



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Catarina Sofia Carneiro Leão Costa

**SÍNTESE DE POLIELÉTRÓLITOS ANIÓNICOS
A PARTIR DO BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR
PARA APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DO
CALDO DE CANA**

**Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia
Química orientada pela Professora Doutora Maria da Graça
Bontempo Vaz Rasteiro e pelo Professor Doutor Claudio Lima de
Aguiar apresentada ao Departamento de Engenharia Química da
Universidade de Coimbra**

Setembro de 2021

Agradecimentos

O desenvolvimento deste trabalho não seria possível sem a ajuda e colaboração de algumas pessoas, às quais não poderia deixar de prestar o meu reconhecimento e gratidão.

O meu principal agradecimento vai para os meus orientadores, Professora Graça Rasteiro e Professor Claudio Aguiar, pela orientação prestada, pelo conhecimento transmitido e acima de tudo pelo apoio e dedicação ao longo de todo o trabalho.

Ao Mestre Jorge, ao Doutor Luís Alves e principalmente à Mestre Solange Magalhães, por toda a paciência e pela grande ajuda prestada, tanto no trabalho laboratorial, como no encontro das justificações para os problemas encontrados. Obrigada também pelos momentos de descontração no laboratório e pela hora do “café”.

À Mestre Cátia Mendes, pelas injeções das amostras na coluna de HPLC e pela ajuda imensa a encontrar as respostas aos resultados obtidos.

À Engenheira Maria João e à Doutora Ana Borba, pela rápida realização e entrega dos resultados da Análise Elementar.

Ao Bruno Baptista Stein, aluno de Engenharia Agronômica da ESALQ, pelo auxílio prestado ao Professor Claudio na elaboração dos testes de clarificação do caldo.

Ao Doutor José Gamelas, pelo conhecimento transmitido ao longo deste trabalho.

Aos meus amigos, Daniela Pereira, Paula Oliveira, Beatriz Marona, Ana Leandro, Vanessa Silva, Rodrigo Paredes, Hugo Ferreira, Vitor Sousa, José Campos, Jackson, Azeiteiro, Evaristo, Pedro Pedroso, Paulo Rocha e Rosa Silva, esta caminhada não seria a mesma sem vocês.

Ao João, pela paciência, apoio e por sempre lutares pelos meus objetivos. Um grande obrigada!

Aos meus pais e irmão, por me apoiarem neste percurso e acreditarem em mim. Obrigada por todo o esforço a que se sujeitaram para que isto fosse possível.

A todos aqueles que não foram aqui mencionados, mas que contribuíram direta ou indiretamente para este percurso, o meu sincero obrigada!

Resumo

Na produção de açúcar, uma das etapas cruciais para a qualidade do produto final é o tratamento do caldo. Nesta etapa, são adicionados floculantes aniônicos à base de poliacrilamida como auxiliares de clarificação, em que o principal objetivo é a remoção das impurezas que afetam a qualidade da sacarose. Estes compostos podem apresentar ações cancerígenas e neurotóxicas se permanecerem no produto final e podem ainda contaminar os solos onde os resíduos são descarregados. De modo a ajudar a resolver este problema e, numa perspectiva de economia circular, o trabalho proposto visa a síntese de floculantes lignocelulósicos a partir do bagaço da cana-de-açúcar (resíduo obtido na produção de açúcar de cana).

Para atingir o objetivo proposto, primeiramente é necessário realizar um pré-tratamento à biomassa lignocelulósica para garantir uma maior acessibilidade à celulose de modo a facilitar a sua modificação. O pré-tratamento foi realizado pela combinação de cloreto de colina com ácido levulínico nas proporções 1:2 e 1:3 (DES – Deep eutetic solvents) para diferentes condições de tempo de contacto e temperatura. Nesta etapa, obteve-se celulose com diferentes teores de lignina e selecionaram-se os ensaios em que o teor de lignina presente na fração rica em celulose é menor e para o qual se obteve maiores valores de rendimento, ou seja, 4 horas a 140 e 160°C para as duas proporções.

Em seguida, a celulose produzida nas condições selecionadas foi modificada usando uma combinação de duas reações sucessivas. A primeira reação consistiu na oxidação do bagaço da cana-de-açúcar previamente tratado (por extração com DES) com periodato de sódio na presença de cloreto de lítio, sendo o produto obtido designado por celulose dialdeído (DAC). Posteriormente, o DAC foi submetido à reação com metabissulfito de sódio, permitindo obter floculantes carregados negativamente. As reações foram realizadas durante 3 horas a 70°C e 24 horas à temperatura ambiente, respetivamente.

Os polieletrólitos obtidos foram caracterizados e foi avaliada a sua eficácia no tratamento do caldo de cana-de-açúcar a diferentes concentrações (100, 250 e 500 mg.kg⁻¹) e comparados com o polímero sintético utilizado pela indústria açucareira de cana-de-açúcar (Flonex) adicionado a uma concentração de 6 mg.kg⁻¹. Os resultados mostraram que os polieletrólitos naturais à base de celulose apresentam melhor desempenho no tratamento do

caldo de cana-de-açúcar em comparação com o polímero sintético, conseguindo uma percentagem de remoção de turbidez de 99%, em média.

Palavras-chave: Bagaço da cana-de-açúcar, fracionamento da biomassa, DES, polielérolitos aniônicos, tratamento do caldo da cana-de-açúcar.

Abstract

In sugar production, one of the crucial steps for the quality of the final product is the treatment of the juice. In this step, polyacrylamide-based anionic flocculants are added as clarification aids, where the main objective is to remove impurities that affect sucrose crystallization. These compounds can be carcinogenic and neurotoxic if they remain in the final product and can contaminate the soils where the effluent is discharged. To help solve this problem, and using a circular economy approach, the work proposed in this dissertation aims to synthesize lignocellulosic flocculants from sugar cane bagasse (a residue obtained from sugar cane production).

To achieve the proposed objective, it is first necessary to perform a pretreatment of the lignocellulosic biomass to ensure greater accessibility to the cellulose to facilitate its modification. The pretreatment was performed with DES (Deep Eutectic Solvents), consisting of the combination of choline chloride with levulinic acid in the proportions 1:2 and 1:3, using different conditions of time and temperature. In this step, cellulose with different lignin contents was obtained and the conditions where this value is lower were selected, 4 hours at 140 and 160°C for the two ratios.

Next, the cellulose from the selected conditions is modified using a combination of two successive reactions. The first reaction consists of the oxidation of previously treated sugarcane bagasse with sodium periodate in the presence of lithium chloride, and the product obtained is called dialdehyde cellulose (DAC). Subsequently, the DAC reacts with sodium metabisulfite, allowing to obtain negatively charged flocculants. The reactions were carried out for 3 hours at 70°C and 24 hours at room temperature, respectively.

The obtained polyelectrolytes were characterized and their effectiveness in the treatment of sugarcane juice at different concentrations (100, 250 e 500 mg.kg⁻¹) was evaluated and compared with the synthetic polymer used by the sugar industry. The results showed that the natural cellulose-based polyelectrolytes show better performance in the treatment of sugarcane juice compared to the synthetic polymer, achieving a percentage of turbidity removal of 99%.

Keywords: Sugarcane bagasse, biomass fractionation, DES, anionic polyelectrolytes, sugarcane juice treatment.

Índice

Capítulo 1- Introdução.....	1
1.1 Âmbito e motivação.....	1
1.2 Objetivos.....	3
1.3 Organização da dissertação.....	3
Capítulo 2- Revisão bibliográfica.....	5
2.1 Processo de produção de açúcar de cana-de-açúcar	5
2.1.1 Tratamento do caldo de cana-de-açúcar	6
2.2 Floculantes de cor	8
2.2.1 Mecanismos de Floculação.....	9
2.3 Bagaço da cana-de-açúcar	10
2.3.1 Composição química do bagaço da cana-de-açúcar	11
2.3.1.1 Celulose	11
2.3.1.2 Hemicelulose	13
2.3.1.3 Lignina.....	14
2.4 Pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.....	15
2.4.1 Pré-tratamentos físicos.....	15
2.4.2 Pré-tratamentos biológicos	16
2.4.3 Pré-tratamento físico-químico	16
2.4.4 Pré-tratamentos químicos	18
2.5 Síntese de floculantes aniônicos à base de celulose	24
Capítulo 3- Materiais e trabalho experimental	31
3.1 Materiais	31
3.1.1 Bagaço da cana-de-açúcar	31
3.1.2 Reagentes.....	32
3.2 Metodologia experimental	33
3.2.1 Fracionamento do bagaço da cana-de-açúcar e purificação da celulose com DES	33
3.2.1.1 Preparação dos solventes eutéticos	34
3.2.1.2 Processo de fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar.....	34
3.2.1.3 Caracterização da celulose e da lignina extraída	36
3.2.1.4 Análise estatística (ANOVA)	38
3.2.2 Síntese de polieletrólitos aniônicos	38
3.2.2.1 Síntese da celulose dialdeído (DAC).....	38
3.2.2.2 Anionização da celulose dialdeído	39

3.2.2.3	Caracterização do DAC e do ADAC.....	39
3.2.3	Ensaio simulado em laboratório da clarificação do caldo.....	41
Capítulo 4-	Resultados e discussão	45
4.1	Obtenção da fração rica em celulose e caracterização química	45
4.2	Síntese dos polieletrólitos naturais aniônicos.....	51
4.3	Avaliação do desempenho dos flocculantes no tratamento do caldo de cana-de-açúcar	52
Capítulo 5-	Conclusões	59
	Sugestões para trabalhos futuros	60
	Bibliografia	61
	Anexos.....	69
	Anexo I: Procedimentos experimentais utilizados na caracterização do bagaço da cana-de-açúcar	69

