificação (60-90 %), como relatado por vários estudos. No entanto, requer frequentemente condições severas. Por exemplo, para remover 59 % de lenhina da espiga de milho, o tratamento tem de ser conduzido a 150 °C durante 15 h (Procentese *et al.*, 2015). Estas condições severas limitam a viabilidade do ChCl:Glicerol apesar das suas vantagens. Para melhorar a eficiência, pode ser adicionado ao tratamento uma pequena quantidade de H₂SO₄ que funciona como catalisador (Chen *et al.*, 2018).

Ureia, imidazol e aminas foram também explorados como HBD para síntese de DES. Uma característica comum destes DES é a sua basicidade, que facilita a dissolução seletiva da lenhina a partir da biomassa devido, em parte, à desprotonificação dos grupos hidroxilo fenólicos na lenhina (Chen *et al.*, 2020). Palha de trigo tratada com ChCl:monoetanolamina (ChCl:ME) e ChCl:dietanolamina (ChCl:DE) a 90 °C durante 12 h levou à obtenção de rendimentos de 81 e 73,5 % de remoção de lenhina, respetivamente (Zhao *et al.*, 2018). O solvente ChCl:imidazol produziu uma eficiência de deslenhificação semelhante quando foi utilizado para tratamento de espigas de milho a 115 °C durante 15 h (Procentese *et al.*, 2015). A basicidade deste tipo de HBD é um dos principais factores que causam desempenhos tão diferentes. Apesar do potencial dos DES básicos para a extração de lenhina, o maior inconveniente com tipo de DES é a elevada severidade do tratamento (Zhao *et al.*, 2018).

DES que incluem ChCl como HBA e açúcares como HBDs também têm sido testados. Sacarose e respetivos monómeros (glicose e frutose), têm sido testados (Florindo *et al.*, 2017). Independente do tipo de açúcar utilizado como HBD, esta categoria de DES tem baixa capacidade de solubilizar a lenhina a partir de biomassa (Florindo *et al.*, 2017).

2.4.5 Precipitação da lenhina e propriedades

A lenhina removida e solubilizada pelos DES é geralmente recuperada ou regenerada por precipitação e purificação através da adição de antisolventes. A pureza da lenhina de DES é normalmente calculada com base no clássico método de Klason. A pureza da lenhina fracionada por DESs é superior à produzida por métodos convencionais, sendo normalmente da ordem de 80-98% (Tabela 2.10), o que é vantajoso para a sua posterior valorização. As impurezas da lenhina são normalmente resíduos do DES e resíduos de polissacarídeos. Uma vez que os DES têm uma elevada seletividade para com a lenhina, a pureza da lenhina é muito pouco influenciada pela configuração do DES (Zhou *et al.*, 2022).

Tabela 2.10 – Principais solventes usados na precipitação, purezas e características da lenhina obtida

DES e Biomassa	Condições de reação	Solvente de precipitação	Solvente de purificação	Pureza da lenhina obtida (%)	Mw e DPI	Principais características	Referência
ChCl:Ácido láctico (1:2) Óleo de palma	120°C, 8 h, S/L = 1/10	Água destilada + etanol (1:2 v/v)	Água destilada	79	-	-	Liu <i>et al.</i> , 2019
ChCl:Ácido láctico (1:2) Sorgo	145°C, 6 h, S/L = 1/10	Água destilada + etanol (1:2, v/v)	Água destilada + etanol (9:1, v/v)	>97%	3037.1, 2.73	Estrutura condensada, inexistência de ligações β -O-4', Ligações β - β' , presença de cetona de Hibbert	Alvarez-Vasco <i>et al.</i> , 2016
ChCl:Ácido láctico (1:2) Choupo	130°C, 1.5h, S/L = 1/10	Água destilada	Água destilada + etanol (9:1, v/v)	98	3929, 1.77	Baixo teor de β - éteres arílicos sem recondensação, abundância de grupos fenólicos OH	Su <i>et al.</i> , 2021
ChCl:Ácido láctico (1:2) Choupo	100°C, 3h, S/L = 1/50	Água destilada	Sem purificação	93	-	Baixo número de ligações β -O-4, alto conteúdo de grupos fenólicos OH, nenhum grupo de fenilcumarina, presença da cetona de Hibbert	Chen <i>et al.</i> , 2019
ChCl:Ácido láctico (1:2) Semente de mamona	160°C, 8h S/L = 1/10	Solução aquosa de HCL (pH=2)	Água destilada + etanol (9:1, v/v)	91	3420, 1.8	Unidade principal de benzodioxano, unidade resinol, sem álcool cinâmico	Wang <i>et al.</i> , 2020
ChCl:Ácido oxálico (1:2) Semente de mamona	160°C, 8h S/L = 1/10	Solução aquosa de HCL (pH=2)	Água destilada + etanol (9:1, v/v)	88	2440, 1.4	-	Wang <i>et al.</i> , 2020
ChCl:Etilenoglicol (1:2) Semente de mamona	160°C, 8h S/L = 1/10	Solução aquosa de HCL (pH=2)	Água destilada + etanol (9:1, v/v)	86	2330, 1.4	Relativa preservação das ligações β -O-4: 40.3%	Wang <i>et al.</i> , 2020
ChCl:Glicerol(1:2) Semente de mamona	160°C, 8h S/L = 1/10	Solução aquosa de HCL (pH=2)	Água destilada + etanol (9:1, v/v)	87	2510.1 1.5	Preservação de β -O-4 similares aos da lenhina nativa, adequados para a produção de monómeros	Wang <i>et al.</i> , 2020
TEBAC:Ácido láctico (1:9) Palha de trigo	100°C, 10h S/L = 1/15	Água destilada	Água destilada	76	-	Principalmente constituído por unidades S e G, sem ligações β -O-4, Cetona de Hibbert	Liu <i>et al.</i> , 2019
ChCl:Imidazol (3:7) Choupo	150°C, 15h S/L = 1/16	Água destilada	Água destilada + etanol (9:1, v/v)	94	2562 -	Ligações β -O-4 bem preservadas e amostras pouco condensadas	Li <i>et al.</i> , 2021

TEBAC – Cloreto de benziltriethylamônio

Como sumarizado na Tabela 2.10, os anti-solventes mais comuns são a água (neutra ou acidificada até pH=2), e misturas de etanol/água. Após a recuperação da lenhina, é normalmente adotado um processo de purificação para aumentar a pureza da lenhina. Alvarez-Vasco e os seus colegas de trabalho adotaram pela primeira vez uma mistura de água/etanol (relação volume 9:1) como um anti-solvente para a precipitação de lenhina (Alvarez-Vasco *et al.*, 2016). O uso de água destilada em ambas as etapas de precipitação e purificação tem também obtido resultados interessantes a nível de pureza.

Como se pode testemunhar na tabela, a pureza da lenhina é também afetada pelas condições da reação. Os pré-tratamentos geralmente envolvem reação a temperaturas entre 80 a 160°C com durações até 24h sendo que a pureza da lenhina aumenta com a severidade das condições de tratamento (Lyu *et al.*, 2018).

O peso molecular e a sua distribuição são também propriedades importantes da lenhina. O peso molecular da lenhina é proporcional ao número de ligações éter e inversamente proporcional ao grau de condensação. Três índices são utilizados para caracterizar o peso molecular e sua distribuição: massa molecular média em peso (Mw), massa molecular média em número (Mn) e polidispersidade ($Mw/Mn = PDI$). Os HBDs e HBAs influenciam grandemente o peso molecular da lenhina. O Mw da lenhina é notavelmente afetado pelos DES usados (S. Wang *et al.*, 2020). Para além do tipo de DES usado, o peso molecular da lenhina é também afetado pelas condições de operação, sendo visível uma descida do Mw com ao aumento da severidade das condições (Zhou *et al.*, 2022).

A abundância de ligações β -O-4 é outro facto chave para posterior valorização da lenhina. Os componentes do DES desempenham um papel fundamental na abundância de ligações β -O-4. Os DES baseados em ácido carboxílico (tais como ChCl:Ácido láctico) levam normalmente a uma clivagem completa das ligações β -O-4, enquanto que DES aquosos à base de poliálcoois como o ChCl:glicerol são capazes de preservar parcialmente as ligações β -O-4 (S. Wang *et al.*, 2020). É também sabido que as ligações β -O-4 são mais suscetíveis a quebrar com maiores quantidades de ChCl nos DES (Shen *et al.*, 2019).

2.4.6 Valorização da lenhina

A lenhina é um apelativo biopolímero renovável apelativo, que possui numerosas propriedades atrativas tais como elevado teor de carbono, estabilidade térmica,

biodegradabilidade, absorbância da radiação UV e atividades antioxidantes e antimicrobianas (Zhou *et al.*, 2022). A valorização da lenhina é essencial para aumentar a rentabilidade económica e ambiental do processo global de conversão de biomassa lenhocelulósica. Com o acumular de interesse no fracionamento da lenhina utilizando DES, a lenhina obtida a partir da utilização de DES exibe muitas propriedades desejáveis que necessitam de continuar a ser investigadas. Para alcançar o objetivo a longo prazo de desenvolver um processo rentável para despolimerização da lenhina através de DES, é importante explorar estratégias para valorizar a lenhina resultante da utilização destes solventes. Atualmente, a valorização de lenhina pode ser categorizada em dois grupos: funcionalização e despolimerização (Zhou *et al.*, 2022).

A funcionalização normalmente implica aumentar a reatividade dos grupos funcionais tais como OH, metoxilo, carbonilo, carboxilo ou grupos aromáticos através de hidroxialquilação, esterificação, alquilação, aminação e epoxidação. Tais modificações incluem a introdução de novos sítios ativos sobre a lenhina através da combinação de outros materiais, e a funcionalização do grupo hidroxilo para aumentar a sua reatividade. Através da funcionalização, a lenhina pode ser transformada em materiais macromoleculares ou poliméricos tais como nanopartículas, fibras de carbono, resinas fenólicas ou aerogéis (Torres *et al.*, 2020).

Como mencionado, o outro processo de valorização da lenhina é a despolimerização. A despolimerização da lenhina pode atualmente ser alcançada através da via biológica, da via termoquímica, e da via eletroquímica. A via biológica consiste, resumidamente na degradação da lenhina recorrendo a fungos, bactérias ou enzimas. A via termoquímica faz uso da estrutura aromática da lenhina para a preparação de produtos de elevado valor acrescentado ou químicos (Torres *et al.*, 2020). Por fim, na via eletroquímica, a lenhina pode ser despolimerizada em versáteis compostos aromáticos como vanilina ou acetovanilina (Zhou *et al.*, 2022).

3. Material e Metodologia Experimental

3.1 Matéria-prima – *Acacia dealbata*

A matéria-prima utilizada nesta dissertação foi *Acacia Dealbata* proveniente de Midões (Tábua). Os ramos da árvore foram reduzidos a aparas (Figura 3.1a), e depois reduzidos a serradura (Figura 3.1b), recorrendo a um moinho Retsch (Modelo 5657). Recorreu-se depois a peneiros de 0.25 mm e 0.84 mm para se obter fração desejada (0.25-0.84 mm) que foi depois tratada. A humidade da serradura era ~10% (determinada experimentalmente).



Figura 3.1 – Madeira de *Acacia dealbata* sob forma de a) aparas b) serradura

3.2 Produtos químicos

Encontram-se listados na Tabela 3.1 todos os produtos e reagentes químicos usados ao longo do trabalho quer na parte da dissolução da madeira de *Acacia dealbata*, quer em todos os testes realizados nas fases posteriores de quantificação e caracterização.

Tabela 3.1 – Reagentes utilizados no decorrer do trabalho experimental

Produto químico	Pureza	Marca	Fornecedor	Função
Metilssulfato de 1-butil-3-metilimidazólio ([BMIM]MeSO ₄)	99%	IOLITEC	IOLITEC	Reagente
Cloreto de Colina	99%	TCI	Fronteiralquimia – Unipessoal, LDA	Reagente
Imidazol	99%	Acros Organics	Acros Organics	Reagente
Metanol	100%	Panreac	PANREAC QUIMICA SA	Lavagem
Ácido Sulfúrico	72%	Carlo Erba Reagents	Carlo Erba Reagents SAS	Hidrólise ácida
Etilenoglicol	99%	Panreac	PANREAC QUIMICA SA	Fluído de aquecimento
Carbonato de cálcio	>99%	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich	Neutralização de pH
Água destilada	-	-	-	Anti-solvente e lavagem

3.3 Equipamentos e materiais de laboratório

Foram usados diferentes equipamentos e materiais laboratoriais no decorrer das atividades laboratoriais designadamente nas diversas dissoluções e filtrações da madeira tratada, precipitações de lenhina e na sua posterior caracterização. Destacam-se então os seguintes:

- Placas de aquecimento com agitação magnética e controlo de temperatura (VWR Advanced VMS-C7 e OVAN);
- Mini-reatores;
- Balança OHAUS PIONEER;
- Estufa P-Selecta;
- Moinho Retsch GmbH 5657 HAAN;
- Espectrofotómetro UV/VIS BECKMAN DU 650;
- Espectrómetro FT-IR/NIR PerkinElmer Frontier;
- Kitasatos
- Cadinhos de placa porosa
- Copos/ Gobelés
- Exsicador;
- Barras de agitação magnética;
- Banho térmico;
- Filtros FILTER-LAB – 10 a 13 µm de poro
- Filtros de fibra de vidro MACHEREY-NAGEL - poro de 0.6 µm

3.4 Metodologia experimental

A metodologia experimental utilizada neste trabalho foi baseada nos procedimentos de dissertações realizadas anteriormente e alguns trabalhos da literatura. (Moreira, 2021; Procentese *et al.*, 2015). O procedimento foi de modo geral semelhante para o [BMIM]MeSO₄ + H₂O e para o cloreto de colina+imidazol, encontrando-se esquematizado na Figura 3.2.

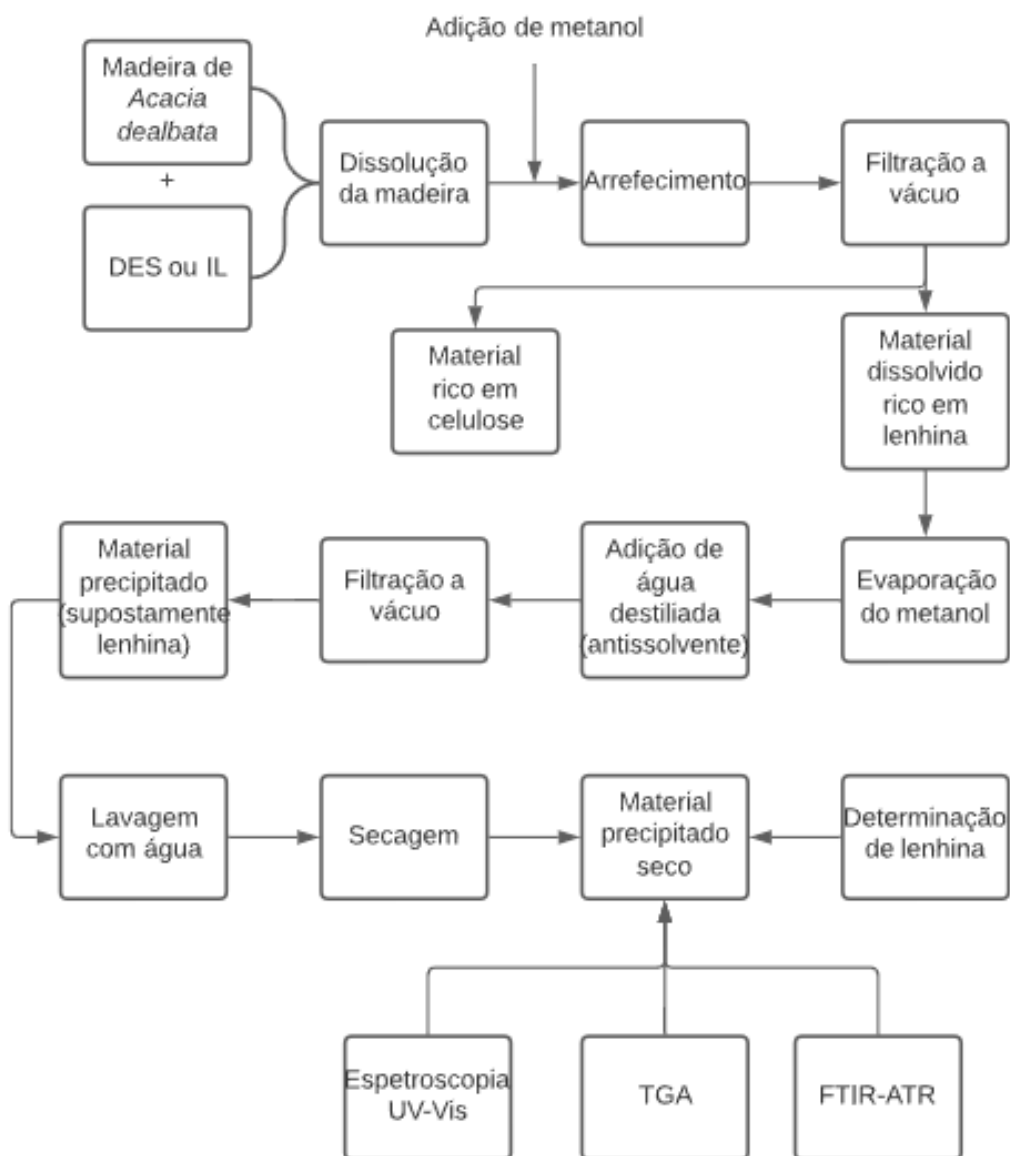


Figura 3.2 – Procedimento experimental seguido ao longo da dissertação

As condições de reação elegidas para cada solvente estão representadas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Condições de extração adotadas do decorrer da dissertação

Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (h)
Líquido iónico [BMIM]MeSO ₄ + H ₂ O	140°C	24
	140°C	8
	120°C	24
Solvente eutético Cloreto de colina + Imidazol	180°C	24
	180°C	8
	160°C	24

Estas condições de extração foram escolhidas com base nos resultados experimentais obtidos num trabalho desenvolvido anteriormente no DEQ-FCTUC, pelo que este trabalho complementa o estudo antes feito (Moreira, 2021).

3.4.1 Preparação dos solventes eutéticos

Para preparar o solvente eutético de cloreto de colina + imidazol, começou-se por calcular, para uma determinada base de cálculo, a massa de cada composto que se precisava de forma a respeitar a proporção molar de 3:7 (cloreto de colina:imidazol). Os reagentes foram depois aquecidos a 100°C durante 1 hora sob leve agitação (Ren *et al.*, 2016).

3.4.2 Dissolução da madeira usando solvente eutético (cloreto de colina+imidazol)

Para dissolver a madeira usando DES, utilizou-se uma relação de madeira/solvente de 1/10. De forma a obter 1 g de madeira em base seca, pesou-se aproximadamente 1.1 g de serradura em base húmida (0.25-0.84 mm), e adicionou-se a esta 10 g do DES preparado anteriormente. A mistura foi então inserida dentro dos mini-reatores (Figura 3.3) (compostos por um tubo/copo de teflon no interior de um tubo metálico com rosca) e estes colocados dentro de uma estufa nas diferentes condições selecionadas: 180°C durante 24h e 8h, e 160°C durante 24h.



Figura 3.3 – Exemplo de um mini-reator utilizado na etapa de dissolução da madeira

No final do tempo estabelecido, retiraram-se os reatores da estufa e estes foram arrefecidos recorrendo a banhos de água fria. Depois disto, adicionaram-se 10mL de metanol à mistura contida dentro do tubo de teflon de forma a diminuir a viscosidade do líquido, e prosseguiu-se para a filtração a vácuo com um cadinho poroso contendo um filtro de papel previamente recortado (FILTER-LAB – 10 a 13 µm de poro) previamente secos e pesados. Foram ainda adicionados mais 10mL de metanol de forma a aproveitar os restos de material dentro do tubo de teflon. O filtrado recolhido é armazenado em frascos de vidro. O resíduo que fica no cadinho é depois lavado com água destilada até ao filtrado ficar incolor.

Depois da filtração, o cadinho poroso com o resíduo sólido resultante é colocado na estufa a 105°C durante a noite, sendo pesado no dia seguinte de forma a calcular o rendimento de dissolução através da Equação 3.1:

$$\text{Rendimento de dissolução (\%)} = \frac{m_i - m_{res}}{m_i} \times 100 \quad (\text{Eq 3.1})$$

em que m_i diz respeito à massa de madeira em base seca previamente pesada e m_{res} representa a massa do resíduo sólido seco (material rico em celulose) que não foi dissolvido no solvente eutético.

3.4.3 Dissolução da madeira usando o líquido iónico ([BMIM]MeSO₄ + H₂O)

À semelhança do que acontece na dissolução com o DES, a dissolução da madeira usando o líquido iónico [BMIM]MeSO₄ + H₂O iniciou-se com a pesagem de cerca de 1.1 g de serradura (0.25-0.84 mm) em base húmida de forma a obter 1 g de madeira em base seca. Para além da madeira, foram ainda colocadas dentro do tubo de teflon do mini reator, 2 g de água destilada e 8 g de líquido iónico.

O tubo foi de seguida colocado no mini reator que foi fechado e introduzido numa estufa às temperaturas de 140°C durante 24 h ou 8 h e ainda a 120°C durante 24 h. Quando atingido o tempo de reação, o mini reator foi retirado da estufa e arrefecido recorrendo a um banho de água fria.

É posteriormente adicionado 10 mL de metanol dentro do tubo de teflon, agitando-se o conteúdo do tubo com ajuda de uma vareta de vidro, ficando este em repouso durante cerca de 1h. De seguida, à semelhança do que sucedia com o DES, filtra-se o conteúdo do tubo num cadinho de placa porosa contendo um filtro de papel, numa metodologia em tudo semelhante à usada com o DES. Finalmente, o rendimento de dissolução é calculado com base na Equação 3.1.

3.4.4 Precipitação dos materiais dissolvidos

Para a fase de precipitação do material dissolvido (em teoria constituído maioritariamente por lenhina) começou-se por evaporar o metanol do filtrado proveniente da etapa anterior, recorrendo a uma placa de aquecimento a 80°C. Posteriormente adicionou-se água ao filtrado obtido. Quer para o caso do solvente eutético, quer para o líquido iónico adicionou-se água ao filtrado na proporção de 10:1 (v/v), e deixou-se o seu conteúdo em repouso durante cerca de 1h num copo para que ocorresse a precipitação da lenhina dissolvida. Posteriormente, o conteúdo do copo foi filtrado recorrendo a um cadinho de placa porosa e a um filtro FILTER-LAB com 10 a 13µm de poro previamente secos a 105°C durante pelo menos 4h. O sólido retido no filtro é depois lavado com água destilada até o filtrado ficar incolor e deixado a secar a 105°C durante a noite, e no dia seguinte é pesado, de forma a conseguir-se obter a massa de material precipitado (em teoria lenhina). O rendimento de precipitação de lenhina foi depois calculado com base na Equação 3.2:

$$\text{Rendimento de precipitação de lenhina (\%)} = \frac{m_{mp}}{m_{ld}} \times 100 \quad (\text{Eq 3.2})$$

Em que m_{mp} representa a massa de material precipitado e m_{ld} diz respeito à massa de lenhina teoricamente dissolvida e está definida como:

$$m_{ld} = m_{lenhina, \text{ madeira original}} - m_{lenhina, \text{ MRC}} \quad (\text{Eq 3.2.1})$$

Onde $m_{lenhina, \text{ madeira original}}$ diz respeito à massa de lenhina total presente na madeira original calculada através do produto entre a massa de madeira e a percentagem de lenhina (~20%) e $m_{lenhina, \text{ MRC}}$ simboliza a massa de lenhina presente no material sólido rico em celulose obtido após o processo de extração da biomassa, sendo o seu valor obtido a partir do produto entre a massa de MRC (material sólido rico em celulose) e a percentagem de lenhina deste.

3.4.5 Determinação de lenhina nos materiais precipitados

Para determinação do teor de lenhina usou-se o protocolo experimental NREL/TP-510-42618, que se encontra apresentado no ANEXO I. De modo a determinar as quantidades de lenhina solúvel, insolúvel e total começou-se por pesar num tubo de centrifuga uma amostra de cerca de 300 mg do material precipitado. Adicionou-se depois 3 mL de ácido sulfúrico 72%

(m/m) e homogeneizou-se recorrendo a uma vareta de vidro. O conteúdo dos tubos foi depois colocado num banho de água a 30°C durante 1h, agitando-se o conteúdo dos tubos de 10 em 10 minutos. Depois de removidos os tubos do banho, foi adicionado o conteúdo dos mesmos num frasco de autoclave e o ácido sulfúrico foi diluído para 4% (m/m) com a adição de 84 mL de água ultrapura. Os frascos seguiram depois para a autoclave onde estiveram a 121°C durante 1h. Depois de retirados os frascos da autoclave, deixou-se sedimentar a lenhina insolúvel de um dia para o outro.

No dia seguinte, o conteúdo do frasco de autoclave foi filtrado recorrendo a cadinhos de placa porosa e filtros de fibra de vidro (MACHEREY-NAGEL com poro de 0.6 µm) previamente secos e pesados, tendo sido recolhido o filtrado (para posterior análise da lenhina solúvel e polissacarídeos). O cadinho com a lenhina insolúvel (após lavagem) foi deixado numa estufa a secar a 105°C durante a noite e a percentagem da mesma foi calculada com base na Equação 3.3.

$$\%lenhina\ insolúvel = \frac{m_{lenhina\ insolúvel}}{m_{as}} \times 100 \quad (Eq. 3.3)$$

Em que $m_{lenhina\ insolúvel}$ corresponde à diferença entre a massa final do cadinho com filtro e lenhina e a massa do cadinho com filtro previamente pesada e a m_{as} corresponde à massa de amostra seca usada na determinação.

Para a determinação da lenhina solúvel, no caso das amostras referentes ao LI, colocou-se 1mL de filtrado e adicionaram-se 9mL de água ultrapura (fator de diluição de 10), agitando-se de seguida. Noutro tubo de ensaio preparou-se o branco, introduzindo-se 1mL de ácido sulfúrico 4% (m/m), juntamente com 9mL de água ultrapura. Mediu-se finalmente a absorvância de cada amostra por espectroscopia de radiação UV (205nm).

No caso das amostras referentes ao DES o procedimento foi exatamente o mesmo, com a diferença de que se usou apenas 0,1mL de filtrado e 9,9mL de água ultrapura (fator de diluição de 100), uma vez que nas medições obtidas para um fator de diluição de 10 e 50 a absorvância se encontrava fora dos limites da lei de Beer-Lambert.

A lenhina solúvel foi então finalmente calculada através da Equação 3.4:

$$Lenhina\ soluvel \left(\% \frac{m}{m} \right) = \frac{Abs \times FD \times V_{filtrado}}{\varepsilon \times b \times m_{as} \times 1000} \times 100 \quad (Eq. 3.4)$$

Em que Abs corresponde à absorvância medida a 205nm, $V_{filtrado}$ ao volume de hidrolisado, ε corresponde à Absortividade da lenhina (110L/g.cm), FD corresponde ao fator de diluição, b ao percurso ótico (cm) e m_{as} à massa de amostra seca inicial.

É ainda de salientar que a percentagem de lenhina total é dada pela soma da lenhina insolúvel com a lenhina solúvel.

3.4.6 Determinação de polissacarídeos dos materiais precipitados

Depois de realizada a determinação da lenhina, os hidrolisados obtidos da hidrólise ácida das amostras foram usados para determinar os polissacarídeos através do protocolo experimental NREL/TP-510-42618 apresentado no Anexo I.

Começou-se pela neutralização do filtrado da etapa anterior com a adição de carbonato de cálcio até a amostra atingir um pH entre 5 e 6. Seguidamente, deixou-se sedimentar o precipitado. Após decantação, o líquido foi recolhido e, após passagem num filtro de seringa de Nylon com 20 mm de diâmetro e um poro de 0.22 μm , foi colocado num pequeno *vial* de vidro para ser depois injetado no HPLC.

A percentagem de hidratos de carbono é depois determinada com base na Equação 3.5:

$$\text{Hidratos de carbono} \left(\% \frac{m}{m} \right) = \frac{C_{HPLC} \left(\frac{g}{ml} \right) \times V_H (ml) \times fc}{m_{as}} \times 100 \quad (\text{Eq. 3.5})$$

Em que, C_{HPLC} , corresponde à concentração do monossacarídeo a analisar na amostra, V_H corresponde ao volume de hidrolisado, m_{as} representa a massa de amostra seca inicial e fc diz respeito ao fator de correção derivado da remoção de uma molécula de H₂O durante o processo de conversão de monossacarídeo a polissacarídeo, sendo que este varia caso o monossacarídeo se trate de uma pentose (xilose ou arabinose) ou de uma hexose (glucose, manose ou galactose), sendo: $fc(\text{pentoses}) = 0.88$ e $fc(\text{hexoses}) = 0.90$.

3.4.7 Análise do material rico em lenhina pela técnica de FTIR-ATR

FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) é uma técnica de espectroscopia que usa radiação infravermelha para identificar grupos funcionais presentes numa molécula. Uma molécula que demonstre variações no momento dipolar com as vibrações das ligações é uma molécula ativa no infravermelho e vai absorver radiação durante a vibração das suas ligações. Fazer passar um feixe de radiação infravermelha pela amostra resulta na absorção da radiação que tenha a mesma frequência das vibrações das moléculas o que resulta num espetro com

bandas características nessas frequências, sendo que a energia de cada pico num espectro de absorção corresponde à frequência de vibração de uma determinada ligação molecular. O espectro pode ser apresentado em % de transmitância ou em absorvância (Stuart, 2004).

A espectroscopia FTIR é o método de espectroscopia de infravermelho mais utilizado. A técnica apresenta como principais vantagens a elevada sensibilidade e resolução, assim como a rapidez de registo. Este método é baseado na interferência da radiação entre dois feixes resultando um interferograma. Um interferograma é o registo do sinal produzido pela combinação das múltiplas frequências possíveis de obter com a transformada de Fourier. A conversão do interferograma para espectro é conseguida pelo tratamento matemático com transformadas de Fourier, tal como demonstrado na Figura 3.4 (Leite *et al.*, 2009).

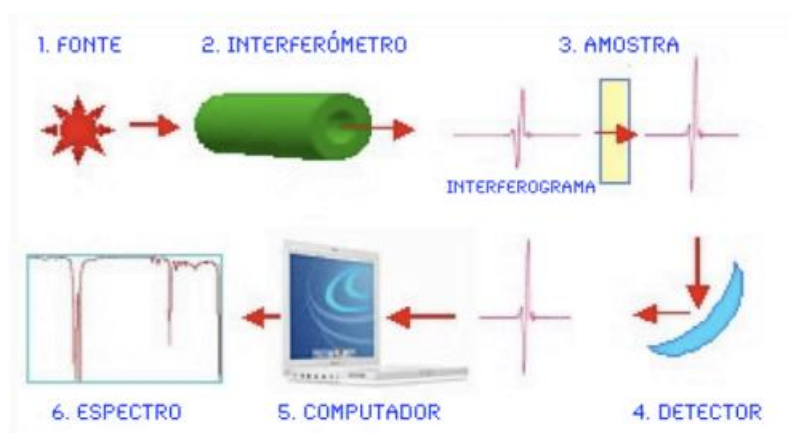


Figura 3.4 - Esquema do processo de análise de uma amostra (adaptado de Leite *et al.*, 2009)

Neste trabalho, recorreu-se à espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em reflexão total atenuada (FTIR-ATR) que consiste num feixe infravermelho combinado que é direcionado para um cristal ATR de elevada densidade ótica com a amostra pressionada contra a sua superfície. Durante a reflexão interna, uma parte da radiação infravermelha viaja para a amostra onde pode ser absorvida. Esta é a chamada onda evanescente. A profundidade de penetração da onda evanescente na amostra é definida pela diferença do índice de refração entre a amostra e o cristal ATR (Catoggio, 2022). O princípio de funcionamento encontra-se representado na Figura 3.5.

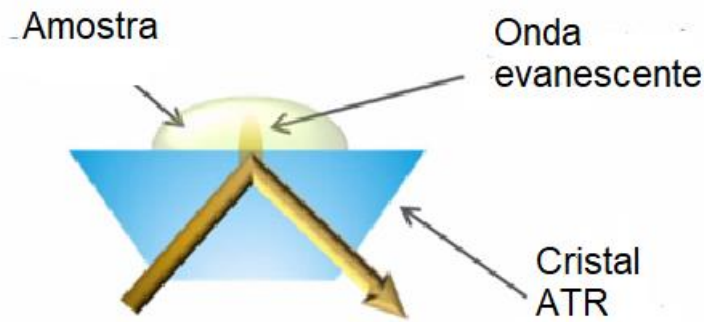


Figura 3.5 – Princípio de funcionamento da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em reflexão total atenuada (FTIR-ATR)

3.4.8 Análise termogravimétrica (TGA)

Análise termogravimétrica (TGA - do inglês *Thermogravimetric analysis*) é uma técnica destrutiva na qual se monitoriza a variação de massa de uma substância em função da temperatura ou tempo num ambiente de temperatura e atmosfera controlada. Esta técnica permite avaliar a estabilidade térmica do material e a sua fração de componentes voláteis, através da monitorização da perda de massa, enquanto a amostra é aquecida a uma taxa de aquecimento constante. A medição é normalmente realizada numa atmosfera inerte, como azoto, hélio ou argon e a massa da amostra é registada em função do aumento da temperatura (Rajisha *et al.*, 2011).

A TGA é realizada num instrumento referido como um analisador termogravimétrico. Um aparelho de TGA apresenta como peças principais: uma balança de precisão, cadinhos feitos de material inerte, forno, termopares e um sistema de passagem de gás (comumente chamado de purga). A amostra em questão é inserida no cadinho e levada ao forno num suporte ligado à balança. A temperatura é programada para variar no tempo segundo critérios pré-definidos, enquanto a balança fornece os dados da massa da amostra em função do tempo/temperatura. O sistema de controlo atmosférico é de grande importância, pois os gases presentes no momento da análise podem ou não reagir com a amostra, tendo efeitos diretos nas variações de massa (Corres *et al.*, 2011).

No presente trabalho, as curvas termogravimétricas foram obtidas submetendo as amostras de lenhina isoladas a partir de líquidos iónicos e solventes eutéticos a um aquecimento de 10°C/min, numa atmosfera de azoto. Foram também traçadas as curvas da primeira derivada, que permitem uma mais fácil e precisa perceção dos pontos de inflexão da curva termogravimétrica, ou seja, a determinação das temperaturas dos máximos da velocidade de

degradação térmica. Depois de obtidos os dados referentes à análise termogravimétrica, estes foram usados para calcular as energias de ativação das decomposições térmicas, usando a Equação 3.6:

$$\ln \left(\ln \left(\frac{1}{y} \right) \right) = - \left(\frac{E_a}{R} \right) \times \left(\frac{1}{T} \right) \quad (\text{Eq. 3.6})$$

Em que E_a é a energia de ativação (J mol^{-1}), R diz respeito à constante universal dos gases perfeitos ($\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$), e y representa a massa de material não decomposto numa temperatura T e está definida como: $(W_T - W_\infty)/(W_0 - W_\infty)$, onde W_T corresponde à massa da amostra numa determinada temperatura T , e W_0 e W_∞ correspondem à massa inicial e final da amostra, respetivamente (Sousa *et al.*, 2016). A energia de ativação foi obtida através do declive da aproximação linear (em duas regiões lineares distintas) de $\ln(\ln(1/y))$ versus $1/T$ que depois de multiplicado por R , nos dá a E_a (Broido, 1969).

3.4.9 Espectroscopia UV-VIS

A espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-vis) é utilizada para obter os espectros de absorção de radiação visível e ultravioleta de um composto tipicamente em solução ou em estado sólido. Moléculas que contenham eletrões σ , π e não ligantes podem absorver energia ultravioleta ou de luz visível e transitar para um estado de energia mais elevado. O que é realmente determinado espectroscopicamente é a absorbância da energia da radiação eletromagnética que leva os eletrões desde o estado fundamental até ao estado excitado. A gama de energia UV-vis do espectro eletromagnético abrange 1,5 - 6,2 eV que corresponde a uma gama de comprimentos de onda de 800 a 200 nm. A Lei de Beer-Lambert, dada pela Equação 3.7, é o princípio por detrás da espectroscopia de absorção UV-vis (H. Wang & Chu, 2013).

$$A = \epsilon bc \quad (\text{Eq. 3.7})$$

Para um único comprimento de onda, A é a absorbância (sem unidades, geralmente vistas como unidades arbitrárias), ϵ é o coeficiente de extinção molar do composto em solução ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$), b é o comprimento do percurso da cuvete ou suporte da amostra (geralmente 1 cm), e c é a concentração do composto na solução (M) (Dyamenahalli *et al.*, 2015).

A refletância difusa foi desenvolvida para facilitar a análise de materiais tais como papéis e sólidos em pó no seu estado puro. Uma característica comum destes materiais é a sua falta de homogeneidade interna. As propagações da luz através de tais meios não homogêneos diferem

significativamente da propagação da luz num material homogéneo, uma vez que a luz se espalha ao longo do seu caminho. Assim, a chave para a descrição teórica da reflexão difusa reside na descrição da propagação da luz através de materiais não homogéneos. No entanto, existem apenas descrições aproximadas, sendo o modelo Kubelka-Munk (K-M) o mais utilizado para descrever a reflexão em materiais difusos (Torrent & Barrón, 2008).