Índice de figuras

Figura 2.1. Esquema do processo de produção de açúcar.[8]	5
Figura 2.2. Interação entre a partícula de impureza, o íon de cálcio e o polímero aniônico.(adaptado de [10]).....	8
Figura 2.3. Mecanismos de floculação. (adaptado de [17])	10
Figura 2.4. Estrutura da celulose [25].	12
Figura 2.5. Rede de ligações de hidrogénio intramoleculares (esquerda) e intermoleculares (direita) em moléculas de celulose [29].	13
Figura 2.6. Monómeros constituintes mais comuns da lignina [26].	14
Figura 2.7. Aceitadores e dadores de ligações de hidrogénio.	21
Figura 2.8. Oxidação da celulose com periodato de sódio [73].	27
Figura 2.9. Oxidação da celulose com periodato de sódio e clorito de sódio [4].	28
Figura 2.10. Oxidação da celulose com periodato de sódio seguido da reação de sulfonação com metabissulfito de sódio [83].	28
Figura 3.1. Bagaço da cana-de-açúcar: a) sem qualquer tratamento; b) moído (20 <i>mesh</i>). 32	
Figura 3.2. Esquematização do procedimento experimental do processo de fracionamento.	33
Figura 3.3. Reator utilizado nas reações de extração.	34
Figura 3.4. Representação esquemática do processo de separação da celulose e da lignina.	35
Figura 3.5 Representação esquemática das etapas do tratamento do caldo simulado em escala laboratorial (fornecido por Cláudio Aguiar).....	43
Figura 4.1. Rendimento de extração global do bagaço usando: a) ChCl:LA (1:2); b) ChCl:LA (1:3) em função do tempo de reação para três temperaturas diferentes, 120°C (●), 140°C (■) e 160°C (▲).	45
Figura 4.2. Representação do rendimento de extração (preto) e percentagem de lignina na fração rica em celulose (cinzento) usando ChCl:LA (1:2) para várias condições de extração. A presença dos mesmos símbolos acima das barras não indicam diferenças significativas no rendimento de extração e na percentagem de lignina dos testes ANOVA unidirecionais ($p \leq 0.05$).	47
Figura 4.3. Representação do rendimento de extração (preto) e percentagem de lignina na fração rica em celulose (cinzento) usando ChCl:LA (1:3) para várias condições de	

extração. A presença dos mesmos símbolos acima das barras não indicam diferenças significativas no rendimento de extração e na percentagem de lignina dos testes ANOVA unidirecionais ($p \leq 0.05$).48

Figura 4.4. Representação do rendimento de extração, percentagem de deslignificação e teor de celulose, hemicelulose e lignina na fração rica em celulose extraída para as condições em análise. A composição do bagaço puro está representada a amarelo, e as condições de extração 1:2 e 1:3 estão representadas a cinzento e preto, respetivamente.49

Índice de tabelas

Tabela 1. Remoção de lignina para diferentes biomassas sob ação de diferentes DES.....	23
Tabela 2. Condições do processo de fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar-	34
Tabela 3. Caracterização dos resíduos obtidos após a extração da celulose e da lignina.	50
Tabela 4. Caracterização dos polieletrólitos à base de celulose de cana-de-açúcar.....	51
Tabela 5. Caracterização dos polieletrólitos sintetizados pelo grupo de investigação, para posterior aplicação no tratamento do caldo de cana-de-açúcar.....	53
Tabela 6. Caracterização do caldo de cana bruto e tratado durante o tratamento com três doses diferentes de polieletrólitos à base de celulose.	54
Tabela 7. Sólidos solúveis totais removidos, índice de purificação da sacarose e eficiência de remoção da sacarose do caldo de açúcar tratado com polieletrólitos à base de celulose.....	56

Nomenclatura

Aa – quantidade de unidades aniónicas

ABS – absorvância

ADAC – celulose dialdeído aniónica

AE – análise elementar

AGU – unidade de anidrogucose

ChCl – Cloreto de colina

CMC – carboximetilcelulose

DAC – celulose dialdeído

DCC – ácido dicarboxílico celulósico

DES – Deep eutetic solvents

DP – grau de polimerização

DS – grau de substituição

FD – fator de diluição

FRC – fração rica em celulose

FRL – fração rica em lignina

HBA – aceitador de ligações de hidrogénio

HBD – doador de ligações de hidrogénio

LA – Ácido LAulínico

m – massa

NaMCA – cloro acetato de sódio

T – temperatura

t – tempo

V – volume

w/w – massa/massa

SCJ – caldo da cana de açúcar (sugar cane juice)

Capítulo 1

Introdução

Este primeiro capítulo tem como propósito destacar alguns tópicos presentes no trabalho, apresentando o âmbito e a motivação, assim como os objetivos que se pretendem alcançar com a sua realização. Para finalizar o capítulo, são descritas a estrutura e a organização utilizada na dissertação.

1.1 Âmbito e motivação

A cana-de-açúcar é cultivada a nível mundial e, a produção desta é direcionada maioritariamente para a produção de açúcar, satisfazendo, atualmente, 80% do volume de produção de açúcar, contribuindo significativamente para a economia mundial. De acordo com a informação sobre a produção de açúcar mundial em 2020/2021, o Brasil foi o maior produtor de açúcar, produzindo aproximadamente 42 milhões de toneladas de açúcar. No entanto, é importante referir que a produção de açúcar por esta via, resulta na geração de grandes quantidades de resíduos como bagaço de cana-de-açúcar, melaço e lodo de decantador ou prensa, sendo a valorização destes relevante e, atualmente, em investigação [1].

De uma forma geral, para a produção de 100 kg de açúcar proveniente da cana-de-açúcar, 1 tonelada de cana-de-açúcar é triturada, gerando 300 kg de bagaço (com 50% de humidade), 40 kg de melaço e 30 kg de lodo de decantador [1]. O melaço é utilizado para a produção de etanol e o lodo de decantador para produção de hidrocarbonetos ou produtos químicos. Por outro lado, o bagaço de cana-de-açúcar, é atualmente utilizado como combustível para as caldeiras da unidade fabril de produção de açúcar ou como matéria-prima para o fabrico de alguns produtos químicos e produtos derivados da celulose [2].

Durante a produção de açúcar, uma etapa crucial é o tratamento do caldo, cujo objetivo principal é a remoção de impurezas que afetam negativamente a qualidade da sacarose na produção do produto final (açúcar cristal). Durante esta etapa, atualmente são adicionados floculantes aniônicos sintéticos como auxiliares de clarificação, constituídos por poliacrilamidas. Estes compostos ou seus produtos de hidrólise, se permanecerem no produto final, podem apresentar ações cancerígenas e neurotóxicas. Assim, é importante ter em conta as concentrações utilizadas, uma vez que, elevadas concentrações podem traduzir-se na retenção das moléculas de poliacrilamidas nos cristais de açúcar finais. Por outro lado, quando

removidos com os flocos para os efluentes podem vir a contaminar as lavouras de cana onde são utilizados como biofertilizantes. Desta forma, visando a substituição de polímeros sintéticos por uma opção sustentável e não tóxica, os polieletrólitos naturais podem ser alternativas promissoras no tratamento do caldo de cana-de-açúcar.

Ao longo dos anos, a utilização de polímeros naturais para a produção de floculantes tem ganho um grande destaque, sendo que os mais utilizados são os taninos, o quitosano, o alginato de sódio e a celulose [3].

Na Terra, a biomassa lignocelulósica é o recurso mais abundante e renovável, sendo por isso alvo de vários estudos e, atualmente, utilizada como matéria-prima para a produção de combustíveis e produtos químicos. Esta é constituída maioritariamente por celulose, sendo o polímero renovável e biodegradável mais abundante com características próprias como, o grande potencial para modificações químicas e o elevado grau de polimerização, o que a torna uma alternativa atrativa para fins de floculação [4]. No entanto, devido à sua estrutura cristalina e à forte rede de ligações de hidrogénio intermolecular, a celulose é dificilmente solúvel em solventes comuns, sendo necessário a modificação da mesma [5,6].

Para a produção de polieletrólitos naturais, a modificação e purificação da celulose é importante, para posteriormente a funcionalizar. Dado que a biomassa também é constituída por hemicelulose e lignina é importante garantir uma boa pureza da celulose para facilitar a modificação desta. Assim, é necessário a realização de um pré-tratamento da biomassa lignocelulósica em que o objetivo principal é a sua deslignificação. O pré-tratamento mais utilizado é o do cozimento *Kraft*. No entanto, é um tratamento que utiliza sulfureto de sódio, onde ocorre a libertação de compostos sulfurosos de odor desagradável. Uma alternativa ao cozimento *Kraft*, menos agressivo para o ambiente, é o tratamento com solventes eutécticos. Alguns destes solventes apresentam alta solubilidade para com a lignina e baixa solubilidade da celulose e hemicelulose, sendo possível a separação dos três componentes[7].

Tendo em conta que o bagaço de cana-de-açúcar é um material lignocelulósico, numa perspetiva de economia circular, a sua utilização como matéria-prima para a produção de floculantes aniónicos para posterior utilização no tratamento do caldo, representa uma oportunidade para a sua valorização, assim como uma redução do impacto ambiental.

1.2 Objetivos

O principal objetivo desta dissertação é a síntese de flocculantes naturais para a aplicação na clarificação do caldo, utilizando bagaço de cana-de-açúcar como matéria-prima. Para a produção dos biopolímeros, é necessário modificar a biomassa lignocelulósica, para que estes atuem como flocculantes aniônicos. Assim, a primeira etapa passa por tratar o bagaço de cana-de-açúcar com solventes sustentáveis, que apresentem baixo risco para o ambiente, para extrair a lignina, obtendo-se assim uma fração sólida rica em celulose. Nesta etapa, serão testadas várias condições de extração a fim de encontrar a condição que leva à maior percentagem de remoção de lignina. A segunda etapa tem como meta, a produção dos flocculantes aniônicos naturais a partir da fração rica em celulose obtida na primeira etapa. O último objetivo é testar a eficiência destes na clarificação do caldo de cana-de-açúcar em comparação com os flocculantes sintéticos utilizados pelas indústrias açucareiras em sistemas simulados em escala laboratorial.