Os coeficientes de absorção (k) e de dispersão (s) de luz de uma mistura são simples funções aditivas dos respetivos coeficientes dos componentes da mistura de acordo com as suas proporções. Assim, a função K-M (equação 3.8) para a mistura pode ser descrita como:

$$\frac{k}{s} = \frac{(1 - R)^2}{2R} \quad (Eq. 3.8)$$

Onde R é a refletância de luz a um dado comprimento de onda, e k e s são os coeficientes específicos de absorção e dispersão de luz a esse comprimento de onda.

4. Resultados e Discussão

O capítulo de apresentação e discussão dos resultados do trabalho experimental segue a seguinte ordem: o subcapítulo inicial foca-se na dissolução da madeira e neste são apresentados e discutidos os resultados referentes a essa temática para os dois solventes (líquido iônico e solvente eutético); o segundo subcapítulo diz respeito à apresentação dos resultados referentes à precipitação da lenhina dissolvida nas fases líquidas resultantes dos processos de extração da etapa anterior; no terceiro subcapítulo são apresentados e discutidos os resultados do teor de lenhina e polissacarídeos das fases sólidas obtidas após precipitação, que terão lenhina precipitada; no quarto, quinto e sexto subcapítulos encontram-se os resultados e a discussão da caracterização feita por FTIR-ATR, termogravimetria e reflectância difusa UV-vis das amostras sólidas com lenhina precipitada. É de referir que se encontra tabelado no Anexo III a lista de amostras utilizadas para cada teste de caracterização.

A determinação experimental do teor de lenhina na madeira original revelou que esta continha 20.2%. Dado que, em geral, se usou em cada ensaio de extração cerca de 1 g de madeira em base seca, a massa de lenhina original em cada ensaio foi de aproximadamente 0.202 g.

4.1 Dissolução da madeira

4.1.1 Dissolução da madeira no líquido iônico ([BMIM]MeSO₄ + H₂O)

Na Tabela 4.1 podem encontrar-se os resultados relativos aos ensaios mais concordantes nas diferentes condições de reação utilizando o líquido iônico [BMIM]MeSO₄ + H₂O. É de referir que todos os ensaios contemplam uma relação madeira/líquido de 1/10 (1g de madeira em base seca para 2 g H₂O + 8 g IL);

Tabela 4.1 - Dissolução da madeira no líquido iónico [BMIM]MeSO₄ + H₂O

Ensaio	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	Massa de madeira (base seca) (g)	Massa de MRC* (g)	Massa de madeira dissolvida** (g)	Rendimento de dissolução*** (%)	Média de rendimento de dissolução (%)
LI 13	24	140	1.0039	0.3597	0.6442	64.17	64.35±0.93
LI 14			1.0001	0.3673	0.6328	63.27	
LI 15			1.0158	0.3501	0.6657	65.53	
LI 16			1.0016	0.3565	0.6451	64.41	
LI 5	8	140	1.0055	0.3797	0.6258	62.24	60.85±1.30
LI 6			1.0092	0.3843	0.6249	61.91	
LI 17			1.0017	0.3888	0.6129	61.19	
LI 18			1.0052	0.4018	0.6034	60.03	
LI 31			1.0037	0.3914	0.6124	61.01	
LI 32			0.9989	0.4126	0.5863	58.69	
LI 25			24	120	1.0037	0.4422	
LI 26	1.0031	0.4341			0.5690	56.72	
LI 27	1.0175	0.4672			0.5503	54.09	
LI 28	1.0021	0.4612			0.5409	53.98	
LI 29	1.0053	0.4661			0.5392	53.63	
LI 30	1.0164	0.4556			0.5608	55.18	
LI 33	1.0174	0.4337			0.5837	57.37	
LI 34	1.0019	0.4275			0.5744	57.33	

*MRC = Material rico em Celulose

** Massa dissolvida = Massa de madeira (base seca) – Massa de MRC

*** Rendimento de dissolução = (massa dissolvida/massa de madeira original) × 100 (Eq.3.1)

Analisando a Tabela 4.1, é possível inferir que, como esperado, quanto mais severas as condições de reação, maior a massa de madeira dissolvida e consequentemente, maior o rendimento de dissolução. É ainda possível observar que a variável Temperatura tem um maior efeito que a variável tempo, uma vez que os valores de rendimento de dissolução referentes à condição 140°C/8h, foram cerca de 5 pontos percentuais acima dos rendimentos obtidos na condição de 120°C/24h. Atendendo ao valor de lenhina original na madeira, a massa dissolvida foi cerca do triplo, pelo que outros componentes da madeira se terão dissolvido.

4.1.2 Dissolução da madeira no solvente eutéctico (Cloreto de colina + Imidazol)

Na Tabela 4.2 podem encontrar-se os resultados relativos aos ensaios mais concordantes nas diferentes condições de reação utilizando o solvente eutéctico ChCl+Imidazol (3:7). É de referir que, à semelhança do que aconteceu no líquido iónico todos os ensaios contemplam uma relação madeira/líquido de 1/10 (1 g de madeira em base seca para 10 g DES);

Tabela 4.2 - Dissolução da madeira no solvente eutético ChCl+Imidazol (3:7)

Ensaio	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	Massa de madeira (base seca) (g)	Massa de MRC* (g)	Massa de madeira dissolvida** (g)	Rendimento de dissolução*** (%)	Média de rendimento de dissolução (%)
SE 7	24	180	1.0049	0.4545	0.5504	54.77	54.98±0.65
SE 8			1.0124	0.4514	0.5610	55.41	
SE 9			1.0146	0.4508	0.5638	55.57	
SE 10			1.0133	0.4646	0.5487	54.15	
SE 17	8	180	1.0038	0.4962	0.5076	50.57	50.74±1.74
SE 18			0.9998	0.4713	0.5285	52.86	
SE 23			1.0078	0.5262	0.4816	47.79	
SE 24			1.0280	0.5058	0.5222	50.78	
SE 27			1.0024	0.4804	0.5220	52.07	
SE 28			1.0050	0.4990	0.5060	50.35	
SE 11	24	160	1.0021	0.5123	0.4898	48.88	49.04±0.46
SE 12			1.0007	0.5091	0.4916	49.13	
SE 13			1.0021	0.5074	0.4947	49.37	
SE 14			1.0094	0.5099	0.4995	49.49	
SE 29			1.0033	0.5196	0.4837	48.21	
SE 30			1.0151	0.5164	0.4987	49.13	

*MRC = Material rico em Celulose

** Massa dissolvida = Massa de madeira (base seca) – Massa de MRC

*** Rendimento de dissolução = (massa dissolvida/massa de madeira original) × 100

Observando os valores obtidos na Tabela 4.2, é possível inferir um comportamento semelhante ao IL, uma vez que, tal como este, com o aumento da severidade das condições de reação aumenta também o rendimento de dissolução da madeira.

É, contudo, menos notório neste caso a supremacia do fator temperatura em relação ao fator tempo, uma vez que a condição 180°C/8h apenas dissolve mais 2% em média em relação à condição 160°C/24h. À semelhança dos resultados obtidos com IL, a massa dissolvida é significativamente superior à massa de lenhina existente na madeira.

É ainda de referir que os resultados das dissoluções, tanto os referentes ao LI como ao DES estão de acordo com os resultados obtidos em trabalhos anteriores quer para a mesma matéria-prima (Almeida *et al.*, 2022; Moreira, 2021), quer para diferentes tipos de *hardwood* (Brandt *et al.*, 2011).

4.2 Precipitação da lenhina

Nesta secção apresentam-se os rendimentos de precipitação do material dissolvido presente nos filtrados após a dissolução da madeira (supostamente lenhina). É de referir que para agilizar

os processos de precipitação foram juntados os filtrados de diferentes réplicas dois a dois (p.e. LI 13 + LI 14; SE 7 + SE 8).

4.2.1 Precipitação do material dissolvido proveniente do pré-tratamento da madeira com líquido iónico ([BMIM]MeSO₄ + H₂O)

Na Tabela 4.3 encontram-se os resultados referentes à precipitação do material dissolvido (supostamente lenhina) decorrentes do tratamento com líquido iónico ([BMIM]MeSO₄ + H₂O). Importa referir que o rendimento de precipitação de lenhina foi calculado considerando que o material precipitado era essencialmente lenhina. O balanço mássico foi feito, utilizando a massa de precipitado obtida experimentalmente e a massa de lenhina dissolvida (Eq. 3.2.1).

Tabela 4.3 - Resultados referentes ao processo de precipitação do material dissolvido para o líquido iónico

Ensaio	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	% lenhina na madeira original	% lenhina no MRC*	Massa de lenhina dissolvida** (g)	Massa de material precipitado (g)	Rendimento de precipitação*** (%)	Média do rendimento de precipitação (%)
LI 13					0.3731	0.4230	113.36	
LI 14								
LI 15	24	140	20.2	4.3	0.3767	0.4197	111.41	112.36±1.38
LI 16								
LI 5					0.3661	0.2983	81.49	
LI 6								
LI 17								
LI 18	8	140	20.2	5.3	0.3631	0.2885	79.45	80.91±1.27
LI 31					0.3615	0.2957	81.79	
LI 32								
LI 25					0.3524	0.2376	67.43	
LI 26								
LI 27								
LI 28					0.3519	0.2391	67.95	
LI 29	24	120	20.2	6.0	0.3527	0.2325	65.92	67.82±1.53
LI 30								
LI 33					0.3558	0.2490	69.98	
LI 34								

*MRC = Material rico em Celulose

**Massa lenhina dissolvida = Massa de lenhina na madeira original – Massa de lenhina MRC (Eq 3.2.1)

***Rendimento de precipitação da lenhina = (Massa precipitada, supostamente lenhina)/(Massa dissolvida de lenhina) × 100 (Eq. 3.2)

Pelos resultados apresentados na Tabela 4.3 é possível verificar que a quantidade de material precipitado foi maior nas amostras relativas às condições de reação mais severas. Para a condição mais severa (140°C/24h) obteve-se um rendimento de precipitação superior a 100%, o que se pode explicar i) com possíveis erros inerentes à determinação da lenhina, ii) com a possibilidade de se ter precipitado outros componentes como celulose e hemiceluloses também dissolvidas durante a extração ou ainda iii) por contaminação da amostra precipitada com o líquido iónico.

É ainda de notar que na condição referente à temperatura mais baixa se obtiveram os rendimentos de precipitação mais baixos.

4.2.2 Precipitação da lenhina proveniente do pré-tratamento da madeira solvente eutético (Cloreto de colina + Imidazol)

Na Tabela 4.4 encontram-se os resultados referentes à precipitação do material dissolvido (supostamente lenhina) decorrentes do tratamento com solvente eutético (Cloreto de colina + Imidazol).

Tabela 4.4 - Resultados referentes ao processo de precipitação do material dissolvido para o solvente eutético

Ensaio	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	% lenhina na madeira original	% lenhina no MRC*	Massa de lenhina dissolvida** (g)	Massa de material precipitado (supostamente lenhina) (g)	Rendimento de precipitação*** (%)	Média do rendimento de precipitação (%)
SE 7					0.3681	0.3641	98.90	
SE 8	24	180	20.18	4.3				98.36±0.77
SE 9					0.3699	0.3618	97.82	
SE 10								
SE 17					0.3501	0.2448	69.92	
SE 18								
SE 23	8	180	20.18	5.6	0.3530	0.2370	67.13	68.18±1.51
SE 24								
SE 27					0.3500	0.2362	67.49	
SE 28								
SE 11					0.3327	0.2529	76.02	
SE 12								
SE 13	24	160	20.18	7.0	0.3347	0.2619	78.24	75.72±2.69
SE 14								
SE 29					0.3348	0.2440	72.88	
SE 30								

*MRC = Material rico em Celulose

**Massa lenhina dissolvida = Massa de lenhina na madeira original – Massa de lenhina MRC (Eq. 3.2.1)

***Rendimento de precipitação da lenhina = (Massa precipitada, supostamente lenhina)/(Massa dissolvida de lenhina) × 100 (Eq. 3.2)

Analisando os resultados apresentados na Tabela 4.4, é possível perceber que, à semelhança do que aconteceu com o líquido iônico, os rendimentos de precipitação mais elevados foram obtidos nas condições de operação mais severas.

No entanto, neste caso, ao contrário do que aconteceu com o líquido iónico, a condição de temperatura intermédia (160°C/24h) apresentou um rendimento de precipitação consideravelmente superior à condição de temperatura mais elevada com menor tempo de reação (180°C/8h).

4.3 Determinação da lenhina e dos polissacarídeos

De forma a aferir a pureza da lenhina precipitada determinou-se a lenhina total (lenhina Klason + lenhina solúvel) para os ensaios referidos anteriormente através do método NREL/TP-510-42618, apresentado no Anexo I. Como nem todas as condições providenciavam a massa necessária para efetuar o teste, foram juntadas várias amostras de lenhinas precipitada obtidas nas mesmas condições.

4.3.1 Determinação de lenhina nas amostras provenientes do pré-tratamento com líquido iónico ([BMIM]MeSO₄ + H₂O)

Na Tabela 4.5 encontram-se apresentados os resultados referentes à lenhina Klason (insolúvel), lenhina solúvel e lenhina total das amostras de lenhina precipitada analisadas. É de notar que, para todas as condições, a lenhina Klason foi claramente superior à lenhina solúvel que demonstrou resultados sempre abaixo de 2.1%.

Tabela 4.5 - Determinação de lenhina nos materiais precipitados referentes ao líquido iónico.

Amostra	Réplica	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	Lenhina Klason (%)	Lenhina solúvel (%)	Lenhina Total (%)	Lenhina total média (%)
LI 13 e 14	1	24	140	91.83	1.78	93.61	92.58±1.45
LI 15 e 16	2			89.72	1.83	91.56	
LI 5, 6, 17, 18, 31 e 32	1	8	140	81.31	2.00	83.31	83.16±0.21
	2			80.93	2.08	83.01	
LI 25, 26 29, 30, 33 e 34	1	24	120	88.81	1.70	90.51	88.34±3.07
	2			84.58	1.59	86.17	

Analisando os resultados presentes na Tabela 4.5, conclui-se ainda que, aparentemente, se obteve a maior pureza de lenhina para a condição de reação mais severa.

4.3.2 Determinação de lenhina nas amostras provenientes do pré-tratamento com solvente eutético (Cloro de colina + Imidazol)

Na Tabela 4.6 podem encontrar-se os valores referentes à determinação de lenhina nas amostras de lenhina precipitada dos ensaios com solvente eutético. São apresentados os valores referentes à lenhina Klason, lenhina solúvel e lenhina total. Ao contrário do que acontecia com o líquido iônico, para as lenhinas obtidas com o solvente eutético, a pureza total da lenhina aumenta com a diminuição da severidade das condições de reação, uma vez que se obteve a maior pureza para a condição que utilizava a temperatura mais baixa (160°C/24h), e a menor pureza para a reação cuja temperatura era mais elevada (180°C/24h). Pode isto dever-se a alguma contaminação com o solvente, que tem maior relevo nas condições de maior severidade, e a uma eventual pequena dissolução e precipitação de alguma celulose e hemiceluloses. É ainda de reparar na Tabela 4.6 que se obtiveram valores bastante mais elevados de lenhina solúvel, quando em comparação com o líquido iônico, o que poderá dever-se a alterações estruturais da lenhina que a tornam mais suscetível à despolimerização/solubilização quando se usa ácido sulfúrico na metodologia da determinação da lenhina Klason, ou a uma eventual contaminação com o solvente eutético uma vez que foi comprovado experimentalmente que este absorvia no mesmo comprimento de onda da lenhina solúvel. Assim, é provável que o valor de lenhina total esteja um pouco sobrevalorizado.

Tabela 4.6 - Determinação de lenhina nos materiais precipitados referentes ao solvente eutético

Amostra	Réplica	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	Lenhina Klason (%)	Lenhina solúvel (%)	Lenhina Total (%)	Lenhina total média (%)
SE 7 e 8	1	24	180	65.64	21.09	86.73	85.18±2.20
SE 9 e 10	2			63.79	19.83	83.63	
SE 17, 18, 23, 24, 27 e 28	1	8	180	78.30	11.22	89.52	90.94±2.02
	2			80.84	11.53	92.37	
SE 11, 12, 13, 14, 29 e 30	1	24	160	83.32	9.54	92.86	92.71±0.22
	2			83.88	8.68	92.55	

Olhando aos resultados da Tabela 4.6, é possível perceber que, ao contrário do que acontecia com o líquido iônico, para as lenhinas obtidas com o solvente eutético, a pureza total da lenhina aumenta com a diminuição da severidade das condições de reação, uma vez que se obteve a maior pureza para a condição que utilizava a temperatura mais baixa (24h 160°C), e a menor pureza para a reação cuja temperatura era mais elevada (24h 180°C). Pode isto dever-se a alguma contaminação com o solvente, que tem maior relevo nas condições de maior

severidade, e a uma eventual pequena dissolução e precipitação de alguma celulose e hemiceluloses.

É ainda de reparar que, se obtiveram valores bastante mais elevados de lenhina solúvel, quando em comparação com o líquido iónico.

Comparando agora os resultados com outros valores da literatura, os valores obtidos neste trabalho foram ligeiramente inferiores aos trabalhos relatados na literatura com o mesmo solvente. Li *et al.* (Li *et al.*, 2021) obtiveram purezas de cerca de 94% para madeira de choupo que reagiu durante 15h a 150°C. Esta pequena variação pode dever-se sobretudo à variação da matéria-prima, e ainda à maior proporção de líquido em relação ao sólido (relação S/L=1/16) utilizada por esses autores.

4.3.3 Determinação de polissacarídeos das amostras proveniente do pré-tratamento com líquido iónico ([BMIM]MeSO₄ + H₂O)

Na Tabela 4.7 encontram-se apresentados os resultados referentes ao conteúdo de polissacarídeos das diferentes amostras de nos ensaios com líquido iónico. Encontram-se ainda no Anexo IV os espetros obtidos no HPLC.

Tabela 4.7 – Resultados referentes à determinação de polissacarídeos nos materiais precipitados relativos ao líquido iónico

Amostra	Réplica	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	% Celulose	% Xilanas	% média de Polissacarídeos totais
LI 13 e 14	1	24	140	0.34	0.00	0.30±0.05
LI 15 e 16	2			0.26	0.00	
LI 5, 6, 17, 18, 31 e 32	1	8	140	0.57	0.05	0.59±0.03
	2			0.53	0.04	
LI 25, 26, 29, 30, 33 e 34	1	24	120	0.64	0.12	0.89±0.17
	2			0.90	0.11	

Analisando os resultados apresentados na Tabela 4.7, conclui-se que as amostras de lenhina precipitada mostraram ter um teor de polissacarídeos relativamente baixo (<1%). É possível notar também uma relação entre a severidade dos tratamentos e a % média de polissacarídeos totais, sendo esta ligeiramente mais elevada para os tratamentos menos severos.

4.3.4 Determinação de polissacarídeos das amostras provenientes do pré-tratamento com solvente eutético (Cloreto de colina + Imidazol)

Na Tabela 4.8 encontram-se apresentados os resultados referentes ao conteúdo de polissacarídeos das diferentes amostras de material precipitado nos ensaios com o solvente eutético. À semelhança do que acontecia com o líquido iónico, os polissacarídeos totais representam menos de 1% da massa da amostra. Neste caso, o teor de polissacarídeos aparenta ser mais abaixo para as condições de reação mais severas.

Tabela 4.8 - Resultados referentes à determinação de polissacarídeos nos materiais precipitados relativos ao solvente eutético

Amostra	Réplica	Tempo de reação (h)	Temperatura (°C)	% Celulose	% Xilanas	% média de Polissacarídeos totais
SE 7 e 8	1	24	180	0.15	0.05	0.17±0.05
SE 9 e 10	2			0.09	0.05	
SE 17, 18, 23, 24, 27 e 28	1	8	180	0.15	0.23	0.33±0.08
	2			0.11	0.16	
SE 11, 12, 13, 14, 29 e 30	1	24	160	0.24	0.39	0.61±0.03
	2			0.23	0.36	

Estes resultados são comparáveis com alguns resultados da literatura como os de Li *et al.*, 2021 que usando o mesmo solvente eutético obteve lenhinas com teor de polissacarídeos compreendido entre 5% e 1,5% (condições de tratamento de 150°C, 15h; S/L=1/16). Os valores obtidos nesta dissertação foram, contudo, substancialmente mais baixos, o que se pode dever às diferenças na matéria-prima utilizada, bem como às condições de tratamento mais severas usadas.

O facto de em ambos os solventes serem apresentados valores de teor de polissacáridos inferiores a 1%, reforça a ideia de que ambos os solventes apresentam uma elevada seletividade para com a lenhina, ou que, mesmo dissolvendo parte de outros componentes da madeira, o método de precipitação adotado permite que a precipitação seja seletiva da lenhina.

4.4 Análise das lenhinas precipitadas por FTIR-ATR

As amostras de lenhina foram caracterizadas e analisadas recorrendo à espectroscopia FTIR. De um ponto de vista geral, as amostras apresentaram espectros semelhantes, diferindo umas das outras apenas nas intensidades relativas das bandas. Os espectros obtidos encontram-se representados na Figura 4.1 (referente às lenhinas extraídas com líquido iónico) e Figura 4.2

(referente às lenhinas extraídas com solvente eutético). Foi ainda analisada uma amostra de lenhina Kraft da Sigma-Aldrich que serviu apenas como termo de comparação.

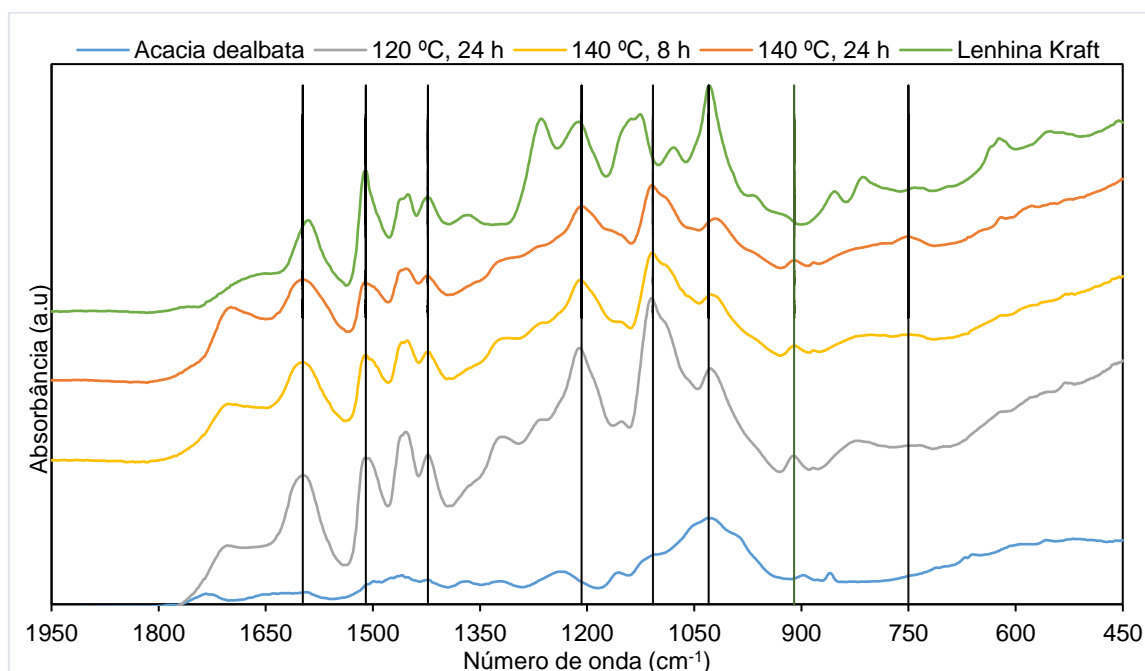


Figura 4.1 – Espectros FTIR-ATR da madeira original (*Acacia dealbata*) e das amostras de lenhina obtidas recorrendo ao tratamento com [BMIM]MeSO₄ + H₂O para as diferentes condições de operação

Analisando a Figura 4.1, é possível perceber que, apesar das lavagens realizadas, as lenhinas extraídas recorrendo ao líquido iónico, se encontram contaminadas por este, como podemos comprovar pela presença das bandas a 750 cm⁻¹, referente a vibrações de NH₂ que apenas está presente na condição mais severa (140°C, 24h). Estas bandas tratam-se de bandas características associadas ao líquido iónico [BMIM]MeSO₄ (Skrebets, 2018). Foram ainda detetadas bandas características de lenhinas como: 910 cm⁻¹ (deformação C-H fora do plano), 1108 cm⁻¹ (deformação aromática C-H no plano), 1208 cm⁻¹ (estiramentos C-C, C-O, e C=O, associados normalmente às lenhinas G e S), 1423 cm⁻¹ (vibrações aromáticas no esqueleto combinadas com vibrações C-H no plano), 1510 e 1598 cm⁻¹ (referentes a estiramentos simétricos de anéis de grupos arilo). É ainda possível perceber que o maior pico de intensidade da amostra de madeira inicial, a 1030 cm⁻¹, associado ao estiramento C-O em celulosas e hemicelulosas apresenta pouca intensidade nas amostras de lenhina obtidas com o líquido iónico (Gouveia *et al.*, 2012; Rashid *et al.*, 2016; Stark *et al.*, 2015).

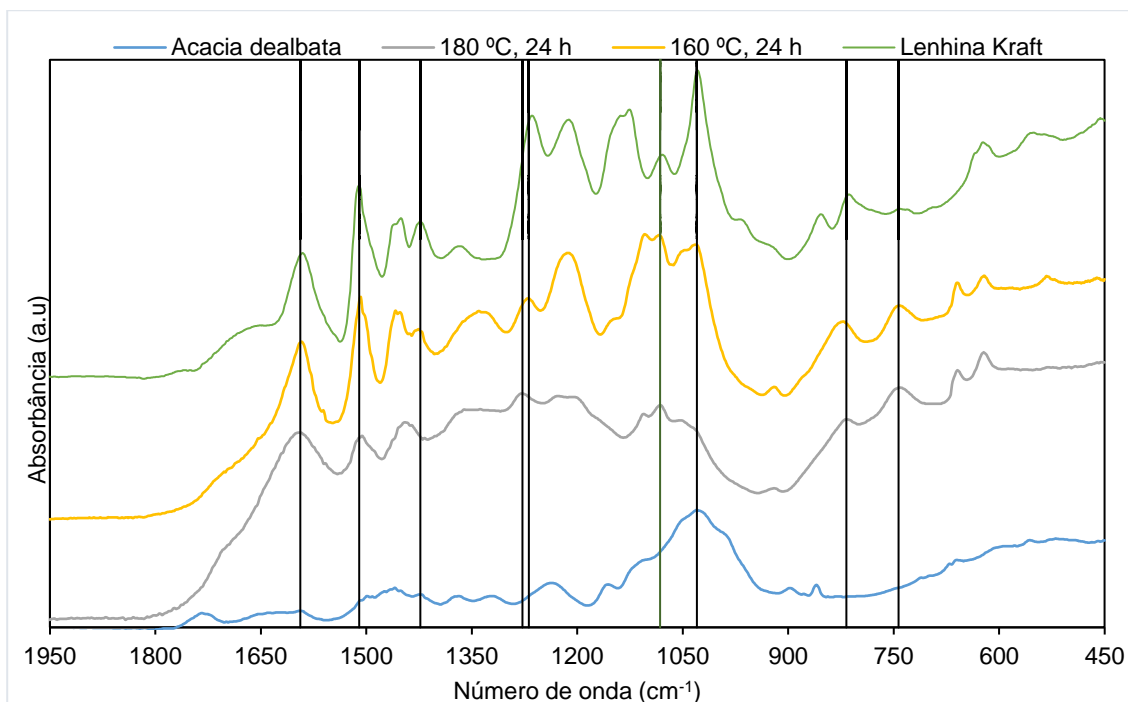


Figura 4. 2 - Espectros FTIR-ATR da madeira original (*Acacia dealbata*) e das amostras de lenhina obtidas recorrendo ao tratamento com o solvente eutéctico (cloreto de colina + imidazol) para as diferentes condições de operação

Analisando agora a Figura 4.2, são de notar alguns picos habituais das lenhinas como: 743 cm^{-1} que diz respeito a deformações do esqueleto dos anéis aromáticos, 817 cm^{-1} que representa uma deformação C-H fora do plano, 1082 cm^{-1} que revela deformações de grupos C-O, álcoois secundários e éteres alifáticos, 1269 cm^{-1} que representa vibração de respiração do anel G com estiramento de carboxilo (presente apenas na condição 160°C , 24h), 1278 cm^{-1} , da vibração de respiração do anel arilo aliado a um estiramento C=O (presente em ambas as amostras do solvente eutéctico), 1423 cm^{-1} que representa vibrações aromáticas no esqueleto combinadas com deformações C-H no plano, e ainda as bandas a 1510 e 1594 cm^{-1} que dizem respeito a estiramentos simétricos de anéis arilo (Gouveia *et al.*, 2012; Rashid *et al.*, 2016; Stark *et al.*, 2015).

Nas Tabelas 4.9 e 4.10 podemos observar os resultados obtidos para ambos os solventes, de uma forma sumariada.

Tabela 4.9 – Picos obtidos nas amostras de lenhina provenientes do tratamento com o líquido iônico.

Picos obtidos						
Solvente/ Condição	750 cm ⁻¹ (vibrações de NH ₂)	910 cm ⁻¹ (Deformação C-H fora do plano)	1108 cm ⁻¹ (Deformação C-H no plano)	1208 cm ⁻¹ (Estiramentos C-C, C-O e C=O)	1423 cm ⁻¹ (Vibrações aromáticas no esqueleto)	1510 e 1598 cm ⁻¹ (Estiramento de anéis de grupo arilo)
Lenhina Kraft	-	-	-	✓	✓	✓
LI 140°C 24h	✓	✓	✓	✓	✓	✓
LI 140°C 8h	-	✓	✓	✓	✓	✓
LI 120°C 24h	-	✓	✓	✓	✓	✓

Tabela 4.10 – Picos obtidos nas amostras de lenhina provenientes do tratamento com o solvente eutético.

Picos obtidos							
Solvente/ Condição	743 cm ⁻¹ (Deformações do esqueleto dos anéis aromáticos)	817 cm ⁻¹ (Deformação C- H fora do plano)	1082 cm ⁻¹ (Deformações de grupos C-O, álcoois secundários e éteres alifáticos)	1269 cm ⁻¹ (Vibração de respiração do anel G com estiramento de carboxilo)	1278 cm ⁻¹ (Vibração de respiração do anel arilo aleado a um estiramento C=O)	1423 cm ⁻¹ (Vibrações aromáticas no esqueleto combinadas com deformações C- H no plano)	1510 e 1594 cm ⁻¹ (Estiramentos simétricos de anéis arilo)
Lenhina Kraft	-	✓	✓	✓	-	✓	✓
DES 180°C 24h	✓	✓	✓	-	✓	-	✓
DES 160°C 24h	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓

4.5 Análise das lenhinas precipitadas por Termogravimetria (TGA)

As amostras de lenhina foram sujeitas a uma análise termogravimétrica desde a temperatura ambiente até 900°C, numa atmosfera de azoto. As curvas termogravimétricas e a correspondente primeira derivada são apresentadas na Figura 4.3, para as amostras referentes ao líquido iónico e ao solvente eutético. Foi ainda realizada uma análise a uma lenhina Kraft que serve apenas como termo de comparação. Na Tabela 4.11 estão sumarizados alguns dos resultados mais relevantes obtidos desta análise.

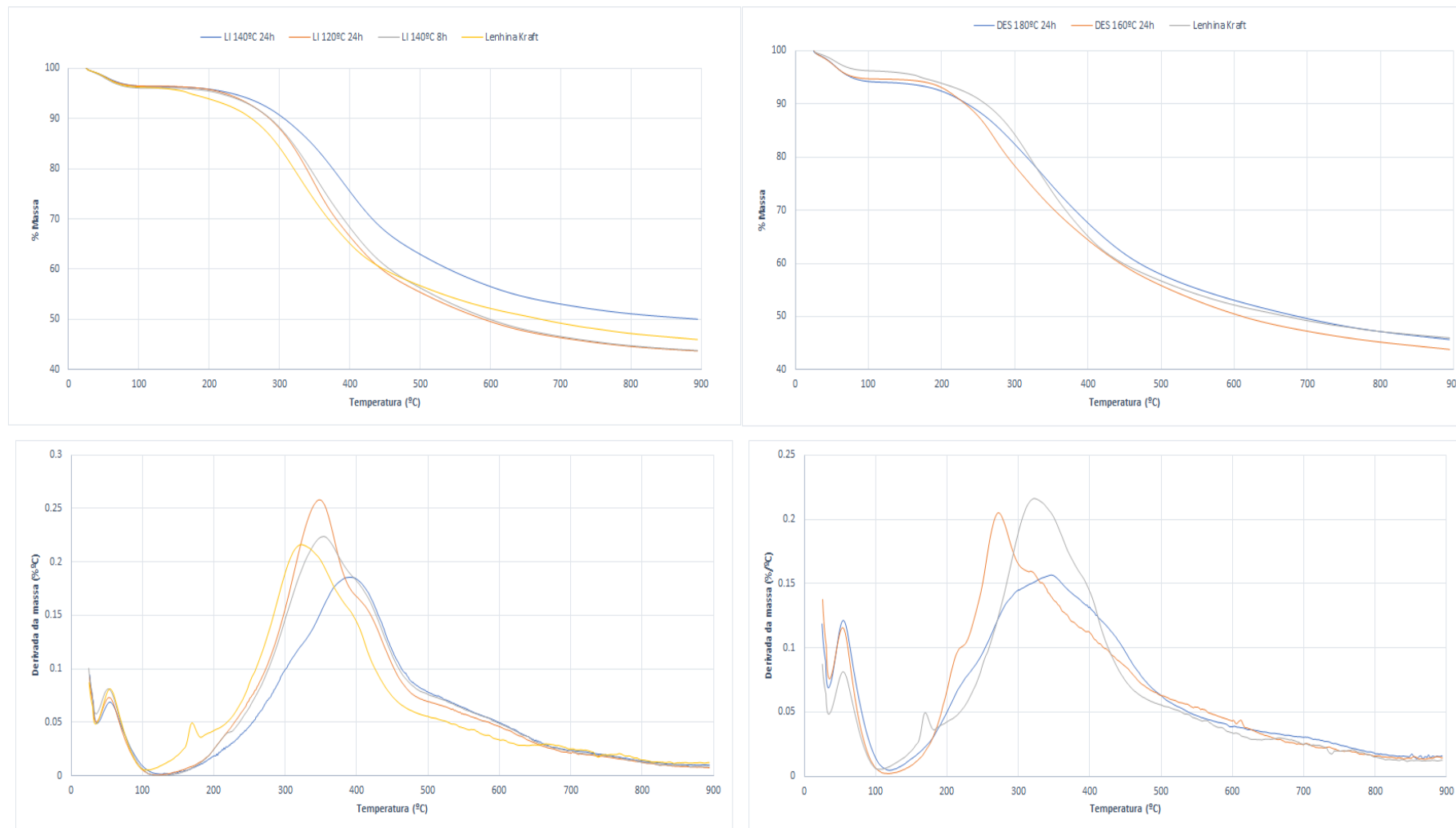


Figura 4.3 - Termogramas e respectivas primeiras derivadas

Relativamente às curvas termograviméticas, é possível perceber que estas são constituídas por dois passos fundamentais, uma perda de massa inicial devida à presença de alguma humidade nas amostras, e uma segunda zona que começa por volta dos 200°C que diz respeito à decomposição térmica das amostras.

É possível ainda perceber que, no caso das amostras extraídas com líquidos iónicos todas elas apresentam uma estabilidade térmica consideravelmente mais elevada que a lenhina Kraft, como se pode testemunhar na curva da derivada referente ao gráfico dos líquidos iónicos. No caso das amostras referentes ao líquido iónico, é ainda possível denotar a tendência de um aumento da estabilidade térmica nas amostras cujas condições de extração foram mais severas.

As amostras de lenhinas referentes ao solvente eutético demonstraram uma mais baixa estabilidade térmica quando comparadas às amostras de lenhinas do líquido iónico. É, no entanto, também visível a correlação entre a estabilidade térmica e o aumento da severidade das condições da extração.

Na Tabela 4. encontram-se sumarizados os valores de temperatura referentes aos pontos de inflexão do termograma (picos da derivada), ou seja, os pontos onde a taxa de degradação térmica atingiu o seu valor máximo, sendo que P1 corresponde ao pico onde é maior a taxa de perda de massa devida à humidade da amostra e P2 diz respeito ao pico onde se atinge a maior taxa de perda de massa referente à decomposição térmica da amostra. É feito também o registo da percentagem mássica no fim do teste e apresentado o cálculo da energia de ativação em duas regiões de temperatura diferentes.

Tabela 4.11 – Principais resultados resultantes da TGA

Amostra	Picos de T (°C)		Máximo da 1º derivada (%/°C)		Energia de ativação (J/mol)		% Sólido final
	P ₁	P ₂	P ₁	P ₂	Zona 1*	Zona 2*	
Lenhina Kraft	55	322	0.081	0.216	27461	35428	45.7
LI 140°C/24h	54	391	0.068	0.185	22841	38250	49.7
LI 140°C/8h	52	354	0.081	0.224	26543	41454	43.7
LI 120°C/24h	53	347	0.073	0.258	29070	44310	43.5
DES 180°C/24h	55	345	0.121	0.157	23773	27182	45.5
DES 160°C/24h	54	271	0.116	0.205	33275	22997	43.4

*Zona 1 – 225-300°C; Zona 2 – 300-400°C

Pelos resultados apresentados na tabela é possível perceber que o pico referente à humidade das amostras se encontra sensivelmente na mesma temperatura para todas as amostras de lenhina. Foi ainda possível verificar que o pico referente à taxa máxima de degradação térmica aparece a um valor de temperatura superior nas amostras obtidas em condições mais drásticas (LI 140°C/24h>LI 140°C/8h>LI 120°C/24h e DES 180°C/24h>> DES

160°C/24h). É ainda de notar que as condições mais drásticas de extração originaram uma percentagem de resíduo final maior, quando comparadas com as demais.