1.3 Organização da dissertação

A dissertação é composta por cinco capítulos. Começa com uma pequena introdução onde são apresentados os objetivos, o âmbito e a motivação deste trabalho. O segundo capítulo contempla a revisão bibliográfica onde é apresentada e contextualizada a temática do projeto. No capítulo seguinte é abordado e explicado todo o trabalho experimental, desde os materiais utilizados à descrição das técnicas aplicadas. Posteriormente, no capítulo 4 é apresentada a análise e discussão dos resultados seguido das conclusões e referências bibliográficas.

Capítulo 2

Revisão bibliográfica

2.1 Processo de produção de açúcar de cana-de-açúcar

O processo de produção de açúcar a partir da cana-de-açúcar é composto por seis operações unitárias, a extração e tratamento do caldo, a evaporação, o cozimento (cristalização da sacarose), a centrifugação e a secagem, Figura 2.1 [8].



Figura 2.1. Esquema do processo de produção de açúcar.[8]

Inicialmente, a cana-de-açúcar é colhida dos campos de cultivo e transportada para as fábricas de produção. Esta é constituída por uma parte dura (casca) e uma parte mole (medula), que contêm 15% e 85% do caldo, respetivamente [9]. Como o objetivo inicial é a extração do caldo, a cana-de-açúcar é submetida a um processo de desintegração e moagem (extração do caldo). O processo de desintegração constituído por picadores e desfibradores, tem como finalidade reduzir a resistência da parte dura da cana-de-açúcar e romper a estrutura dos vasos celulares da medula, facilitando a moagem e aumentando assim a extração posterior. A cana-de-açúcar desfibrada segue para a moagem onde é submetida a sucessivas prensagens sendo o caldo separado do bagaço (resíduo sólido e fibroso) e enviado para uma etapa de tratamento [9].

A etapa de tratamento do caldo, envolve o tratamento físico, químico e decantação. Nesta fase, são removidas todas as impurezas (não-açúcares) solúveis e insolúveis, como é o caso de ceras e gorduras, produzindo assim um caldo constituído maioritariamente por água e açúcares.

Tendo em conta que o objetivo final é a produção de cristais de açúcar, é necessário aumentar a concentração de sacarose, cristalizar a sacarose no xarope (caldo de cana concentrado por evaporação) e retirar a água pelo processo de aquecimento a vácuo. Após o tratamento do caldo, este segue para uma etapa de evaporação onde parte da água é evaporada obtendo-se um xarope com aproximadamente 65% de sólidos solúveis. Este é aquecido e começa a cristalizar a sacarose, levando à formação de uma massa com grãos de açúcar (cristais de sacarose), sendo posteriormente centrifugado, lavado com água/vapor e, numa última etapa, seco para remover a água ainda presente (até atingir uma humidade de sensivelmente 0.04-0.07%) [9].

2.1.1 Tratamento do caldo de cana-de-açúcar

O tratamento do caldo tem como finalidade a eliminação de grande parte das impurezas presentes, visando obter um caldo claro e límpido. Esta etapa inicia-se com um tratamento físico constituído por peneiras rotativas em que o objetivo é a remoção das impurezas grosseiras como, por exemplo, pedaços de bagaço e terra proveniente do processo de colheita nos campos. Posteriormente, o caldo é tratado quimicamente a fim de coagular as proteínas e precipitar compostos como ácidos orgânicos e sulfatos. O tratamento químico é dominado pelos métodos de calagem, no caso de produção de açúcar bruto (VHP) e sulfitação seguido de calagem para a produção de açúcar cristal branco.

A sulfitação baseia-se na formação de ácido sulfuroso através da reação entre a água e o dióxido de enxofre borbulhado, acidificando o caldo. Em seguida, este é neutralizado pela adição de leite de cal (uma suspensão de hidróxido de cálcio) o que leva à formação de um precipitado pouco solúvel, sulfito de cálcio que, adsorve os compostos que conferem turbidez ao caldo bem como outras impurezas.

Por outro lado, a calagem consiste na adição de hidróxido de cálcio ao caldo, previamente aquecido, para neutralizar os ácidos orgânicos. A presença de cal e o aumento da temperatura fazem com que ocorra a formação de um precipitado que adsorve e arrasta grande parte do material suspenso no caldo.

Após o tratamento químico, o caldo é direcionado para a última etapa do tratamento, a decantação, onde ocorre a remoção das impurezas por floculação. Esta etapa tem como principal objetivo a precipitação completa dos coloides, a produção de um caldo o mais claro possível pretendendo-se uma velocidade de decantação ideal em torno de 6 m/s.

Dado que se trata de um grande volume de caldo e que este representa um sistema coloidal complexo, devido aos diferentes pontos isoelétricos dos coloides, uma simples decantação não é viável nas fábricas de produção de açúcar de cana [10].

Assim, a clarificação do caldo envolve três mecanismos, a coagulação, a floculação e a precipitação tanto dos coloides como das substâncias pigmentadas, que são posteriormente eliminados por decantação e filtração [11]. Inicialmente, há necessidade de garantir uma máxima coagulação, ou seja, que haja formação de aglomerados. Para tal, a carga das partículas deve ser neutralizada. Isto significa, que o potencial zeta das partículas tem que diminuir para valores próximos de zero. Numa fase final, agrupam-se os aglomerados para formar grandes flocos que vão sedimentar, arrastando as impurezas [10].

A reação física para a formação de flocos está baseada nas proteínas, uma vez que possuem maior disponibilidade de carga. Assim, ao aquecer o caldo, após o tratamento químico e antes da decantação, as proteínas são desnaturadas e envolvem as partículas sólidas presentes, conferindo uma aparente carga superficial negativa aos coloides. Após a adição de leite de cal, para neutralizar o pH do caldo, os íons de cálcio formam uma ligação catiónica com as proteínas, reduzindo o potencial zeta a zero, ou seja, as cargas positivas adicionadas ao caldo são suficientes para neutralizar as cargas negativas presentes.

No entanto, com o intuito de aumentar a floculação das micropartículas, adiciona-se floculantes ao caldo que são, geralmente, do tipo aniônico, constituídos por compostos de poliacrilamida parcialmente hidrolisados. Estes ligam-se aos íons de cálcio divalente, o que resulta na formação de grandes flocos que precipitam e arrastam as impurezas sem carga, Figura 2.2 [10].

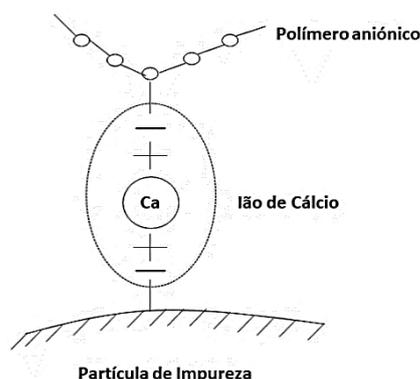


Figura 2.2. Interação entre a partícula de impureza, o íon de cálcio e o polímero aniônico.(adaptado de [10])

É de notar que, o aquecimento não é benéfico para a clarificação do caldo, dado que com o aumento da temperatura, as reações de caramelização são favorecidas o que irá provocar um aumento da cor do caldo e conseqüentemente do açúcar final. No entanto, se não houver algum aumento da temperatura, não ocorre a desnaturação das proteínas e a precipitação é dificultada, pelo que é necessário um controlo adequado da temperatura.

2.2 Floculantes de cor

Com a crescente procura para conseguir uma remoção eficiente e rentável da cor na produção de açúcar branco de qualidade, vários processos e produtos químicos têm sido alvo de estudos.

A utilização de polímeros com a capacidade de precipitar as impurezas na indústria açucareira, é uma técnica estudada e documentada há vários anos. Geralmente são utilizados polímeros carregados negativamente, no entanto, ocasionalmente também se utilizam floculantes catiónicos. O primeiro estudo foi realizado em 1965 pela *Tate & Lyle Research Center*. No entanto, outros autores acrescentaram novos conhecimentos a esta tecnologia, como é o caso de Moodley [12,13].

Koblitz e Moretti (1999) [11] estudaram a eficiência de diferentes concentrações de policloreto de alumínio (APC - "Panclar P-1010") e um polímero carregado negativamente (Magnafloc LT-27) na clarificação de caldo de cana-de-açúcar a diferentes valores de pH (7, 9, e 11). Concluíram que os melhores resultados foram obtidos a valores de pH de 9 e 11 e

para uma concentração de 50 ppm de APC e 2 ppm de polielérolito. O floculante utilizado tinha alto peso molecular e foi fornecido na forma de pó granular [11].

Por outro lado, Costa et al. (2014) [14] testaram floculantes naturais derivados do extrato de folhas de moringa. No estudo realizado, observaram menor velocidade de sedimentação das impurezas em relação ao polímero sintético. No entanto, o volume de lodo foi semelhante para os dois tratamentos. Os autores relataram ainda que o açúcar produzido com o biopolímero em comparação com o sintético apresentava menor cor [14].

2.2.1 Mecanismos de Flocculação

A flocculação corresponde à agregação de partículas em suspensão com polímeros através de três mecanismos: neutralização da carga, mecanismos de *Bridging* e *Patch*, Figura 2.3.

A **neutralização da carga** ocorre na presença de um floculante de baixo peso molecular e com carga contrária à da superfície das partículas coloidais [15]. O polímero adicionado adsorve e neutraliza as partículas em suspensão, tendo como resultado a diminuição da carga superficial (diminuição do potencial zeta). A neutralização da carga superficial leva a uma diminuição das forças de repulsão entre as partículas coloidais, o que se traduz na predominância de forças atrativas de Van der Waals, facilitando a agregação e sedimentação dos materiais em suspensão para formar flocos [3,15].