A perda de massa na gama de 200-300°C deveu-se sobretudo à degradação das cadeias laterais da lenhina, enquanto que a maior perda de massa na gama de 300-700°C foi principalmente devido ao rompimento das ligações internas da lenhina, o que leva à formação de voláteis (Lyu *et al.*, 2019).

Foram ainda calculadas as energias de ativação para duas zonas lineares da curva tendo em conta a equação 3.6 sendo possível perceber que as amostras de lenhina provenientes de líquido iónico apresentam valores francamente superiores às amostras do solvente eutético.

4.6 Análise das lenhinas precipitadas por Espectroscopia UV-Vis

De forma a proceder à análise das amostras de lenhina por UV-Vis foram necessárias diversas diluições das mesmas em MgO, visto as lenhinas serem escuras e absorverem bastante na região do visível (refletância extremamente baixa se analisadas tal e qual). A diluição foi feita de forma a atingir um nível de coeficiente k/s entre 1 e 2. Os espectros obtidos encontram-se representados na Figura 4.4, em modo de refletância e em unidades k/s , respetivamente. Para efeitos de comparação também se apresenta o espectro da lenhina kraft de referência.

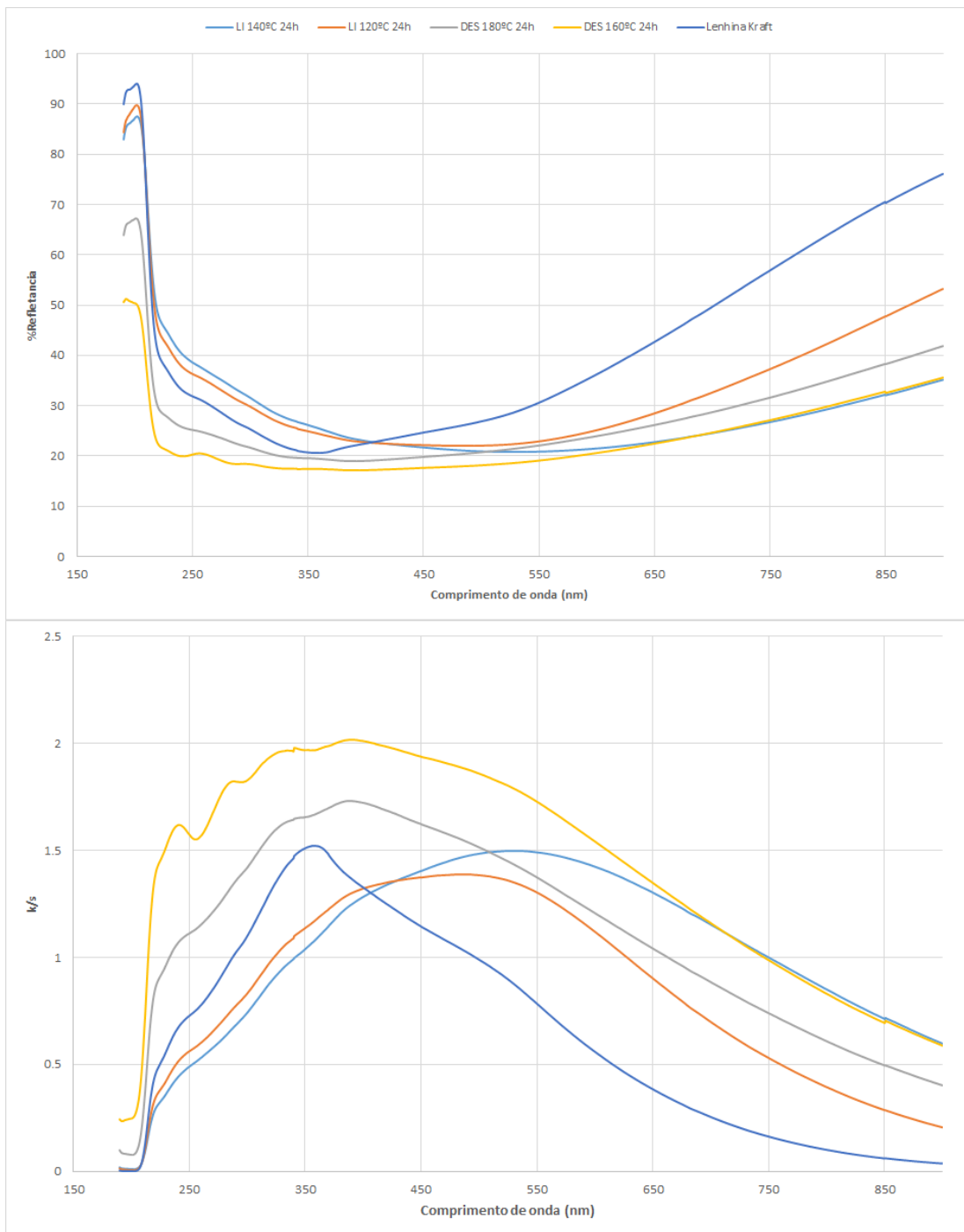


Figura 4. 4 – Espectros UV-Vis obtidos em modo de refletância e em unidades k/s, respectivamente.

Os principais resultados da análise dos espectros apresentados na Figura 4.4 encontram-se sumarizados na Tabela 4.12.

Tabela 4.12 – Máximo de k/s no ultravioleta-visível das amostras de lenhina

Amostra	Máximo de k/s	
	Comprimento de onda (nm)	Unidades k/s
Lenhina Kraft	357	1.52
LI 140°C 24h	528	1.50
LI 120°C 24h	484	1.39
DES 180°C 24h	389	1.73
DES 160°C 24h	391	1.51

Olhando os valores apresentados na tabela, é possível perceber que o comprimento de onda correspondente ao máximo de k/s varia consideravelmente conforme o tipo de lenhina, ou seja, conforme se trate de lenhina extraída com líquido iônico ou com solvente eutético. No caso das lenhinas obtidas com líquido iônico, o valor de k/s máximo é atingido na região de 480-530 nm. Para as lenhinas obtidas com solvente eutético, k/s é máximo a ~390 nm. É ainda notório que todas as lenhinas absorvem mais na região do visível que a lenhina kraft de referência conforme se pode ver pelos espectros apresentados na Figura 4.4 e pelo valor menor do comprimento de onda correspondente ao máximo de k/s apresentado pela lenhina kraft (~360 nm).

5. Conclusões

O trabalho desenvolvido ao longo desta dissertação teve como principal objetivo a extração, isolamento e posterior caracterização da lenhina proveniente da espécie arbórea invasora *Acacia dealbata* para a sua posterior valorização, recorrendo a solventes eutéticos de baixo ponto eutético e a líquidos iónicos.

A primeira etapa consistiu na realização de testes de dissolução da madeira de *Acacia dealbata* (na forma de serradura, fração 0.25-0.84 mm) no líquido iónico [BMIM]MeSO₄ + H₂O e no solvente eutético cloreto de colina+imidazol em diferentes condições de reação. Para o líquido iónico foram consideradas as condições 140°C/24h, 140°C/8h e 120°C/24h, ao passo que, para o solvente eutético, se usaram as condições 180°C/24h, 180°C/8h e 160°C/24h. Relativamente aos ensaios com líquido iónico, verificou-se que, tal como esperado, as condições mais severas de tratamento deram origem aos maiores rendimentos de dissolução, sendo estes à volta de 64.3% para a condição 140°C/24h, 60.9% para a condição 140°C/8h e 55.5% para a condição 120°C/24h. O solvente eutético cloreto de colina+imidazol originou rendimentos de dissolução ligeiramente mais baixos do que o líquido iónico. Para a condição 180°C/24h obteve-se um rendimento de dissolução cerca de 55.0 %, na condição 180°C/8h conseguiu-se um rendimento médio de 50.7% e na de 160°C/24h, um rendimento de 49.0%. É de referir que o líquido iónico apresenta uma menor seletividade para com a lenhina, podendo dissolver outros componentes em simultâneo, pelo que é normal que apresente uma capacidade de dissolução da madeira relativamente maior que a do solvente eutético. No entanto, ambos dissolveram outros componentes da madeira uma vez que a percentagem mássica da lenhina na madeira original era de ~20%.

A segunda etapa do trabalho experimental consistiu na precipitação da lenhina, dissolvida na primeira etapa, com a adição de água destilada que atuou como anti-solvente. O rendimento de precipitação da lenhina foi calculado tendo em conta a massa de lenhina dissolvida, obtida com base na diferença entre a massa de lenhina na madeira original e a massa de lenhina obtida no material rico em celulose não dissolvido. Quanto aos rendimentos de precipitação, em regra geral, estes aumentaram com a severidade das condições de dissolução. No caso do líquido iónico obtiveram-se rendimentos de precipitação médios de 112.4%, 80.9% e 67.8%, para as condições 140°C/24h, 140°C/8h e 120°C/24h, respetivamente. O valor superior a 100% poderia ser justificado com a presença de contaminação por parte do líquido iónico ou pela co-precipitação de outros componentes da madeira dissolvidos, sendo que esta segunda hipótese não foi observada no que respeita aos polissacarídeos. O uso do solvente eutético proporcionou

também rendimentos de precipitação da lenhina consideravelmente elevados, ainda que um pouco inferiores aos do líquido iônico. Foram obtidos rendimentos médios de 98.4%, 68.2% e 75.7% para as condições de 180°C/24h, 180°C/8h e 160°C/24h, respectivamente.

A terceira etapa do trabalho experimental envolveu a determinação da lenhina e de polissacarídeos nas fases sólidas resultantes da precipitação (“lenhinas precipitadas”) tendo por base o método NREL/TP-510-42618. Através deste passo foi possível aferir o elevado grau de pureza das amostras de lenhina isoladas (superior a 83% em todas as amostras para ambos os solventes) e a reduzida percentagem de polissacarídeos das mesmas (inferior a 1% para ambos os solventes).

Posteriormente foi realizada a caracterização das amostras de lenhina precipitada através de técnicas como FTIR, TGA e Espectroscopia UV-Vis.

A partir da observação dos espectros de FTIR foi possível testemunhar a existência de bandas características de lenhina. Percebeu-se que os grupos funcionais das amostras de lenhina eram semelhantes ainda que as condições de extração fossem diferentes. Foi ainda notório para todas as amostras que as bandas típicas da celulose não apareciam no espectro das lenhinas precipitadas.

Através da TGA foi possível recolher informações acerca da estabilidade térmica das lenhinas precipitadas. É de notar que, numa regra geral, as lenhinas provenientes de condições de extração mais severas, apresentaram uma estabilidade térmica maior. A estabilidade térmica apresentou variabilidade também com o tipo de lenhina analisada, já que as amostras provenientes de tratamento com líquido iônico apresentaram tipicamente maior estabilidade térmica que as amostras provenientes de tratamento com o solvente eutético. Além disso, as amostras de lenhina oriundas do tratamento com líquido iônico apresentaram uma estabilidade térmica superior à de lenhina kraft de referência.

Com a espectroscopia UV-Vis, foi possível perceber que as amostras obtidas com extração com líquido iônico se diferenciaram das amostras de lenhina obtidas com extração com solvente eutético: máximos de absorção a cerca de 500 nm e 400 nm, respectivamente. As lenhinas isoladas apresentaram todas um espectro distinto da lenhina kraft, com um máximo de absorção na região do ultravioleta-visível a cerca de 360 nm. Por outras palavras, a cor das lenhinas isoladas no presente trabalho foi mais intensa que a cor da lenhina kraft de referência.

Sugestões para trabalhos futuros:

- Isolar e caracterizar a lenhina obtida de outros tipos de biomassa lenhocelulósica utilizando os mesmos solventes;
- Utilizar água acidificada para a precipitação de lenhina;
- Testar outros tipos de solventes na lavagem do material sólido rico em celulose para se poder substituir o metanol;
- Recuperar e realizar testes com ILs e DESs recuperados;
- Efetuar estudos de *scale-up* e avaliar a viabilidade dos mesmos para implementação industrial;
- Testar possíveis aplicações para a lenhina precipitada.

6. Referências Bibliográficas

- Abbott, A. P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D. L., & Rasheed, R. K. (2004). Deep Eutectic Solvents Formed between and Choline Chloride Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids. *Journal of the American Chemical Society*, *126*(29), 9142–9147. <https://doi.org/10.1021/ja048266j>
- Abranches, D. O., Martins, M. A. R., Silva, L. P., Schaeffer, N., Pinho, S. P., & Coutinho, J. A. P. (2019). Phenolic hydrogen bond donors in the formation of non-ionic deep eutectic solvents: The quest for type V DES. *Chemical Communications*, *55*(69), 10253–10256. <https://doi.org/10.1039/C9CC04846D>
- Aftab, M. N., Iqbal, I., Riaz, F., Karadag, A., & Tabatabaei, M. (2019). Different Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass for Use in Biofuel Production. In Abomohra, A (ed.), *Biomass for Bioenergy: Recent Trends and Future Challenges* (1st ed.). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84995>
- Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., & Levin, D. B. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, *29*(6), 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>
- Almeida, R. O. (2018). *Tratamento da Acacia dealbata com líquidos iônicos e com líquidos eutéicos*. Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química, Universidade de Coimbra.
- Almeida, R. O., Moreira, A., Moreira, D., Pina, M. E., Carvalho, M. G. V. S., Rasteiro, M. G., & Gamelas, J. A. F. (2022). High-performance delignification of invasive tree species wood with ionic liquid and deep eutectic solvent for the production of cellulose-based polyelectrolytes. *RSC Advances*, *12*(7), 3979–3989. <https://doi.org/10.1039/d1ra08410k>
- Alvarez-Vasco, C., Ma, R., Quintero, M., Guo, M., Geleynse, S., Ramasamy, K. K., Wolcott, M., & Zhang, X. (2016). Unique low-molecular-weight lignin with high purity extracted from wood by deep eutectic solvents (DES): A source of lignin for valorization. *Green Chemistry*, *18*(19), 5133–5141. <https://doi.org/10.1039/c6gc01007e>
- Bhaumik, P., & Dhepe, P. L. (2016). Conversion of Biomass into Sugars. In Murzin, D. & Simakova, O. (Eds.), *Biomass Sugars for Non-Fuel Applications* (1st ed., pp. 1-53). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781782622079-00001>

- Brandt, A., Ray, M. J., To, T. Q., Leak, D. J., Murphy, R. J., & Welton, T. (2011). Ionic liquid pretreatment of lignocellulosic biomass with ionic liquid–water mixtures. *Green Chemistry*, 13(9), 2489–2499. <https://doi.org/10.1039/C1GC15374A>
- Brett, C. M. A. (2018). Deep eutectic solvents and applications in electrochemical sensing. *Current Opinion in Electrochemistry*, 10, 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.05.016>
- Broido, A. (1969). A simple, sensitive graphical method of treating thermogravimetric analysis data. *Journal of Polymer Science Part A-2: Polymer Physics*, 7(10), 1761–1773. <https://doi.org/10.1002/pol.1969.160071012>
- Carvalho, G. (1999). *Efeito das variáveis de cozimento nas características químicas de pastas kraft de Eucalyptus globulus* [Tese de doutoramento]. Universidade de Coimbra.
- Catoggio, K. (2022). *ATR Sampling Accessories for the Agilent Cary 630 FTIR Spectrometer*. <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-6858EN.pdf>
- Chen, H., Liu, J., Chang, X., Chen, D., Xue, Y., Liu, P., Lin, H., & Han, S. (2017). A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*, 160, 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.007>
- Chen, Y., & Mu, T. (2019). Application of deep eutectic solvents in biomass pretreatment and conversion. *Green Energy and Environment*, 4(2), 95–115. <https://doi.org/10.1016/j.gee.2019.01.012>
- Chen, Y., Zhang, L., Yu, J., Lu, Y., Jiang, B., Fan, Y., & Wang, Z. (2019). High-purity lignin isolated from poplar wood meal through dissolving treatment with deep eutectic solvents. *Royal Society Open Science*, 6(1), 181757. <https://doi.org/10.1098/rsos.181757>
- Chen, Z., Ragauskas, A., & Wan, C. (2020). Lignin extraction and upgrading using deep eutectic solvents. *Industrial Crops and Products*, 147, 112241. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112241>
- Chen, Z., Reznicek, W. D., & Wan, C. (2018). Deep eutectic solvent pretreatment enabling full utilization of switchgrass. *Bioresource Technology*, 263, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.058>
- Corres, M. A., Zubitur, M., Cortazar, M., & Múgica, A. (2011). Thermal and thermo-oxidative degradation of poly(hydroxy ether of bisphenol-A) studied by TGA/FTIR and TGA/MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 92(2), 407–416. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2011.08.002>
- Cronk, Q. C. B., & Fuller, J. L. (2001). *Plant invaders: The threat to natural ecosystems*. (1st ed.) Chapman and Hall.

- Dahadha, S., Amin, Z., Lakeh, A. A. B., & Elbesshibishy, E. (2017). Evaluation of Different Pretreatment Processes of Lignocellulosic Biomass for Enhanced Biomethane Production. *Energy Fuels*, *31*(10), 10335–10347. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b02045>
- De Oliveira Vigier, K., & Jérôme, F. (2020). Synthesis and Properties. In Ramón, D. J., & Guillena, G. (Eds), *Deep Eutectic Solvents: Synthesis, Properties, and Applications* (1st ed., pp. 1–23). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527818488>
- Den, W., Sharma, V. K., Lee, M., Nadadur, G., & Varma, R. S. (2018). Lignocellulosic Biomass Transformations via Greener Oxidative Pretreatment Processes: Access to Energy and Value-Added Chemicals. *Frontiers in Chemistry*, *6*, 141. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00141>
- Dyamenahalli, K., Famili, A., & Shandas, R. (2015). 3—Characterization of shape-memory polymers for biomedical applications. In L. Yahia (Ed.), *Shape Memory Polymers for Biomedical Applications* (1st ed., pp. 35–63). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-698-2.00003-9>
- Espinoza-Acosta, J. L., Torres-Chávez, P. I., Carvajal-Millán, E., Ramírez-Wong, B. Bello-Pérez, L. A., & Montaña-Leyva, B. (2014). Ionic Liquids and Organic Solvents for Recovering Lignin from Lignocellulosic Biomass. *BioResources*, *9*(2), 3660–3687. <https://doi.org/10.15376/biores.9.2.3660-3687>
- Fengel, D., & Wegener, G. (1984). *Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions* (1st ed.). De Gruyter. <https://doi.org/10.1007/BF02608943>
- Florindo, C., Oliveira, M. M., Branco, L. C., & Marrucho, I. M. (2017). Carbohydrates-based deep eutectic solvents: Thermophysical properties and rice straw dissolution. *Journal of Molecular Liquids*, *247*, 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.09.026>
- Francisco, M., Bruinhorst, A., & Kronn, M. C. (2013). Low-Transition-Temperature Mixtures (LTTMs): A New Generation of Designer Solvents. *Angewandte Chemie International Edition*, *52*(11), 3074–3085. <https://doi.org/10.1002/anie.201207548>
- Francisco, M., van den Bruinhorst, A., & Kroon, M. C. (2012). New natural and renewable low transition temperature mixtures (LTTMs): Screening as solvents for lignocellulosic biomass processing. *Green Chemistry*, *14*(8), 2153–2157. <https://doi.org/10.1039/C2GC35660K>
- Gouveia, S., Fernández-Costas, C., Sanromán, M. A., & Moldes, D. (2012). Enzymatic polymerisation and effect of fractionation of dissolved lignin from Eucalyptus globulus Kraft liquor. *Bioresource Technology*, *121*, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.144>

- Hansen, B. B., Spittle, S., Chen, B., Poe, D., Zhang, Y., Klein, J. M., Horton, A., Adhikari, L., Zelovich, T., Doherty, B. W., Gurkan, B., Maginn, E. J., Ragauskas, A., Dadmun, M., Zawodzinski, T. A., Baker, G. A., Tuckerman, M. E., Savinell, R. F., & Sangoro, J. R. (2020). Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals and Applications. *Chemical Reviews*, *121*(3), 1232–1285. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00385>
- Hayyan, A., Mjalli, F. S., AlNashef, I. M., Al-Wahaibi, T., Al-Wahaibi, Y. M., & Hashim, M. A. (2012). Fruit sugar-based deep eutectic solvents and their physical properties. *Thermochimica Acta*, *541*, 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2012.04.030>
- Heinze, T. (2016). Cellulose: Structure and Properties. In Rojas, O. (eds) *Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials* (pp. 1–52). Springer.
- Hou, Q., Ju, M., Li, W., Liu, L., Chen, Y., & Yang, Q. (2017). Pretreatment of Lignocellulosic Biomass with Ionic Liquids and Ionic Liquid-Based Solvent Systems. *Molecules*, *22*(3), 490. <https://doi.org/10.3390/molecules22030490>
- Hou, X.-D., Lin, K.-P., Li, A.-L., Yang, L.-M., & Fu, M.-H. (2018). Effect of constituents molar ratios of deep eutectic solvents on rice straw fractionation efficiency and the micro-mechanism investigation. *Industrial Crops and Products*, *120*, 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.076>
- Huang, J., Guo, X., Xu, T., Fan, L., Zhou, X., & Wu, S. (2019). Ionic deep eutectic solvents for the extraction and separation of natural products. *Journal of Chromatography A*, *1598*, 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.046>
- Jones, R. R., Hooper, D. C., Zhang, L., Wolverson, D., & Valev, V. K. (2019). Raman Techniques: Fundamentals and Frontiers. *Nanoscale Research Letters*, *14*(1), 231. <https://doi.org/10.1186/s11671-019-3039-2>
- Karimi, K., & Taherzadeh, M. J. (2016). A critical review of analytical methods in pretreatment of lignocelluloses: Composition, imaging, and crystallinity. *Bioresource Technology*, *200*, 1008–1018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.022>
- Kawaguchi, H., Hasunuma, T., Ogino, C., & Kondo, A. (2016). Bioprocessing of bio-based chemicals produced from lignocellulosic feedstocks. *Current Opinion in Biotechnology*, *42*, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.02.031>
- Kim, J. S., Lee, Y. Y., & Kim, T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, *199*, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085>
- Kudłak, B., Owczarek, K., & Namieśnik, J. (2015). Selected issues related to the toxicity of ionic liquids and deep eutectic solvents—A review. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(16), 11975–11992. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4794-y>

- Lavanya, D., Kulkarni, P. K., Dixit, M., Raavi, P. K., & Krishna, L. N. V. (2011). Sources of cellulose and their applications—A review. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 2(6), 19–38.
- Lebo, S. E., Gargulak, J. D., & McNally, T. J. (2002). Lignin. In Mark, H. F. (Ed.), *Encyclopedia of Polymer Science and Technology* (4th ed.). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471238961.12090714120914.a01.pub2>
- Lee, S. H., Doherty, T. V., Linhardt, R. J., & Dordick, J. S. (2009). Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(5), 1368–1376. <https://doi.org/10.1002/bit.22179>
- Leite, J. G. (2008). *Aplicação das Técnicas de Espectroscopia FTIR e de Micro Espectroscopia Confocal Raman à Preservação do Património*. [Tese de doutoramento]. Universidade do Porto.
- Li, H., Li, X., You, T., Li, D., Nawaz, H., Zhang, X., & Xu Feng. (2021). Insights into alkaline choline chloride-based deep eutectic solvents pretreatment for *Populus deltoides*: Lignin structural features and modification mechanism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.134>
- Liao, Y., Op de Beeck, B., Thielemans, K., Ennaert, T., Snelders, J., Dusselier, M., Courtin, C. M., & Sels, B. F. (2020). The role of pretreatment in the catalytic valorization of cellulose. *Molecular Catalysis*, 487, 110883. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2020.110883>
- Liu, Y., Zheng, J., Xiao, J., He, X., Zhang, K., Yuan, S., Peng, Z., Chen, Z., & Lin, X. (2019). Enhanced Enzymatic Hydrolysis and Lignin Extraction of Wheat Straw by Triethylbenzyl Ammonium Chloride/Lactic Acid-Based Deep Eutectic Solvent Pretreatment. *ACS Omega*, 4(22), 19829–19839. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02709>
- Loow, Y.-L., New, E. K., Yang, G. H., Ang, L. Y., Foo, L. Y. W., & Wu, T. Y. (2017). Potential use of deep eutectic solvents to facilitate lignocellulosic biomass utilization and conversion. *Cellulose*, 24(9), 3591–3618. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1358-y>
- Lyu, G., Li, T., Ji, X., Yang, G., Liu, Y., Lucia, L. A., & Chen, J. (2018). Characterization of Lignin Extracted from Willow by Deep Eutectic Solvent Treatments. *Polymers*, 10(8), 869. <https://doi.org/10.3390/polym10080869>

- Lyu, G., Wu, Q., Li, T., Jiang, W., Ji, X., & Yang, G. (2019). Thermochemical properties of lignin extracted from willow by deep eutectic solvents (DES). *Cellulose*, 26(15), 8501–8511. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02489-8>
- MacFarlane, D. R., Tachikawa, N., Forsyth, M., Pringle, J. M., Howlett, P. C., Elliott, G. D., Davis, J. H., Watanabe, M., Simon, P., & Angell, C. A. (2014). Energy applications of ionic liquids. *Energy Environ. Sci.*, 7(1), 232–250. <https://doi.org/10.1039/c3ee42099j>
- Mankar, A. R., Pandey, A., Modak, A., & Pant, K. K. (2021). Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. *Bioresource Technology*, 334, 125235. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125235>
- Marchante, H., Marchante, E., & Freitas, H. (2003). Invasion of the Portuguese dune ecosystems by the exotic species *Acacia longifolia* (Andrews) Willd.: Effects at the community level. In Rejmánek, M. (Ed.), *Plant Invasions: Ecological Threats and Management Solutions* (1st ed., pp. 75–85). Backhuys Publishers.
- Mirmohamadsadeghi, S., Chen, Z., & Wan, C. (2016). Reducing biomass recalcitrance via mild sodium carbonate pretreatment. *Bioresource Technology*, 209, 386–390. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.096>
- Moreira, A. C. (2021). *Fracionamento de madeira de Acacia Dealbata com líquidos iônicos e solventes eutéticos para a sua valorização*. Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química, Universidade de Coimbra.
- Moreira, L. R. S., & Filho, E. X. F. (2008). An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. *Applied Microbiology Biotechnology*, 79, 165–178. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1423-4>
- Nitsos, C., Rova, U., & Christakopoulos, P. (2018). Organosolv Fractionation of Softwood Biomass for Biofuel and Biorefinery Applications. *Energies*, 11(1), 50. <https://doi.org/10.3390/en11010050>
- Pensri, B., Aggarangsi, P., Chaiyaso, T., & Chandet, N. (2016). Potential of Fermentable Sugar Production from Napier cv. Pakchong 1 Grass Residue as a Substrate to Produce Bioethanol. *Energy Procedia*, 89, 428–436. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2016.06.287>
- D’Almeida, M. L. O. (1988). Composição química dos materiais lignocelulósicos. In Philipp, P., & d’Almeida, M. L. O. (Eds.), *Celulose e Papel—Tecnologia de fabricação de pasta celulósica* (2nd ed., pp. 45–105). IPT.
- Procentese, A., Johnson, E., Orr, V., Campanille, A. G., Wood, J. A., Marzocchella, A., & Rehmann, L. (2015). Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent

- saccharification of corncob. *Bioresource Technology*, 192, 31–36.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.053>
- Pu, Y., Jiang, N., & Ragauskas, A. J. (2007). Ionic Liquid as a Green Solvent for Lignin. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 27(1), 23–33.
<https://doi.org/10.1080/02773810701282330>
- Radhakrishnan, R., Patra, P., Das, M., & Ghosh, A. (2021). Recent advancements in the ionic liquid mediated lignin valorization for the production of renewable materials and value-added chemicals. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 149, 111368.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111368>
- Rajisha, K. R., Deepa, B., Pothan, L. A., & Thomas, S. (2011). 9—Thermomechanical and spectroscopic characterization of natural fibre composites. In N. E. Zafeiropoulos (Ed.), *Interface Engineering of Natural Fibre Composites for Maximum Performance* (pp. 241–274). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857092281.2.241>
- Raposo, M. A. M., Pinto Gomes, C. J., & Nunes, L. J. R. (2021). Evaluation of Species Invasiveness: A Case Study with *Acacia dealbata* Link. on the Slopes of Cabeça (Seia-Portugal). *Sustainability*, 13(20), 11233.
<https://doi.org/10.3390/su132011233>
- Rashid, T., Kait, C. F., & Murugesan, T. (2016). A “Fourier Transformed Infrared” Compound Study of Lignin Recovered from a Formic Acid Process. *Procedia Engineering*, 148, 1312–1319. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.06.547>
- Rastogi, M., & Shrivastava, S. (2017). Recent advances in second generation bioethanol production: An insight to pretreatment, saccharification and fermentation processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 80, 330–340.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.225>
- Ren, H., Chen, C., Wang, Q., Zhao, S., & Guo, S. (2016). The properties of choline chloride-based deep eutectic solvents and their performance in the dissolution of cellulose. *BioResources*, 11(2), 5435–5451. <https://doi.org/10.15376/biores.11.2.5435-5451>
- Saha, B. C. (2003). Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 279–291. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0049-x>
- Shamshina, J. L., Zavgorodnya, O., & Rogers, R. D. (2018). Ionic Liquids. In *Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* (3rd ed, pp. 218–225). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.13931-9>
- Shen, X.-J., Wen, J.-L., Mei, Q.-Q., Chen, X., Sun, D., Yuan, T.-Q., & Sun, R.-C. (2019). Facile fractionation of lignocelluloses by biomass-derived deep eutectic solvent (DES)

- pretreatment for cellulose enzymatic hydrolysis and lignin valorization. *Green Chemistry*, *21*(2), 275–283. <https://doi.org/10.1039/c8gc03064b>
- Shrotri, A., Kobayashi, H., & Fukuoka, A. (2017). Catalytic Conversion of Structural Carbohydrates and Lignin to Chemicals. *Advances in Catalysis*, *60*, 59–123. <https://doi.org/10.1016/bs.acat.2017.09.002>
- Sjöström, E. (1993). *Wood: Chemistry Fundamentals and Applications* (2nd ed.). Academic Press inc.
- Skrebets, T. E. (2018). Physicochemical Properties and Structure of 1-Butyl-3-Methylimidazolium Methyl Sulfate. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, *92*(4), 746–748. <https://doi.org/10.1134/S0036024418040283>
- Smith, E. L., Abbot, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications. *Chemical Reviews*, *114*(21), 11060–11082. <https://doi.org/10.1021/cr300162p>
- Sousa, S., Ramos, A., Evtuguin, D. V., & Gamelas, J. A. F. (2016). Xylan and xylan derivatives—Their performance in bio-based films and effect of glycerol addition. *Industrial Crops and Products*, *94*, 682–689. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.031>
- Stark, N. M., Yelle, D. J., & Agarwal, U. P. (2015). Techniques for Characterizing Lignin. In: Omar, F., Mohini, S. Eds. *Lignin in Polymer Composites* (pp: 49-66). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35565-0.00004-7>
- Stuart, B. H. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications* (1st ed). Wiley. <https://doi.org/10.1002/0470011149>
- Su, Y., Huang, C., Lai, C., & Yong, Q. (2021). Green solvent pretreatment for enhanced production of sugars and antioxidative lignin from poplar. *Bioresource Technology*, *321*, 124471. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124471>
- Sun, N., Rahman, M., Qin, Y., Maxim, M. L., Rodríguez, H., & Rogers, R. D. (2009). Complete dissolution and partial delignification of wood in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate. *Green Chemistry*, *11*(5), 646-655. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c02221>
- Synetos, A., & Tousoulis, D. (2018). Chapter 3.5.2—Invasive Imaging Techniques. In Tousoulis, D. (Ed.), *Coronary Artery Disease* (pp. 359–376). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811908-2.00018-0>
- Takkellapati, S., Li, T., & Gonzalez, M. A. (2018). An overview of biorefinery-derived platform chemicals from a cellulose and hemicellulose biorefinery. *Clean Technologies*

- and Environmental Policy*, 20(7), 1615–1630. <https://doi.org/10.1007/s10098-018-1568-5>
- Tomé, L. I. N., Baião, V., da Silva, W., & Brett, C. M. A. (2018). Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. *Applied Materials Today*, 10, 30–50. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.11.005>
- Torres, L. A. Z., Woiciechowski, A. L., Tanobe, V. O. A., Karp, S. G., Lorenci, L. C. G, Faulds, C., & Soccol, C. R. (2020). Lignin as a potential source of high-added value compounds: A review. *Journal of Cleaner Production*, 263, 121499. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121499>
- Uva, J. S. (2015). *6º Inventário nacional florestal*. Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas. <https://www.icnf.pt/api/file/doc/5b9b8e9a51fd0792>
- Vigier, K. D. O., Chatel, G., & Jérôme, F. (2015). Contribution of Deep Eutectic Solvents for Biomass Processing: Opportunities, Challenges, and Limitations. *ChemCatChem*, 7(8), 1250–1260. <https://doi.org/10.1002/cctc.201500134>
- Wang, H., & Chu, P. K. (2013). Chapter 4—Surface Characterization of Biomaterials. In A. Bandyopadhyay & S. Bose (Eds.), *Characterization of Biomaterials* (1st ed., pp. 105–174). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415800-9.00004-8>
- Wang, H., Gurau, G., & Rogers, R. D. (2012). Ionic liquid processing of cellulose. *Chemical Society Reviews*, 41(4), 1519–1537. <https://doi.org/10.1039/C2CS15311D>
- Wang, S., Su, S., Xiao, L.-P., Wang, B., Sun, R.-C., & Song, G. (2020). Catechyl Lignin Extracted from Castor Seed Coats Using Deep Eutectic Solvents: Characterization and Depolymerization. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(18), 7031–7038. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c00462>
- Yoo, C. G., Pu, Y., & Ragauskas, A. J. (2017). Ionic liquids: Promising green solvents for lignocellulosic biomass utilization. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 5, 5–11. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2017.03.003>
- Zhang, C.-W., Xia, S.-Q., & Ma, P.-S. (2016). Facile pretreatment of lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents. *Bioresource Technology*, 219, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.026>
- Zhang, Q., Benoit, M., Vigier, K. O., Barrault, J., & Jérôme, F. (2012). Green and Inexpensive Choline-Derived Solvents for Cellulose Decrystallization. *Chemistry - A European Journal*, 18(4), 1043–1046. <https://doi.org/10.1002/chem.201103271>
- Zhang, Q., Vigier, K. O., Royer, S., & Jérôme, F. (2012). Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41(21), 7108–7146. <https://doi.org/10.1039/c2cs35178a>

- Zhao, Z., Chen, X., Ali, M. F., Abdeltawab, A. A., Yakout, S. M., & Yu, G. (2018). Pretreatment of wheat straw using basic ethanolamine-based deep eutectic solvents for improving enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 263, 325–333. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.016>
- Zhou, M., Fakayode, O. A., Yagoub, A. E. A., Ji, Q., & Zhou, C. (2022). Lignin fractionation from lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents and its valorization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 156, 111986. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111986>
- Zhu, X., Peng, C., Chen, H., Chen, Q., Zhao, Z. K., Zheng, Q., & Xie, H. (2018). Opportunities of Ionic Liquids for Lignin Utilization from Biorefinery. *ChemistrySelect*, 3(27), 7945–7962. <https://doi.org/10.1002/slct.201801393>

Anexos

Anexo I – Procedimentos experimentais utilizados na caracterização química das amostras

Nesta secção, são apresentados os protocolos normalmente usados no Departamento de Engenharia Química.

Determinação do teor de secura

1. Introduzir uma caixa de pesagem na balança (analítica, precisão <1mg) e tarar (levar a zero).
2. Pesar ~ 1 g, em base seca, de uma amostra de madeira, numa caixa de pesagem e registar o valor numa folha de registo.
3. Colocar a caixa destapada (e a tampa) na estufa à temperatura de $105 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante a noite.
4. Depois de seca, colocar a caixa, tapada, dentro de um exsiccador; deixar arrefecer as caixas durante 20 a 30 min à temperatura ambiente.
5. Após o arrefecimento, abre-se a tampa do exsiccador, destapa-se a caixa de pesagem e pesa-se a caixa com a amostra da madeira numa balança analítica previamente tarada.
6. Retira-se a madeira dentro da caixa, retirando-se o seu conteúdo e pesa-se novamente a caixa vazia.
7. O teor de secura (decimal) é obtido através da Equação I.1 pela razão entre a massa de madeira seca (mms) sobre a massa de madeira húmida (mmh):

$$\text{Teor de secura } \left(\% \frac{m}{m} \right) = \frac{mms}{mmh} \times 100 \quad (\text{Eq. I.1})$$

8. Realizar o ensaio em duplicado e determinar a média dos valores obtidos. A humidade, em percentagem, é determinada pela seguinte forma: $100 \times (1 - \text{teor de secura decimal})$.

Determinação da lenhina e hidratos de carbono

Hidrólise ácida

1. Introduzir um cadinho filtrante de vidro na estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante cerca de 4 horas.
2. Pesar 300.0 ± 0.01 mg, aproximadamente, de amostra de lenhina extraída num tubo de centrifuga.