Uma variação no método de neutralização de carga é o chamado **mecanismo de *Patch***, que envolve a neutralização incompleta. O polímero adicionado tem baixo peso molecular, sendo mais pequeno do que a área de superfície das partículas, e elevada carga. Assim, o polímero torna-se incapaz de neutralizar todas as cargas eletrostáticas presentes em toda a superfície das partículas em suspensão, criando “manchas” na camada externa destas. As “manchas” são locais com carga oposta à das partículas em resultado da adsorção do polímero. A interação entre as partículas dá-se pela atração electrostática entre zonas de carga oposta nas diferentes partículas [15,16].

Por outro lado, a flocculação pelo **mecanismo de *bridging*** é observada em sistemas com polímeros de elevado peso molecular não iónicos ou com a carga oposta à das partículas coloidais. Após a adição dos polímeros à suspensão, a cadeia polimérica individual pode ficar ligada a duas ou mais partículas, formando pontes [16]. No entanto, há uma parte de polímero que fica livre a fim de se conseguir movimentar na solução. Para que este mecanismo seja

eficiente e que haja a formação de pontes, a dosagem do polímero deve ser a ideal. Ou seja, a quantidade de polímero adicionada tem que garantir que haja suficientes superfícies de partículas livres, para possibilitar a fixação de segmentos de polímero já ligados a outras partículas [15,16]. Posto isto, quando a quantidade de polímero adicionada é demasiado elevada, há uma saturação da superfície das partículas, o que impossibilita a formação de pontes e por sua vez, a formação de agregados, levando à estabilização das partículas. Por outro lado, se a dose adicionada for baixa, a formação de elos de ligação é insuficiente [15,16].

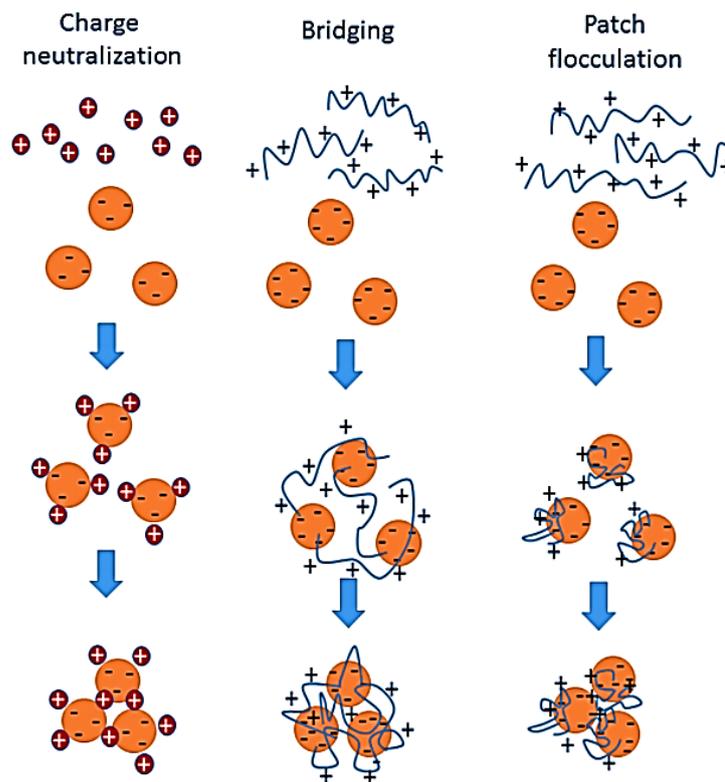


Figura 2.3. Mecanismos de floculação. (adaptado de [17])

2.3 Bagaço da cana-de-açúcar

O bagaço da cana-de-açúcar é um material fibroso obtido como resultado do processamento da cana-de-açúcar após a moagem na etapa de extração do caldo. Este é composto por duas frações, a casca externa e a medula interna. A casca é constituída por fibras longas e finas dispostas aleatoriamente, unidas por hemicelulose e lignina. Por outro lado, a medula contém pequenas fibras, sendo a maior parte constituída por sacarose e outros componentes necessários à planta [18].

O bagaço de cana-de-açúcar é utilizado para geração de energia por meio de cogeração, tornando as unidades industriais de produção de açúcar autossustentáveis energeticamente. Para além disso, este também pode ser utilizado como matéria-prima para o fabrico de produtos lignocelulósicos e certos solventes, como etanol, furfural e ácido levulínico [19,20].

2.3.1 Composição química do bagaço da cana-de-açúcar

Os materiais lignocelulósicos são as matérias-primas mais promissoras como recursos naturais, abundantes e renováveis e podem fornecer um suprimento de combustível sustentável de longo prazo [21]. Estes materiais, como é o caso do bagaço da cana-de-açúcar, são constituídos maioritariamente por celulose, hemicelulose, lignina, extrativos (ésteres, álcoois e esteroides) e inorgânicos (sulfatos, oxalatos, carbonatos, cloretos, etc) [18]. A composição percentual média de cada um dos componentes pode variar dependendo do tipo de cana, das condições fitossanitárias, e região de desenvolvimento, sendo que 32-45% do bagaço seco é celulose, 20-32% é hemicelulose (xilana) e 17-32% é lignina, com 1-9% de cinzas além de outros componentes [18,19,22]. Esta composição torna o bagaço da cana-de-açúcar um ingrediente ideal para ser aplicado e utilizado como fibra de reforço em materiais compósitos com o propósito de criar novos materiais que possuam propriedades físicas e químicas distintas.

2.3.1.1 Celulose

A celulose é o polissacarídeo mais abundante na natureza e considerada como uma matéria-prima inesgotável. Possui uma estrutura e propriedades interessantes e dado que é utilizada como matéria-prima para a produção de uma vasta gama de produtos, tem muito interesse por parte dos investigadores.

A celulose é um polímero de cadeia linear, composta por unidades de anidro-D-glucopirranose (anidroglicose - AGU) apresentando ligações glicosídicas do tipo β -1,4.[23]. A estrutura da molécula de celulose apresenta um grande número de grupos hidroxilo, 3 por unidade de AGU, sendo a conformação preferencial, termodinamicamente, a 4C_1 . É ainda constituída por duas extremidades, uma não redutora e uma redutora, Figura 2.4. Devido às ligações acetal, cada segundo anel AGU é rodado 180° no plano, e o conjunto das duas unidades estruturais adjacentes constitui a unidade de repetição: o dissacarídeo celobiose [24].

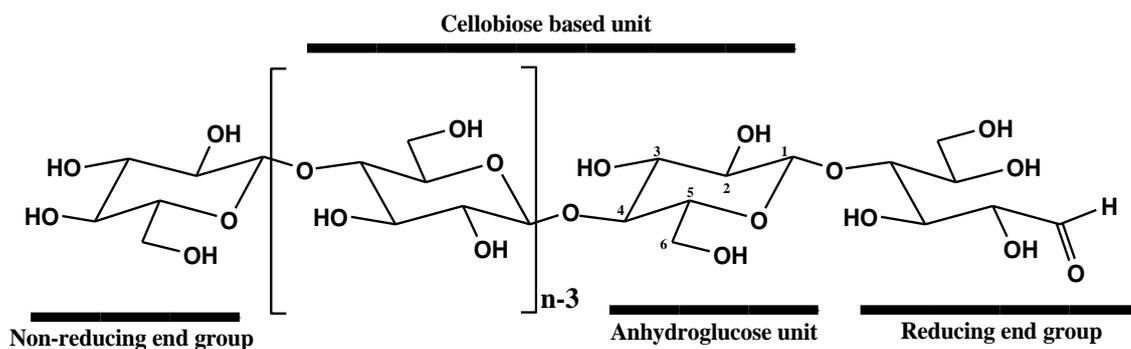


Figura 2.4. Estrutura da celulose [25].

O número de unidades de glucose numa molécula de celulose é denominado de grau de polimerização (DP) e, dependendo da fonte, este pode alcançar valores de 10 000 unidades. O DP afeta a solubilidade e as propriedades mecânicas da biomassa lignocelulósica, sendo por isso uma propriedade estrutural importante [26].

Como pode ser visto na Figura 2.4, cada AGU possui seis carbonos e três grupos hidroxilo conectados aos átomos de carbono nas posições C2, C3 e C6. Estes são capazes de sofrer reações típicas de álcoois primários e secundários. Conforme mencionado, a AGU terminal da cadeia polimérica de celulose pode ser dividida em dois tipos: (i) uma extremidade redutora, na forma de um hemiacetal, na posição C1, e (ii) uma extremidade não redutora, com um grupo hidroxilo, na posição C4 [27].

Os grupos hidroxilo distribuídos ao longo da cadeia polimérica, associados à sua reatividade e tendência a estabelecer ligações de hidrogénio, são um dos principais motivos da alta coesão da cadeia que confere algumas das características da celulose, como as marcantes características mecânicas [28]. Por meio das forças de Van der Waals e ligações de hidrogénio intra e intermoleculares, as moléculas de celulose organizam-se em fibrilas elementares que consistem em regiões compactadas e ordenadas (conhecidas como zonas cristalinas) e regiões menos ordenadas que formam áreas amorfas, conforme esquematicamente representado na Figura 2.5. Todas as interações acima mencionadas contribuem para o perfil de insolubilidade da celulose em água e na maioria dos solventes comuns [23].