3. Adicionar 3.00 ± 0.01 mL de ácido sulfúrico a 72% (m/m) no tubo e misturar. Colocar o tubo num banho de água a 30 ± 3 °C durante 60 minutos e agitar a cada 10 minutos, sem retirar a amostra do banho.
4. Remover o tubo do banho e verter o seu conteúdo para um frasco autoclavável, onde se dilui o ácido sulfúrico para 4% (m/m) pela adição de 84.00 ± 0.01 g de água ultrapura.
5. Introduzir o frasco na autoclave a 121°C durante uma hora.
6. Retirar o frasco da autoclave e deixar-se a precipitar durante a noite.
7. Filtrar no dia seguinte o seu conteúdo a vácuo usando o cadinho filtrante previamente seco e tarado. Armazenar o filtrado recolhido num frasco e levar ao frigorífico.
8. Lavar com aproximadamente 50 mL de água destilada morna (diminui o tempo de filtração) o frasco retirado da autoclave, de forma a remover todos os sólidos presentes, e filtrar através do cadinho.

Determinação da lenhina insolúvel

1. Introduzir o cadinho filtrante de vidro com os resíduos na estufa a 105 ± 3 °C durante a noite.
2. Retirar o cadinho da estufa, colocá-lo num exsiccador durante 20 minutos e pesá-lo.
3. A percentagem de lenhina insolúvel é determinada pela razão entre a massa de lenhina insolúvel ($m_{\text{lenhina insolúvel}}$) e a massa de amostra seca (m_{as}) a multiplicar por 100. A massa de lenhina insolúvel é dada pela Equação 3.3.
4. Realizar este procedimento em duplicado e fazer a média da lenhina insolúvel obtida.

Determinação da lenhina solúvel

1. Introduzir 1 mL (0.1mL no caso da lenhina de solvente eutético) do filtrado recolhido na etapa 7 da hidrólise ácida num tubo de ensaio e adicionar 9 mL (9.9 mL no caso da lenhina de solvente eutético) de água ultrapura, agitando de seguida (fator de diluição de 1:10 e 1:100, respetivamente).
2. Noutro tubo de ensaio colocar 1 mL (0.1mL no caso da lenhina de solvente eutético) de ácido sulfúrico a 4% e adicionar 9 mL (9.9 mL no caso da lenhina de solvente eutético) de água ultrapura (branco).
3. A partir de uma célula de quartzo, medir a absorvância da amostra contida em cada tudo no espectrofotómetro a 205 nm. A medição deve ser feita no máximo até 6 horas após a realização da hidrólise ácida.

4. A lenhina solúvel é determinada pela relação entre a absorvância a 205 nm (Abs), o fator de diluição utilizado, o volume de hidrolisado ($V_{\text{Hidrolisado}}=87 \text{ mL}$), a absortividade, ϵ , da lenhina ($110 \text{ L}/(\text{g cm})$), o comprimento da célula ($b=1 \text{ cm}$) e a massa de amostra seca. Esta percentagem é calculada através da seguinte Equação 3.4.
5. Realizar este procedimento em duplicado e fazer a média da lenhina solúvel obtida.
6. A lenhina total é dada pela soma da lenhina insolúvel com a solúvel.

Determinação dos monossacarídeos

1. Realizar a neutralização das amostras, usando carbonato de cálcio (CaCO_3), cerca de 15 a 20 mL do filtrado (filtrado obtido no passo 7 da hidrólise ácida) para cada amostra até atingir um pH entre 5 e 6.
2. deixar sedimentar o precipitado e fazer a decantação do líquido e filtrar com um filtro de seringa de nylon com 25 mm de diâmetro e $0,2 \mu\text{m}$ de porosidade (Phenomenex), antes da sua injeção (volume de $20 \mu\text{m}$).
3. Realizar a injeção da amostra no HPLC, deve ser efetuada com um tempo de injeção entre amostras de cerca de uma hora para verificar se para além dos hidratos de carbono também existe furfural ou hidroximetilfurfural (produtos de degradação da xilose e da glucose, respetivamente), uma vez que estes compostos possuem maiores tempos de retenção.
4. A percentagem de hidratos de carbono presentes na amostra é determinada pela Eq. 3.5. É necessário ter em conta a concentração dos monossacarídeos obtida por HPLC (C_{HPLC}), o volume de hidrolisado, o fator de correção anidro (f_c) e a massa seca. O valor de f_c varia conforme se trata de uma pentose (xilose e arabinose) ou a uma hexose (glucose, manose e galactose), sendo: f_c (pentoses) = 0.88 e f_c (hexoses) = 0.90.

Os monossacarídeos foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) utilizando um equipamento (Knauer, modelo K301) acoplado um detetor de índice de refração. As curvas de calibração usadas para a glucose e xilose, estão representadas na Figura I.1.

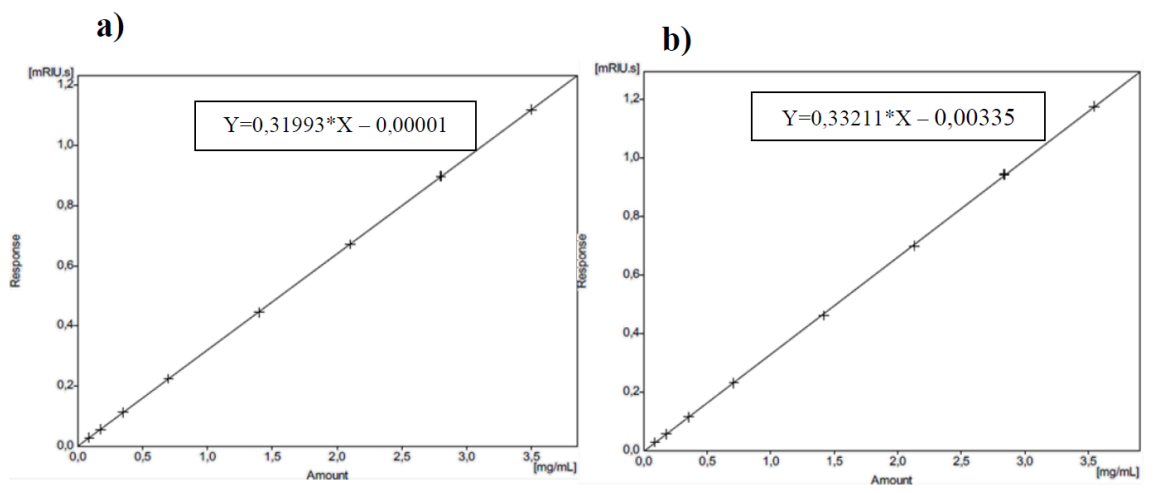


Figura I. 1 - Curva de Calibração da Glucose a) e da Xilose b).

Anexo II – Extrações de lenhina realizadas

Extração de lenhina recorrendo ao Líquido Iônico

Tabela II. 1 – Extrações de lenhina recorrendo ao líquido iónico [BMIM] MeSO₄

Amostra	Solvente	t(h)	T(°C)	Rendimento de dissolução (%)	Média	Massa de lenhina dissolvida (g)	Massa de material precipitado (g)	Rendimento de precipitação (%)																																																																																																						
LI1	[BMIM]	8	140	59.73	59.7±0.04	0.3611	0.3953	109.5																																																																																																						
LI2	MeSO ₄			59.68					LI3	[BMIM]	8	140	60.42	60.9±0.68	0.3654	0.3979	108.9	LI4	MeSO ₄	61.38	LI5	[BMIM]	8	140	62.24	62.08±0.23	0.3661	0.2983	81.5	LI6	MeSO ₄	61.92	LI17	[BMIM]	8	140	61.19	60.61±0.82	0.3631	0.2885	79.5	LI18	MeSO ₄	60.02	LI31	[BMIM]	8	140	61.01	59.85±1.64	0.3615	0.2957	81.8	LI32	MeSO ₄	58.69	LI7	[BMIM]	24	140	60.80	62.44±2.32	0.3750	0.4557	121.5	LI8	MeSO ₄	64.09	LI9	[BMIM]	24	140	63.33	62.79±0.76	0.3793	0.3666	96.7	LI10	MeSO ₄	62.25	LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4	LI14	MeSO ₄	63.27	LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06
LI3	[BMIM]	8	140	60.42	60.9±0.68	0.3654	0.3979	108.9																																																																																																						
LI4	MeSO ₄			61.38					LI5	[BMIM]	8	140	62.24	62.08±0.23	0.3661	0.2983	81.5	LI6	MeSO ₄	61.92	LI17	[BMIM]	8	140	61.19	60.61±0.82	0.3631	0.2885	79.5	LI18	MeSO ₄	60.02	LI31	[BMIM]	8	140	61.01	59.85±1.64	0.3615	0.2957	81.8	LI32	MeSO ₄	58.69	LI7	[BMIM]	24	140	60.80	62.44±2.32	0.3750	0.4557	121.5	LI8	MeSO ₄	64.09	LI9	[BMIM]	24	140	63.33	62.79±0.76	0.3793	0.3666	96.7	LI10	MeSO ₄	62.25	LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4	LI14	MeSO ₄	63.27	LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14						
LI5	[BMIM]	8	140	62.24	62.08±0.23	0.3661	0.2983	81.5																																																																																																						
LI6	MeSO ₄			61.92					LI17	[BMIM]	8	140	61.19	60.61±0.82	0.3631	0.2885	79.5	LI18	MeSO ₄	60.02	LI31	[BMIM]	8	140	61.01	59.85±1.64	0.3615	0.2957	81.8	LI32	MeSO ₄	58.69	LI7	[BMIM]	24	140	60.80	62.44±2.32	0.3750	0.4557	121.5	LI8	MeSO ₄	64.09	LI9	[BMIM]	24	140	63.33	62.79±0.76	0.3793	0.3666	96.7	LI10	MeSO ₄	62.25	LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4	LI14	MeSO ₄	63.27	LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14																		
LI17	[BMIM]	8	140	61.19	60.61±0.82	0.3631	0.2885	79.5																																																																																																						
LI18	MeSO ₄			60.02					LI31	[BMIM]	8	140	61.01	59.85±1.64	0.3615	0.2957	81.8	LI32	MeSO ₄	58.69	LI7	[BMIM]	24	140	60.80	62.44±2.32	0.3750	0.4557	121.5	LI8	MeSO ₄	64.09	LI9	[BMIM]	24	140	63.33	62.79±0.76	0.3793	0.3666	96.7	LI10	MeSO ₄	62.25	LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4	LI14	MeSO ₄	63.27	LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14																														
LI31	[BMIM]	8	140	61.01	59.85±1.64	0.3615	0.2957	81.8																																																																																																						
LI32	MeSO ₄			58.69					LI7	[BMIM]	24	140	60.80	62.44±2.32	0.3750	0.4557	121.5	LI8	MeSO ₄	64.09	LI9	[BMIM]	24	140	63.33	62.79±0.76	0.3793	0.3666	96.7	LI10	MeSO ₄	62.25	LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4	LI14	MeSO ₄	63.27	LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14																																										
LI7	[BMIM]	24	140	60.80	62.44±2.32	0.3750	0.4557	121.5																																																																																																						
LI8	MeSO ₄			64.09					LI9	[BMIM]	24	140	63.33	62.79±0.76	0.3793	0.3666	96.7	LI10	MeSO ₄	62.25	LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4	LI14	MeSO ₄	63.27	LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14																																																						
LI9	[BMIM]	24	140	63.33	62.79±0.76	0.3793	0.3666	96.7																																																																																																						
LI10	MeSO ₄			62.25					LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4	LI14	MeSO ₄	63.27	LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14																																																																		
LI13	[BMIM]	24	140	64.17	63.74±0.64	0.3731	0.4230	113.4																																																																																																						
LI14	MeSO ₄			63.27					LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4	LI16	MeSO ₄	64.41	LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14																																																																														
LI15	[BMIM]	24	140	65.53	64.97±0.80	0.3767	0.4197	111.4																																																																																																						
LI16	MeSO ₄			64.41					LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0	LI36	MeSO ₄	62.14																																																																																										
LI35	[BMIM]	24	140	62.06	62.1±0.06	0.3705	0.4114	111.0																																																																																																						
LI36	MeSO ₄			62.14																																																																																																										

LI19	[BMIM]	24	120	55.21	56.03±1.16	0.3545	0.2072	58.4
LI20	MeSO4			56.84				
LI21	[BMIM]	24	120	57.95	57.20±1.06	0.3553	0.2945	82.9
LI22	MeSO4			56.45				
LI23	[BMIM]	24	120	55.83	55.14±0.97	0.3550	0.1750	49.3
LI24	MeSO4			54.45				
LI25	[BMIM]	24	120	55.94	56.33±0.55	0.3524	0.2376	67.4
LI26	MeSO4			56.72				
LI27	[BMIM]	24	120	54.09	54.03±0.08	0.3519	0.2391	67.9
LI28	MeSO4			53.98				
LI29	[BMIM]	24	120	53.64	54.41±1.09	0.3527	0.2325	65.9
LI30	MeSO4			55.18				
LI33	[BMIM]	24	120	57.37	57.35±0.03	0.3558	0.2490	70.0
LI34	MeSO4			57.33				
LI37	[BMIM]	24	120	56.62	56.87±0.36	0.3546	0.2388	67.3
LI38	MeSO4			57.13				
LI39	[BMIM]	24	120	57.87	58.12±0.35	0.3559	0.2549	71.6
LI40	MeSO4			58.37				

Extração de lenhina recorrendo ao Solvente eutético

Tabela II. 2 - Extrações de lenhina recorrendo ao solvente eutético ChCl + Imidazol

Amostra	Solvente	t(h)	T(°C)	Rendimento de dissolução (%)	Média	Massa de lenhina dissolvida	Massa de material precipitado (g)	Rendimento de precipitação (%)
SE3	ChCl + Imidazol	24	180	55.81	55.21±0.85	0.3650	0.3680	100.8
SE4				54.60				
SE1	ChCl + Imidazol	24	180	54.47	55.02±0.78	0.3657	0.3609	98.7
SE5				55.57				
SE7	ChCl + Imidazol	24	180	54.77	55.09±0.45	0.3681	0.3641	98.9
SE8				55.41				
SE9	ChCl + Imidazol	24	180	55.56	54.86±1.00	0.3618	0.3618	97.8
SE10				54.15				
SE11	ChCl + Imidazol	24	160	48.88	49.00±0.18	0.3327	0.2529	76.0
SE12				49.12				
SE13	ChCl + Imidazol	24	160	49.37	49.43±0.09	0.3347	0.2619	78.2
SE14				49.49				
SE25	ChCl + Imidazol	24	160	47.96	47.89±0.09	0.3307	0.1848	55.9
SE26				47.83				
SE29	ChCl + Imidazol	24	160	48.21	48.67±0.65	0.3348	0.2440	72.9
SE30				49.13				
SE31	ChCl + Imidazol	24	160	48.23	47.97±0.43	0.3333	0.2461	73.9
SE32				47.63				
SE33	ChCl + Imidazol	24	160	51.76	50.54±1.72	0.3382	0.2511	74.3
SE34				49.32				
SE15	ChCl + Imidazol	8	180	50.75	50.95±0.29	0.3574	0.2092	58.5
SE16				51.16				
SE17	ChCl + Imidazol	8	180	50.57	51.71±1.22	0.3501	0.2448	69.9
SE18				52.86				
SE19		8	180	48.42	47.85±0.79	0.3470	0.1902	54.8

SE20	ChCl + Imidazol			47.29				
SE21	ChCl +	8	180	50.38	49.42±1.35	0.3497	0.1768	50.6
SE22	Imidazol			48.47				
SE23	ChCl +	8	180	47.79	49.29±2.13	0.3530	0.2370	67.1
SE24	Imidazol			50.80				
SE27	ChCl +	8	180	52.07	51.21±1.22	0.3500	0.2362	67.5
SE28	Imidazol			50.35				

Anexo III – Amostras utilizadas para os diferentes testes

Tabela III.1 – Diferentes amostras utilizadas na realização de todos os testes.

Teste	Condição	Amostras utilizadas
Determinação da lenhina/ Determinação dos polissacarídeos	LI 140°C 24h	LI 13, 14, 15 e 16
	LI 120°C 24h	LI 25, 26, 27, 28, 29, 30, 33 e 34
	LI 140°C 8h	LI 5, 6, 17, 18, 31 e 32
	DES 180°C 24h	SE 7, 8, 9 e 10
	DES 160°C 24h	SE 11, 12, 13, 14, 29 e 30
	DES 180°C 8h	SE 17, 18, 23, 24, 27 e 28
FTIR	LI 140°C 24h	LI 13, 14, 15 e 16
	LI 120°C 24h	LI 25, 26, 27, 28, 29, 30, 33 e 34
	LI 140°C 8h	LI 5, 6, 17, 18, 31 e 32
	DES 180°C 24h	SE 7, 8, 9 e 10
	DES 160°C 24h	SE 11, 12, 13, 14, 29 e 30
	DES 180°C 8h	Não realizada
TGA	LI 140°C 24h	LI 13, 14, 15 e 16
	LI 120°C 24h	LI 25, 26, 27, 28, 29, 30, 33 e 34
	LI 140°C 8h	LI 5, 6, 17, 18, 31 e 32
	DES 180°C 24h	SE 7, 8, 9 e 10
	DES 160°C 24h	SE 11, 12, 13, 14, 29 e 30
	DES 180°C 8h	Não realizada
Espectroscopia UV-Vis	LI 140°C 24h	LI 35 e 36
	LI 120°C 24h	LI 37 e 38
	LI 140°C 8h	Não realizada
	DES 180°C 24h	SE 7, 8, 9 e 10
	DES 160°C 24h	SE 11, 12, 13, 14, 29 e 30
	DES 180°C 8h	Não realizada

Anexo IV – Espetros de HPLC

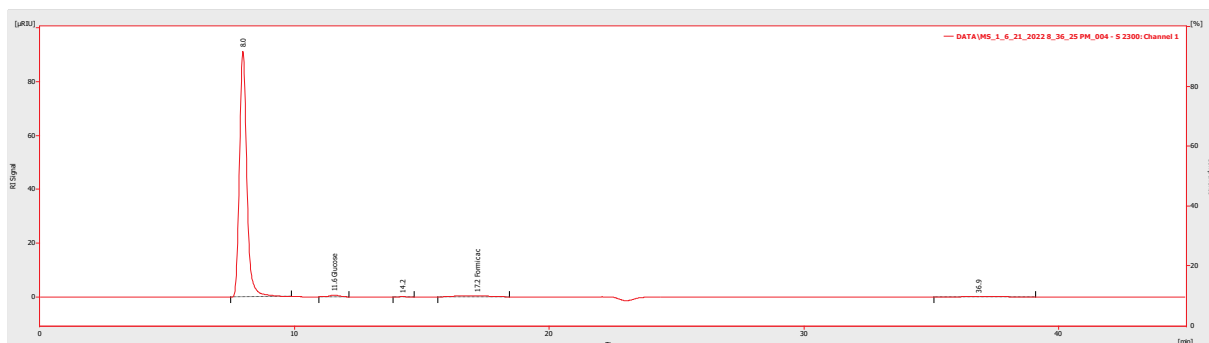


Figura IV. 1 – Espetro referente às amostras LI 13 e 14 (140°C 24h)