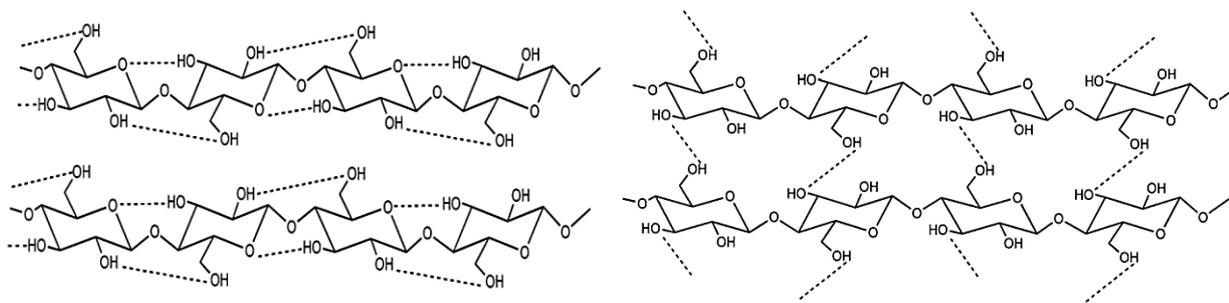


Figura 2.5. Rede de ligações de hidrogénio intramoleculares (esquerda) e intermoleculares (direita) em moléculas de celulose [29].

A proporção relativa de regiões cristalinas do material normalmente varia entre 40 e 60%, mas isso é muito dependente da origem e também das condições de extração [25].

As frações cristalinas e amorfas têm uma influência considerável nas propriedades das fibras de celulose [25]. No caso da penetração e acessibilidade de reagentes, o fenómeno de difusão é facilitado nas regiões desordenadas. Desse modo, o transporte de reagentes químicos para os locais de reação pode ocorrer dentro das regiões menos ordenadas (amorfas) e o inchaço da estrutura da fibra pode ajudar a aumentar o grau de acessibilidade. O efeito de intumescimento pode ser induzido por soluções de bases, ácidos, sais e alguns solventes orgânicos [30]. Esses agentes de intumescimento são capazes de penetrar nas regiões internas das fibras e interferir nas ligações de hidrogénio e nas forças de Van der Waals, rompendo os agregados fibrilares, disponibilizando grupos hidroxilo superficiais adicionais. Em geral, os derivados de celulose resultam da substituição não homogénea dos grupos hidroxilo em cada unidade AGU por outros grupos funcionais. Devido à acessibilidade ao solvente, espera-se que a modificação da celulose ocorra preferencialmente nos domínios amorfos e, se permitido, posteriormente nas regiões cristalinas [25].

2.3.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose é o segundo biopolímero mais abundante representando cerca de 20 a 50% da biomassa lignocelulósica [31]. Contrariamente à celulose, a hemicelulose não é um polímero homogéneo quimicamente, possui um DP muito inferior, na gama das 100-200 unidades e conseqüentemente um baixo peso molecular. Assim, as hemiceluloses são heteropolissacarídeos ramificados, constituídos por açúcares C_5 e C_6 (pentoses e hexoses) e pequenas quantidades de ácidos urónicos. As pentoses incluem a xilose e arabinose, enquanto

as hexoses abrangem a glucose, manose e galactose e os ácidos urônicos compreendem o ácido D-glucurônico, o ácido 4-O-metilglucurônico e o ácido D-galacturônico [31].

O bagaço de cana-de-açúcar tem na sua composição aproximadamente 20 a 32% de hemicelulose constituída maioritariamente por unidades de xilose unidas por ligações do tipo β -1,4, sendo definida como L-arabino-(4-O-metil-D-glucurono)-D-xilana [23] .

2.3.1.3 Lignina

A lignina na biomassa lignocelulósica atua como componente estrutural, acrescentando resistência e rigidez à parede celular. É um polímero amorfo constituído por uma rede tridimensional complexa e heterogênea de substruturas aromáticas que proporcionam coerência e dureza. É composta principalmente por três monómeros constituintes, *p*-hidroxifenilo, guaiacilo e seringilo, Figura 2.6 [26].

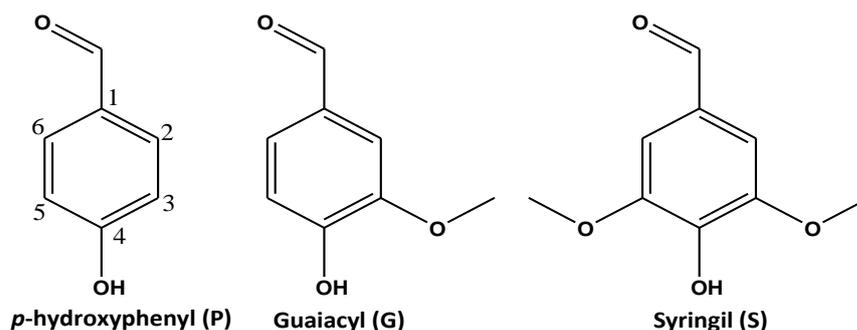


Figura 2.6. Monómeros constituintes mais comuns da lignina [26].

A quantidade de lignina varia consoante a origem da biomassa lignocelulósica, assim como a proporção dos diferentes monómeros e ligações químicas na estrutura. As unidades precursoras são unidas de forma aleatória, por ligações covalentes éter (C-O-C) e carbono-carbono (C-C). A lignina das resinosas (softwood) é constituída maioritariamente por unidades de guaiacilo como monómero dominante (representando 90%) e por pequenas quantidades de *p*-hidroxifenilo, enquanto para as folhosas (hardwood) a lignina contém geralmente uma maior quantidade de unidades seringilo do que guaiacilo, com muito poucas unidades de *p*-hidroxifenilo [26,32].

2.4 Pré-tratamento da biomassa lignocelulósica

Os métodos de pré-tratamento podem ser classificados como físicos, químicos, biológicos e, pode ainda haver combinações entre eles. Esta etapa tem como objetivo a ruptura da estrutura da parede celular, através da solubilização das hemiceluloses e da lignina, com o intuito de aumentar a pureza de celulose.

2.4.1 Pré-tratamentos físicos

Os pré-tratamentos físicos têm como principal função a redução do tamanho da biomassa por ação física. Estes incluem a fragmentação mecânica, a extrusão e a irradiação. Nestes métodos, o grau de polimerização da celulose e a cristalinidade diminuem e a área de superfície aumenta [33].

- **Extrusão**

O pré-tratamento por extrusão combina várias operações numa única unidade. Consiste na ação de parafusos extrusores, que podem ser simples ou duplos, dispostos num cilindro apertado. É um processo termomecânico, dado o aumento da pressão e temperatura devido às forças de corte geradas ao longo da extrusora. Assim, a biomassa é alimentada à extrusora e, com a presença de altas pressões e temperatura ($> 300^{\circ}\text{C}$), ocorre o encurtamento das fibras e uma alteração na estrutura química o que aumenta a área superficial, melhorando a acessibilidade, o que facilita a hidrólise [34,35].

- **Fragmentação mecânica**

A fragmentação mecânica é utilizada para reduzir o tamanho das partículas da biomassa, de modo a aumentar a superfície disponível para hidrólise, reduzir a extensão de polimerização da celulose assim como a sua cristalinidade. Pode ser realizada por moagem, trituração e estilhaçamento, sendo o que os difere é o tamanho final das partículas [34].

Embora este método apresente algumas vantagens significativas, não consegue remover a lignina durante o processo [23,24,25].

- **Irradiação**

Neste pré-tratamento há a aplicação de radiação no material lignocelulósico através de ultrassons, micro-ondas, feixes de elétrons e raios gamas. Esta provoca a quebra das ligações da celulose, e conseqüente diminuição da cristalinidade e aumento na área de superfície. Uma das grandes desvantagens associadas a este método é o elevado custo inerente e o facto de ser um processo lento, tornando-o num processo pouco viável em grande escala [34,36].

2.4.2 Pré-tratamentos biológicos

O pré-tratamento biológico (fungicida e bacteriológico), é uma técnica na qual se utilizam microorganismos vivos para tratar o material lignocelulósico. Na natureza existem certos microorganismos capazes de alterar a estrutura da biomassa. Os fungos de podridão branca, podridão suave e podridão castanha conseguem remover a lignina e as hemiceluloses sem provocar muito impacto na celulose. Os fungos de podridão castanha possuem a capacidade de degradar os materiais lignocelulósicos, enquanto os fungos de podridão suaves e brancas têm como alvo a lignina e as hemiceluloses [33]. Por outro lado, em contraste com o pré-tratamento fúngico, o tratamento microbiano degrada a celulose e as hemiceluloses [36].

É um método amigo do ambiente, de baixo consumo energético e baixo custo. No entanto, os cuidados em relação às condições crescimento, o tempo de residência de 10 a 14 dias, e a necessidade de grande espaço para a sua realização, são algumas das desvantagens associadas a este método, numa perspectiva de grande escala [36].

2.4.3 Pré-tratamento físico-químico

- **Explosão a vapor**

A explosão a vapor é um dos métodos mais utilizados de pré-tratamento físico-químico, combinando ação química e forças mecânicas. Trata-se de um pré-tratamento hidrotérmico que utiliza vapor saturado a alta pressão, para aquecer a biomassa, seguido de uma redução súbita de pressão. Durante a reação são atingidas temperaturas de 160 a 240°C e pressões entre 0.7 a 4.8 MPa. Após a reação a biomassa é exposta à pressão atmosférica, ocorrendo assim uma descompressão súbita, destruindo a estrutura do material lignocelulósico e promovendo a hidrólise das hemiceluloses [33,36,37].

Esta técnica tem várias vantagens como, menor impacto ambiental, menor exigência de condições de operação, consumo mínimo de produtos químicos e baixos custos de investimento [38]. No entanto, quando a biomassa tem elevado teor de lignina esta técnica não é eficiente [37].

Este pré-tratamento é afetado por fatores como a temperatura do vapor injetado, o tempo de residência, o tamanho das fibras do material lignocelulósico e o teor de humidade. De forma a melhorar a eficiência desta técnica podem-se incorporar no sistema catalisadores como H_2SO_4 , H_3PO_4 , SO_2 ou CO_2 . A adição destes pode diminuir o tempo de residência, assim como a temperatura de reação.