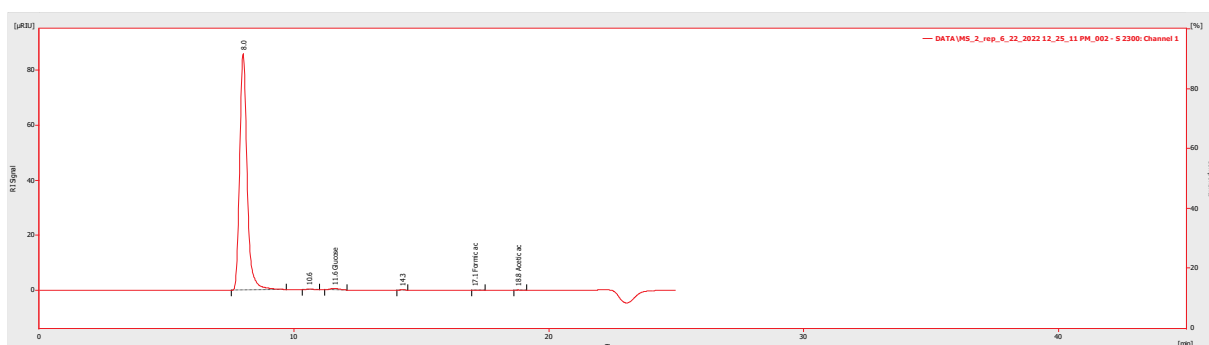


Figura IV. 2 - Espetro referente às amostras LI 15 e 16 (140°C 24h)

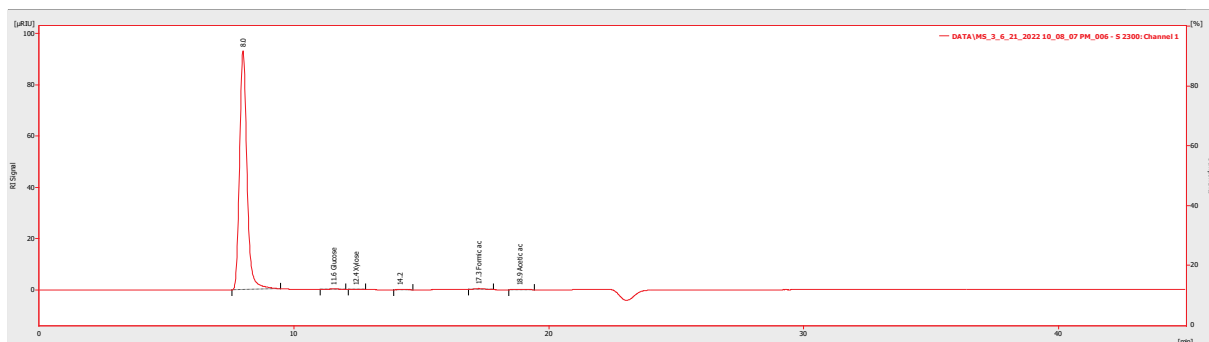


Figura IV. 3 - Espetro referente às amostras SE 7 e 8 (180°C 24h)

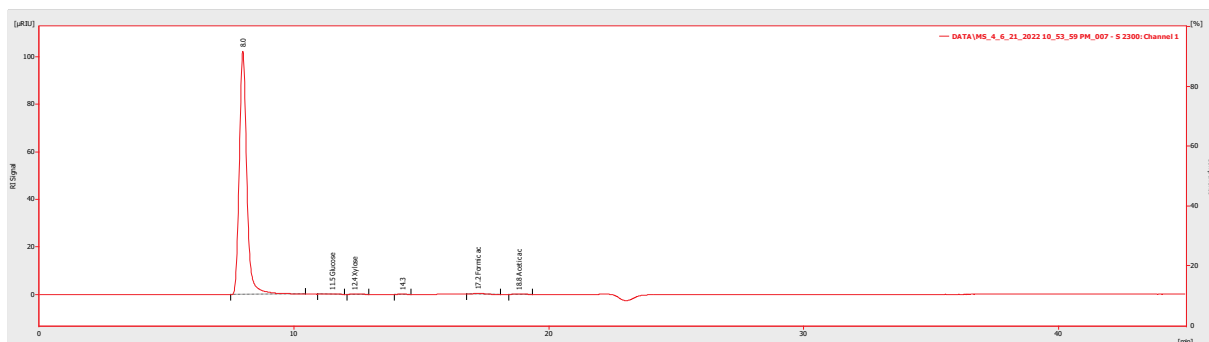


Figura IV. 4 - Espetro referente às amostras SE 9 e 10 (180°C 24h)

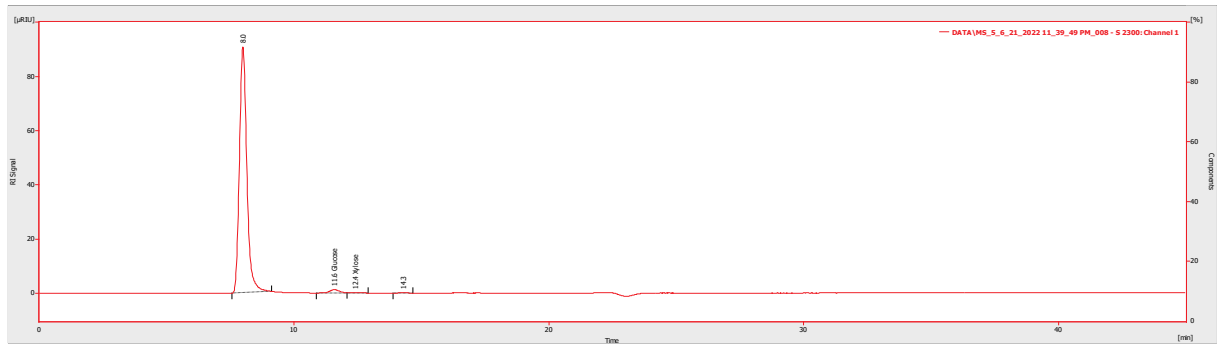


Figura IV. 5 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição LI 120°C 24h

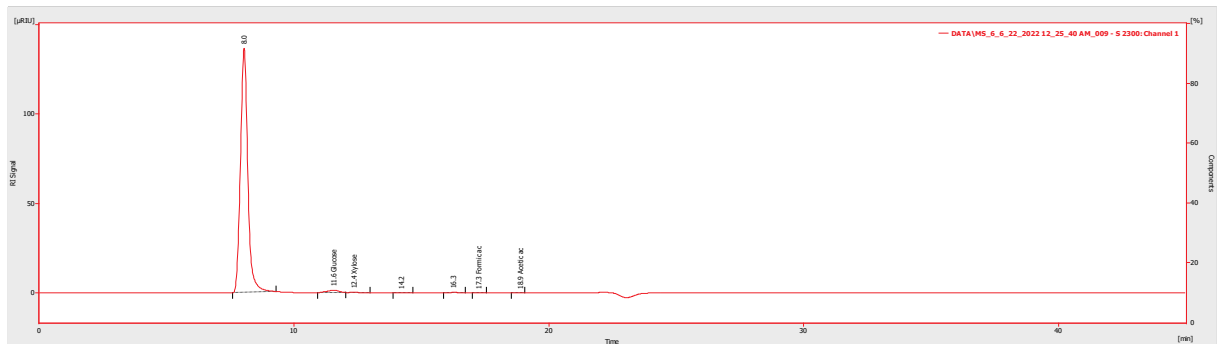


Figura IV. 6 - Espectro referente à replica 2 das amostras referentes à condição LI 120°C 24h

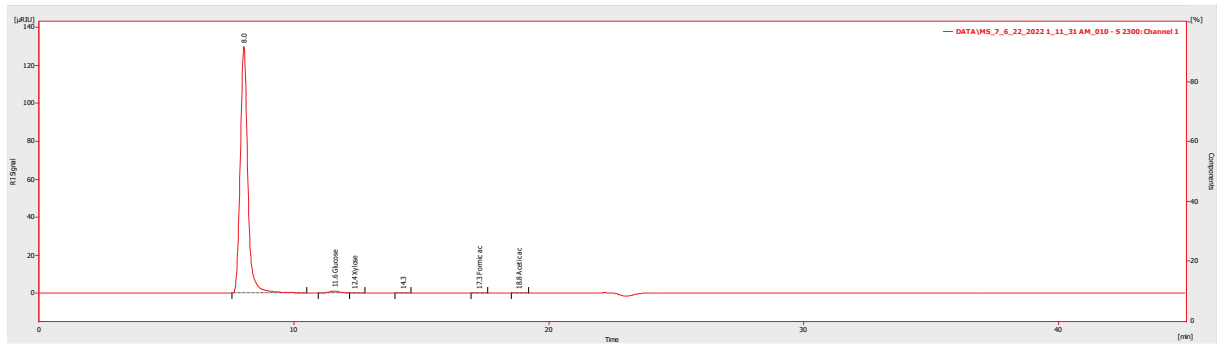


Figura IV. 7 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição LI 140°C 8h

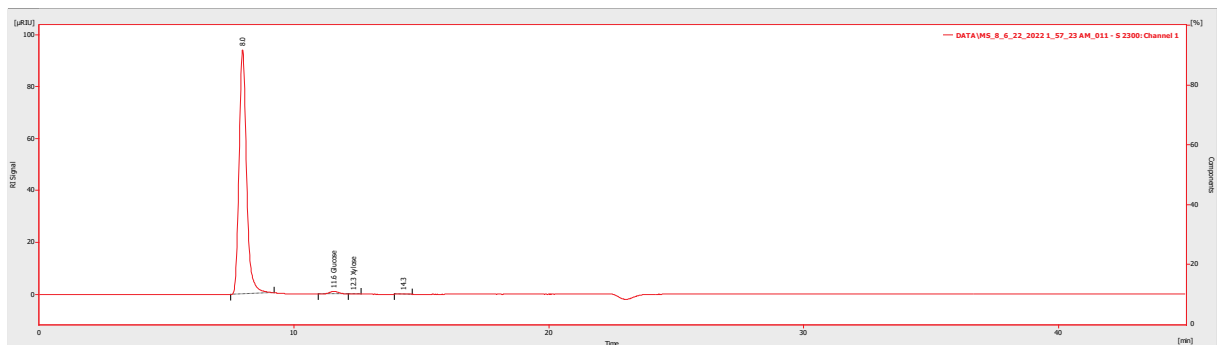


Figura IV. 8 - Espectro referente à replica 2 das amostras referentes à condição LI 140°C 8h

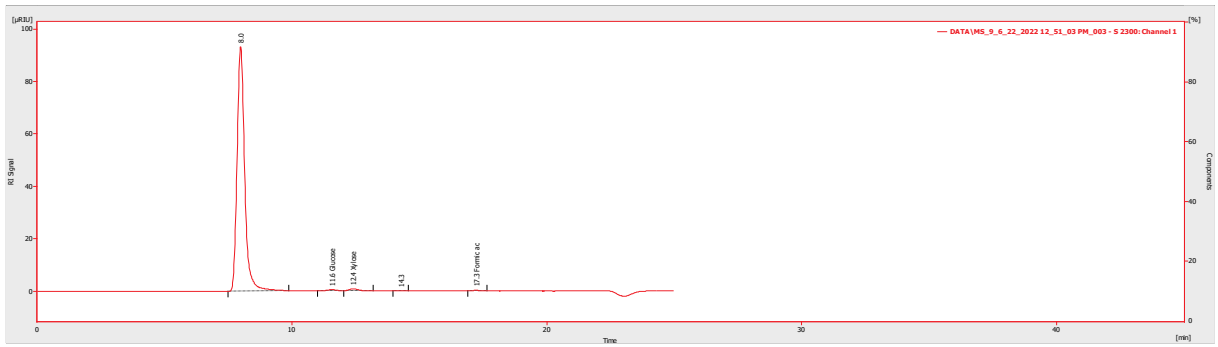


Figura IV. 9 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição DES 180°C 8h

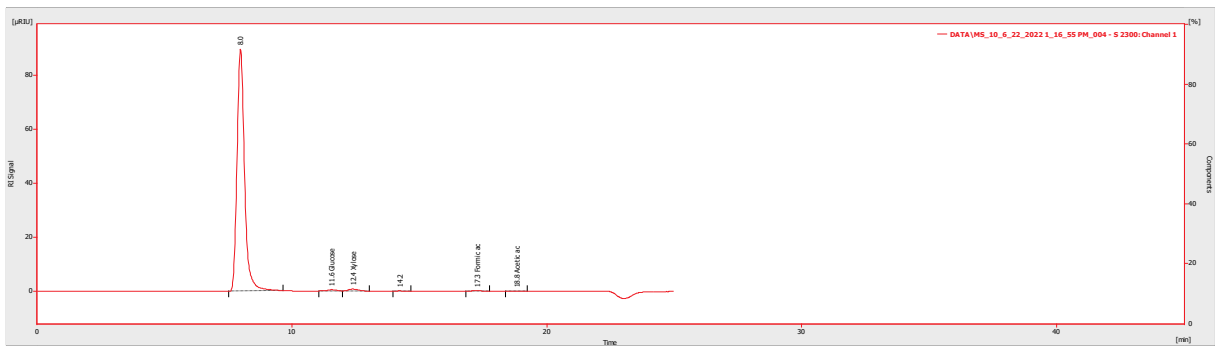


Figura IV. 10 - Espectro referente à replica 2 das amostras referentes à condição DES 180°C 8h

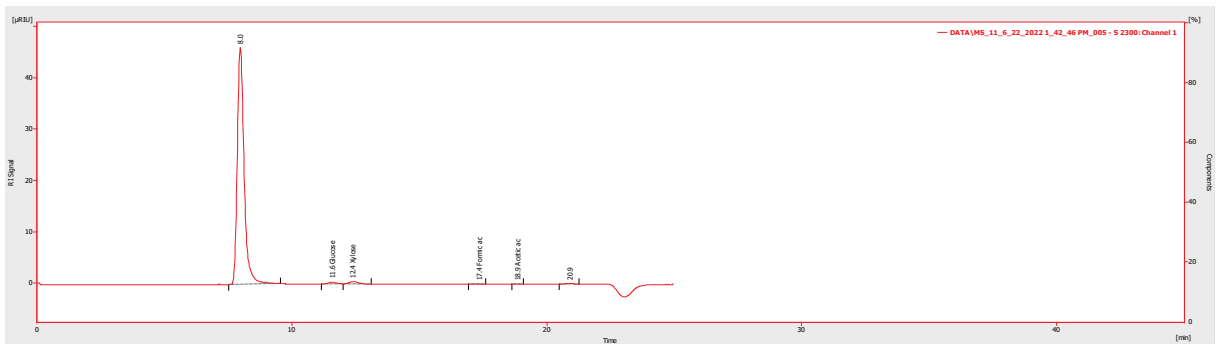


Figura IV. 11 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição DES 160°C 24h

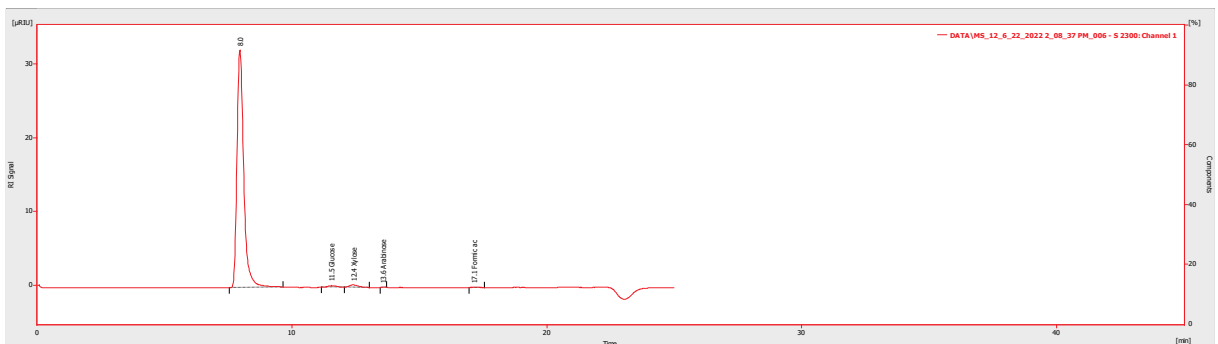


Figura IV. 12 - Espectro referente à replica 1 das amostras referentes à condição DES 160°C 24h

Anexo V – Perigos e precauções a ter com os principais compostos químicos utilizados neste trabalho

Tabela V. 1 - Perigos e precauções a ter com os principais compostos químicos utilizados neste trabalho

Composto	Pictogramas	Frases de perigo	Frases de prudência
Metilsulfato de 1-butil-3-metilimidazólio ([BMIM]MeSO ₄)		H315: Provoca irritação cutânea H319: Provoca irritação ocular grave	P302+P352: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água. P305+P351+P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
Cloreto de Colina (ChCl)		H315: Provoca irritação cutânea H319: Provoca irritação ocular grave H335: Pode causar irritação respiratória;	P280: Usar luvas de proteção/proteção ocular. P302+P352: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água. Se inalado: Ir para um sítio arejado e respirar calmamente;
Imidazol		H302: Nocivo por ingestão H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves H360D: Pode afetar o nascituro	P202: Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança. P270: Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. P280: Usar luvas de proteção/proteção ocular P305+P351+P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. P310: Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
Etilenoglicol		H302: Nocivo por ingestão H373: Pode afetar os órgãos (rim) após exposição prolongada ou repetida (em caso de ingestão) H315: Provoca irritação cutânea H318: Provoca lesões oculares graves.	P260: Não respirar as névoas/vapores. P270: Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. P301+P312: EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou médico. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

H335: Pode provocar irritação das vias respiratórias.

P280: Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

Metanol



H225: Líquido e vapor facilmente inflamáveis.

H301+H311+H331: Tóxico por ingestão, contacto com a pele ou inalação.

H370: Afeta o nervo ótico e o sistema nervoso central por ingestão.

P102-P405: Manter fora do alcance das crianças. Armazenar em local fechado à chave.

P103: Ler o rótulo antes da utilização.

P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.

P260c: Não respirar os vapores.

P271: Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.

P280F: Usar luvas de proteção, vestuário de proteção e proteção ocular. Em caso de ventilação inadequada, usar proteção respiratória.

P301+P310-P330+P331: EM CASO DE INGESTÃO: Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito.

P303+P361+P353-P352-P312SE: ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche. Lavar com sabonete e água abundantes. Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P304+P340-P311: EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

Ácido sulfúrico



H290: Pode ser corrosivo para os metais

P234: Mantenha sempre o produto na sua embalagem original
P390: Absorver o produto derramado a fim de evitar danos materiais.

Hidróxido de
sódio



H290: Pode ser corrosivo para os metais.
H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

P233: Manter o recipiente bem fechado.
P280: Usar luvas de proteção/proteção ocular.
P303+P361+P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].
P305+P351+P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
P310: Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