- **Água líquida sobreaquecida (LHW)**

O pré-tratamento com água líquida sobreaquecida é muito semelhante à técnica de explosão a vapor, no entanto, utiliza água em vez de vapor e a redução súbita de pressão não é necessária. Tem como principal objetivo separar as hemiceluloses do material sólido, solubilizando-a completamente [39]. A água entra em contacto com a biomassa por 15 minutos numa gama de temperaturas de 170 a 230°C, hidrolisa as hemiceluloses, libertando o seus grupos acetilo, e remove parte da lignina, tornando as fibras da celulose mais expostas [35,36,39].

Este método não necessita de catalisadores ou produtos químicos e de equipamentos resistentes à corrosão. Por outro lado, dado a grande quantidade de água envolvida é uma técnica com elevados consumos energéticos [35].

- **Expansão de fibras com amónia (AFEX)**

A expansão de fibras de amónia é outro processo muito semelhante à explosão com vapor, em que a biomassa é submetida a pressões elevadas e temperaturas moderadas com amoníaco anidro líquido, subitamente despressurizado [39]. Em comparação com a explosão de vapor, este processo é operado a temperaturas de 60 a 100°C, o que leva a uma diminuição dos custos globais do processo dado que é necessário menos energia.

Este pré-tratamento consegue remover parcialmente as hemiceluloses e a lignina, melhorar a área superficial bem como a acessibilidade da celulose para a hidrólise, no entanto não é muito eficiente para biomassas com alto teor de lignina como é o caso das madeiras [34].

As grandes vantagens associadas a este método são a grande seletividade para a reação com a lignina. No entanto, a ineficácia em biomassas com alto teor de lignina e as preocupações ambientais relacionadas com o cheiro do amoníaco e a toxicidade assim como o custo associado a este, são algumas das desvantagens que este método apresenta. Assim, deve-se recuperar e reciclar o amoníaco de forma a diminuir os custos globais do processo [33,34,38].

2.4.4 Pré-tratamentos químicos

▪ Pré-tratamento alcalino

O pré-tratamento alcalino é amplamente estudado e consiste na solubilização da lignina numa solução alcalina, visando a remoção da mesma. Este é realizado a condições moderadas e controladas e envolve a utilização de bases como hidróxido de amónia, sódio, potássio e cálcio que removem parcialmente as hemiceluloses e completamente a lignina, originando alteração na biomassa.

A utilização de bases faz com que ocorra uma reação de saponificação, que provoca a quebra das ligações ésteres intermoleculares entre a lignina e as hemiceluloses. Além disso, há um inchamento das fibras o que conduz ao aumento da área superficial interna e diminuição da cristalinidade assim como do grau de polimerização [35,39].

De entre as diferentes bases que podem ser utilizadas, o hidróxido de sódio tem sido o mais estudado, contudo, o seu elevado preço e o facto de estar associado a problemas de corrosão dos materiais dos equipamentos e incrustações são duas desvantagens assim como a difícil recuperação, o que irá aumentar ainda mais os custos associados. Em comparação com outros processos, este opera a baixa pressão e temperatura, no entanto, o tempo de reação é superior [35,39].

▪ Organosolv

Neste pré-tratamento, a biomassa lignocelulósica é tratada com solventes orgânicos ou com soluções aquosas de solventes. Estes provocam a rutura das ligações entre a lignina e as hemiceluloses por solubilização, o que se traduz numa melhoria da área superficial. Os solventes mais utilizados são o metanol, etanol, etilenoglicol, acetona [34,39].

Dado a facilidade de recuperação de solventes e reutilização dos mesmos, bem como a capacidade de fracionar a biomassa em componentes de celulose, hemiceluloses e lignina com elevada pureza, este é um método em crescimento. No entanto, também apresenta algumas desvantagens como a necessidade de recuperar os solventes orgânicos, uma vez que estes têm custos elevados, e o grande consumo energético. É de notar ainda que este pré-tratamento é realizado sob condições controladas devido à elevada inflamabilidade e volatilidade dos solventes orgânicos [40].

▪ **Pré-tratamento por cozimento Kraft**

O pré-tratamento por cozimento kraft é o mais utilizado para a remoção da lignina da biomassa lignocelulósica. Neste método, a biomassa é tratada com uma solução constituída por água, hidróxido de sódio (NaOH) e sulfureto de sódio (Na₂S), com pH elevado e a altas temperaturas, 150 a 180°C, normalmente durante 2 horas [41].

Durante este processo a lignina é despolimerizada em fragmentos mais pequenos e, pela ação dos aniões hidróxido e hidrosulfureto, torna os fragmentos de lignina solúveis em água, sendo assim possível obter uma celulose quase isenta de lignina [42].

▪ **Líquidos iónicos**

A utilização de líquidos iónicos como pré-tratamento da biomassa lignocelulósica ganhou interesse, recentemente, pela comunidade científica. Os líquidos iónicos são sais puros, normalmente líquidos à temperatura ambiente e com baixo ponto de fusão (abaixo dos 100°C), formados por uma combinação de catiões e aniões. Os catiões são geralmente orgânicos, enquanto, os aniões incluem iões orgânicos e inorgânicos [35,43].

Estes, para além de exibirem uma boa capacidade de dissolver a biomassa, apresentam também várias vantagens em comparação com os solventes orgânicos como, alta polaridade e estabilidade térmica, pressão de vapor insignificante e baixa volatilidade. Algumas propriedades físico-químicas podem ser ajustadas combinando catiões e aniões de forma a alcançar as necessidades de cada processo [44]. Este pré-tratamento é semelhante ao pré-tratamento Organosolv. Neste caso, os líquidos iónicos competem pela ligação de hidrogénio com os componentes da biomassa lignocelulósica o que se traduz na rutura da rede [33].

Neubert et al. (2020) [44] testaram vários líquidos iônicos para diferentes condições de temperatura e tempos de reação, como pré-tratamento para o bagaço da cana-de-açúcar. A melhor percentagem de deslignificação foi conseguida com o líquido iônico *1-butyl-3-methylimidazolium hydrogen sulfate* para as condições de 2 horas a 120°C, sendo o valor obtido de 86.2% [44].

No entanto, processos baseados em líquidos iônicos têm riscos associados quando utilizados à escala industrial, incluindo a potencial ecotoxicidade. Características como alto custo de produção e purificação e temperaturas de processamento elevadas, dado a elevada viscosidade, contribuem para a redução da sua utilização em grande escala [45].

▪ Solventes eutécticos profundos (DES)

Os solventes eutécticos têm obtido muito interesse nos últimos anos, uma vez que apresentam desempenho favorável quando utilizados como solventes de extração e fracionamento da biomassa lignocelulósica [7]. Partilham várias propriedades físico-químicas com os líquidos iônicos como, insignificante pressão de vapor e baixo ponto de fusão. No entanto, os solventes eutécticos apresentam características vantajosas em comparação com os líquidos iônicos como o baixo custo de síntese, flexibilidade e a biodegradabilidade [35].

O primeiro DES foi sintetizado pela Abbott em 2004 e era formado pela mistura de ácidos de Bronsted ou Lewis, dadores de ligações de hidrogénio (HBDs), combinados com sais de amónio quaternário (por exemplo, cloreto de colina (ChCl)), aceitadores de ligações de hidrogénio (HBAs) [27–29,46]. Quando misturados a uma determinada razão molar, o ponto de fusão da mistura torna-se significativamente inferior ao dos componentes originais [47]. As propriedades físicas do DES, como baixa viscosidade, ponto de fusão e volatilidade, alta estabilidade térmica, condutividade e tensão superficial, são semelhantes à dos líquidos iônicos à temperatura ambiente [27]. Esses solventes podem ser considerados uma subclasse de líquidos iônicos porque as suas propriedades físico-químicas podem ser ajustadas alterando a estrutura do HBD ou HBA, e eles têm uma pressão de vapor muito baixa e não são inflamáveis [29]. Outra vantagem destes solventes, amplamente considerados como biossolventes promissores, é o seu baixo custo, baixa toxicidade e propriedades biodegradáveis [25]. Devido às suas propriedades, alguns DES mostraram dissolução seletiva em relação à lignina e baixa solubilidade da celulose [7].

Na literatura, existem vários exemplos de aplicações de DES na extração de hidrocarbonetos aromáticos de alcanos [48]. Esses estudos têm-se concentrado na extração da lignina e purificação da celulose. O ChCl é um sal de amónio quaternário adequado, muito estudado como HBA, por ser atóxico e uma substância biodegradável que é utilizada atualmente como aditivo em ração animal e nutrição humana [49].

Através das ligações entre HBA e HBD ocorre a deslocalização da carga, o que traduz numa diminuição do ponto de fusão do solvente eutético em relação aos seus componentes individuais [50]. Na Figura 2.7, estão representados alguns dos HBA e HBD mais utilizados na preparação de solventes eutéticos. O HBD inclui ácidos carboxílicos, aminas e polióis, enquanto o cloreto de colina (ChCl) é o HBA mais utilizado [50].

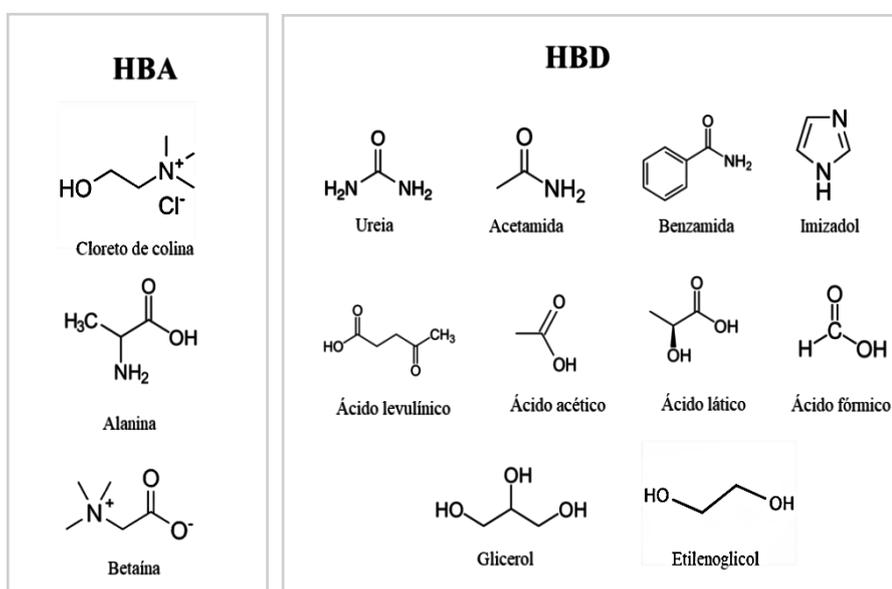


Figura 2.7. Aceitadores e dadores de ligações de hidrogénio.

A utilização de DES como pré-tratamento da biomassa lignocelulósica consiste, de uma forma geral, na capacidade destes separarem de forma eficiente os componentes. A maioria dos DES apresentam uma elevada solubilidade da lignina e muito baixa solubilidade da celulose e hemiceluloses. Assim, em contacto com a biomassa conseguem solubilizar e remover a lignina, sendo possível obter um resíduo rico em celulose [51,52].

DES à base de ácidos são altamente eficientes na dissolução de lignina quando comparados com outros solventes eutéticos, conseguindo uma remoção superior a 90% de lignina, para qualquer tipo de biomassa lignocelulósica. No entanto, o rendimento e a seletividade da extração da lignina são afetados tanto pelo HBA como pelo HBD. Neste pré-

tratamento, a lignina é solubilizada no DES e, a maior parte da celulose, é geralmente retida na fração sólida da biomassa tratada com DES [52].

Francisco et al. (2013) [46] avaliaram o efeito de 26 DESs diferentes na solubilidade do biopolímero para inferir sobre sua adequação para o fracionamento de biomassa. Os autores descobriram que as misturas à base de ácido láctico-cloreto de colina fornecem alta solubilização de lignina com má dissolução de amido e celulose e que, uma maior proporção de ácido melhora a dissolução da lignina. No entanto, para a mistura ácido málico-prolina, uma tendência oposta foi observada, o menor teor de ácido favoreceu a solubilidade da lignina, mas também foi detetado um aumento da solubilização da celulose e do amido, sugerindo que a prolina melhora a solubilidade da celulose [46].

Tan et al. (2019) [53] realizaram um estudo sobre o efeito de diferentes grupos funcionais de HBD ácido em DESs à base de cloreto de colina para extração de lignina. Os autores descobriram que, para ácidos saturados lineares com grupos funcionais semelhantes, os ácidos de cadeia alquílica curta exibem maior desempenho para dissolução de lignina: as misturas de cloreto de colina-ácido fórmico alcançaram um rendimento de extração de lignina maior do que o cloreto de colina-ácido butanoico, com 61.9% e 14.3 % em peso de rendimento de dissolução de lignina, respetivamente. Esse comportamento resulta do fato de que a capacidade do solvente de doar prótons em redes de ligações de hidrogénio solvente-soluto diminui com o aumento do comprimento da cadeia alquílica do ácido [54]. Tanto para os ácidos alfa-hidroxi quanto para os ácidos saturados lineares, os ácidos monocarboxílicos apresentam maior rendimento de extração do que os ácidos di- e tricarboxílicos. A presença de grupos carboxílicos adicionais prejudica a extração devido ao entrelaçamento físico causado pela formação de extensas cadeias de dímeros [55]. Essa dimerização restringe a mobilidade das moléculas de solvente, resultando numa interação mais pobre entre o solvente e o soluto [56]. Ao comparar ácidos com o mesmo comprimento de cadeia e o mesmo número de grupos carboxílicos, verificou-se que grupos hidroxilo extra no alfa-hidroxiácido facilitam a extração de lignina devido à polaridade mais alta. Os ácidos insaturados de ligação dupla exibem desempenho de extração inferior ao dos alfa-hidroxiácidos, mas superior aos ácidos saturados lineares [56].

O tipo de biomassa, as propriedades físico-químicas e a natureza recalcitrante do resíduo também pode afetar a eficácia do DES, como mostra um estudo recente [48]. No estudo, utilizaram como pré-tratamento um DES composto por cloreto de colina e glicerol e mostraram que não era eficiente com resíduos de tamareira, a não ser que fosse efetuado

previamente um pré-tratamento hidrotérmico com o intuito de reduzir a estrutura recalcitrante [48].

Zhang et al. (2016) [57] avaliaram três tipos de DES (ChCl: Ácido monocarboxílico, ChCl:Ácido dicarboxílico e ChCl:Poliálcool) no tratamento da espiga de milho. Os autores constataram que no tratamento com ChCl:Ácido láctico, com o aumento da razão molar de 1:2 para 1:15, a extração da lignina aumentou drasticamente de 64.7% para 93.1%. Ou seja, com o aumento da quantidade de ácido, a deslignificação da espiga de milho aumentou. Por outro lado, o tratamento com ChCl:Ácido dicarboxílico demonstrou ser menos eficaz no pré-tratamento. No pré-tratamento com ChCl:Poliálcool, os grupos hidroxilo livres podem interagir com os grupos hidroxilo livres da lignina levando a uma percentagem de extração de aproximadamente 85% [57].

Na Tabela 1, encontram-se alguns resultados encontrados na literatura referentes ao pré-tratamento com DES para diferentes biomassas.

Tabela 1. Remoção de lignina para diferentes biomassas sob ação de diferentes DES.

Biomassa	HBA:HBD	Condições de operação	% de remoção de lignina	Referências
Palha de milho	ChCl:OA (1:1)	90°C, 24h	98.5	[57]
Palha de arroz	ChCl:OA (1:2)	120°C, 1h	75.9	[58]
Salgueiro	ChCl:AL (1:10)	120°C, 12h	91.8	[59]
Bagaço de cana-de-açúcar	ChCl:AL (1:5)	80°C, 12h	50.6	[60]
Choupo	ChCl:AL (1:9)	120°C,6h	98.1	[61]
Palha de milho	ChCl:Ureia (1:2)	80°C, 15h	27.1	[62]

ChCl – Cloreto de colina; AO – Ácido oxálico; AL – Ácido láctico

Fernandes et al. (2021) [7], verificaram que as propriedades dos DESs, principalmente o teor de água e viscosidade, possuem uma clara dependência da sua composição, o que pode influenciar em grande medida a eficiência de extração; um alto excesso de água pode levar ao rompimento completo do DES [7]. Deste modo, deve ser enfatizado que o efeito do aumento

da polaridade do meio de extração (como resultado da adição de água) na eficiência de extração depende da polaridade dos próprios analitos alvo [63].

Um composto promissor a ser utilizado como HBD é o ácido levulínico (LA), também conhecido como ácido 4-oxopentanoico. É um ácido gordo não volátil de cadeia curta, incolor, no entanto o produto comercial apresenta uma ligeira cor amarela, com um ponto de fusão de 33 a 37°C, um ponto de ebulição entre 245 e 246°C e uma densidade de 1.14g/cm³. Em água, o LA tem um pKa (25°C) de 4.59, o que significa que sua acidez é comparável à da maioria dos ácidos carboxílicos de alcano inferior [64].

Este composto contém dois grupos funcionais altamente reativos, um grupo carboxilo e um grupo carbonilo, pelo que muitos produtos químicos podem ser obtidos através dele. Atualmente, é utilizado em diversas indústrias, incluindo produtos de cuidado pessoal, lubrificantes, produtos farmacêuticos, fabrico de fragâncias e solventes [64,65].

O LA pode ser obtido a partir de diferentes fontes renováveis, tais como açúcares (glucose, sacarose e frutose) e biomassa (bagaço da cana-de-açúcar, amido) [7,66]. Assim, o ácido levulínico associado a um HBA como o cloreto de colina, pode apresentar uma boa eficiência na reação de extração da lignina.

As proporções molares de ChCl:LA (1:2) e (1:3) permitem a preparação de um DES líquido à temperatura ambiente enquanto a mistura 1:1 forma um cristal branco à temperatura ambiente que não é adequado para o fracionamento de biomassa [67,68].

2.5 Síntese de flocculantes aniônicos à base de celulose

A celulose é um biopolímero e, tendo em conta algumas das suas características como, alta resistência e durabilidade, baixo custo, alta estabilidade térmica e biocompatibilidade, muitas vezes é utilizada para a produção de derivados celulósicos. No entanto, devido à forte rede de ligações de hidrogénio intermolecular e à estrutura cristalina, a celulose apresenta baixa solubilidade em solventes comuns e falta de termoplasticidade, o que a torna difícil de processar [5,6]. Deste modo, através da sua modificação química é possível ultrapassar tais dificuldades.

Atualmente, dos vários métodos de funcionalização da celulose, a anionização é ainda pouco desenvolvida e utilizada em comparação com a cationização [69]. De uma forma geral, as suas propriedades dependem fortemente dos tipos de grupos substitutos e do seu grau de substituição, bem como da sua distribuição na espinha dorsal da celulose.

A celulose é um químico ativo devido à presença dos três grupos hidroxilo em cada AGU. Na maioria dos casos, os grupos hidroxilo nas posições C2 e C3 comportam-se como álcoois secundários, enquanto o grupo hidroxilo em C6 atua como um álcool primário. Se todos os três grupos hidroxilo são substituídos, o grau de substituição (DS) é 3. Portanto, o DS indica o número médio de grupos OH na AGU que foram substituídos [25]. A reatividade desses três grupos hidroxilo sob condições heterogêneas pode ser afetada por: 1) reatividade química inerente, 2) por efeitos estéreos que são produzidos pelo agente reagente, e 3) por efeitos estéreos que são derivados da estrutura supramolecular da celulose [25].

Uma classe importante de reações na celulose são as esterificações. A este respeito, verificou-se que o OH na posição C6 é mais reativo do que o OH nas outras posições. Além disso, observou-se que o OH na posição C2 reage duas vezes mais rápido do que o OH na posição C3 nas reações de esterificação [29]. Em comparação com os outros dois grupos alcoólicos secundários, o grupo alcoólico primário em C6 tem um eixo de rotação livre em torno da ligação C5 C6, que permite um comportamento mais reativo dos grupos alcoólicos primários. No entanto, a reatividade do OH na posição C6, depende das condições de oxidação, do tipo de oxidante e do pH do meio [70].

Apesar dos grupos OH reativos favoráveis, as reações envolvendo a celulose normalmente não são fáceis, principalmente porque a celulose é altamente heterogênea por natureza. Como discutido acima, diferentes partes de fibrilas de celulose exibem acessibilidades muito diferentes ao mesmo reagente (domínio amorfo vs. cristalino) [71]. Os tratamentos de acessibilidade à celulose podem ser realizados de várias maneiras, como intumescimento, troca de solvente, inclusão, degradação ou trituração mecânica [72]. Entre estes, o inchaço é o método de ativação mais frequentemente usado para a modificação subsequente da celulose. Os agentes de intumescimento geralmente penetram nas regiões altamente ordenadas e quebram/enfraquecem as interações entre as cadeias e fibrilas de celulose. Dependendo das condições prevalecentes do meio, a celulose pode comportar-se como um ácido, como uma base ou como uma espécie anfotérica. Tal comportamento ajuda a explicar o aumento da eficiência do enxerto de celulose em condições ácidas [73].

A eficiência do processo de ativação (inchaço/dissolução) influencia profundamente a capacidade de facilitar e controlar as reações com os três grupos hidroxilo em cada AGU [74]. É importante observar que o inchaço e a dissolução da celulose são dois processos distintos. Porém, para ocorrer inchaço ou dissolução, os agentes químicos precisam de penetrar na estrutura fibrilar interna da celulose. No processo de intumescimento, a estrutura geral da

celulose permanece essencialmente intacta, independentemente de algumas mudanças físicas significativas e do aumento de volume devido à absorção do agente de intumescimento.

Independentemente das diferenças entre os dois processos, do ponto de vista físico-químico, ambos ocorrem pela superação das interações intermoleculares responsáveis pela coesão da estrutura fibrilar [75]. Também é importante referir que devido à heterogeneidade estrutural da maioria das amostras de celulose, ambos os processos podem ocorrer simultaneamente durante o tratamento, resultando na dissolução parcial do material e numa fração mais ou menos inchada [74]. Obviamente, isso ilustra como esses sistemas e processos são complexos, não permitindo conclusões simples e diretas.

A carboximetilcelulose (CMC) é o polielérolito aniônico à base de celulose e solúvel em água mais conhecido. Este é obtido a partir da reação da celulose com cloroacetato de sódio em meio alcalino onde ocorre a substituição dos grupos OH nas posições C2, C3 ou C6 da unidade de glucose (AGU) [76]. O método convencional de síntese de CMC é o processo de alquilação-esterificação. Desde o início da sua síntese, em 1920, este é o processo utilizado em todos os trabalhos de investigação a partir de várias matérias-primas. A única diferença entre eles é a razão entre os químicos aplicados e as condições de reação como o tempo, o pH e a temperatura [77]. A síntese de CMC a partir da celulose pura consiste em duas etapas. Na primeira etapa, a celulose é colocada em contacto com reagentes alcalinos, normalmente NaOH, durante um determinado tempo e a uma certa temperatura. É importante controlar rigorosamente estas condições, uma vez que, uma ligeira alteração pode alterar significativamente o valor de DS e outras propriedades físico-químicas. Durante esta etapa, é adicionado ainda um solvente inerte, geralmente etanol ou isopropanol para facilitar a penetração dos reagentes na estrutura da celulose. Na etapa seguinte, a esterificação, é adicionado ao produto da etapa anterior um agente esterificante, normalmente cloroacetato de sódio (NaMCA). Após as reações, o produto é centrifugado, filtrado e posteriormente seco. O DS é uma característica importante da CMC, determinando a sua solubilidade em água, sendo que a CMC apresenta boa solubilidade em água para valores de DS acima de 0.6. O valor teórico máximo do DS para a celulose/CMC é de 3, no entanto, os valores comerciais encontram-se entre 0.4 e 1.5 [78].

Outra forma de tornar a celulose aniônica é através da introdução de grupos sulfonados (SO_3^-). Os agentes sulfonados como, ácido sulfúrico, ácido clorossulfúrico e complexos destes agentes como $\text{SO}_3/\text{piridina}$, SO_3/DMF e $\text{ClSO}_3\text{H}/\text{DMF}$ são utilizados na funcionalização da celulose [79]. Zhu et al. (2014) [79] sugeriram a sulfonação direta da celulose utilizando o

complexo $\text{ClSO}_3\text{H}/\text{DMF}$ como agente sulfonante. Neste trabalho, produziram-se polieléctrolitos com boa solubilidade em água e com um grau de substituição superior a 0.38. Svensson et al. (2005) [80] também conseguiram obter sulfato de celulose solúvel em água utilizando um complexo $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}/\text{DMF}$ e com DS de 0.57.

Num estudo realizado por Liimatainen et al. (2012) [73] constatou-se que, uma forma de aumentar a reatividade da celulose, de modo a facilitar a anionização, é através de um processo bietápico que consiste na introdução de grupos aldeídos reativos na espinha dorsal da celulose. Nesta reação, os grupos $-\text{OH}$ vicinais nas posições C2 e C3 da celulose são oxidados com periodato de sódio em grupos aldeído e simultaneamente a ligação de carbono correspondente ao anel de glucopiranosose é quebrada, produzindo celulose 2,3-dialdeído (DAC), Figura 2.8 [73].

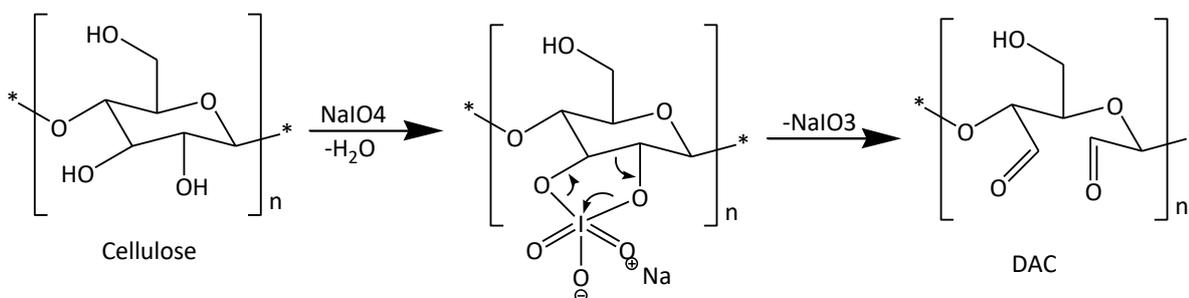


Figura 2.8. Oxidação da celulose com periodato de sódio [73].

A oxidação com o periodato de sódio é, geralmente, conduzida utilizando oxidante em excesso e longos tempos de reação. No entanto, a eficiência da reação pode ser melhorada utilizando tratamentos mecânicos prévios, altas temperaturas e sais metálicos como ativadores. Embora o periodato seja tóxico, pode ser regenerado e reciclado após a reação, o que torna este método ambientalmente sustentável [81].

A partir do DAC, a funcionalização da celulose pode ser baseada na adição de bissulfito que permite a criação de grupos sulfonados ou na adição de derivados de ácido carboxílico através de uma oxidação adicional.

Liimatainen et al. (2012) [4] estudaram a síntese de celulose aniónica de ácido dicarboxílico (DCC), utilizando oxidação regioseletiva e sequencial com periodato e clorito de sódio de uma pasta de celulose folhosa, Figura 2.9. Nesta reação de síntese, os grupos

aldeídos reativos do DAC são oxidados seletivamente com ácidos para formar o ácido celulósico 2,3-dicarboxilicos (DCC), quimicamente estável.

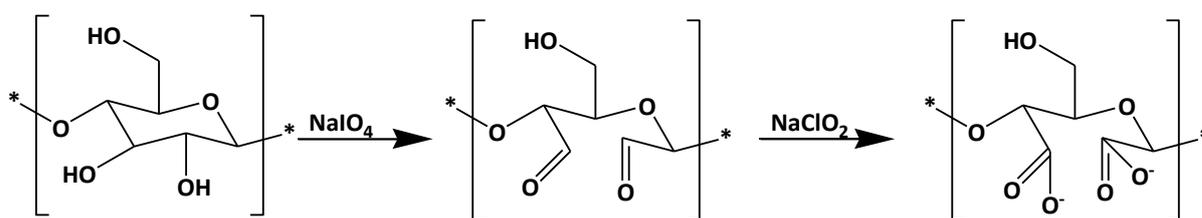


Figura 2.9. Oxidação da celulose com periodato de sódio e clorito de sódio [4].

Por outro lado, os derivados de celulose aniónica resultante da adição de grupos sulfonados podem ser sintetizados a partir da reação entre o DAC e o metabissulfito de sódio em solução aquosa entre 24 e 72 horas e à temperatura ambiente, Figura 2.10. Liimatainen et al. (2012) [4] desenvolveram ADAC's (celulose dialdeído aniónica) numa reação em duas etapas com periodato seguido de metabissulfito e os produtos finais (ADAC) mostraram estabilidade na gama de pH de 3 a 9, e exibiam 2.1 a 3.2 mmol/g de grupos carregados. Com esta reação em duas etapas conseguiram obter um floculante eficaz nas suspensões de caulino [4]. Noutro estudo realizado por Rajalaxmi et al. (2010) [82], o ADAC sintetizado a partir de pasta Kraft de *hardwood*, foi produzido da mesma forma. No entanto, neste estudo relataram que a solubilidade do ADAC depende do conteúdo de grupos de ácido sulfónico sendo que este é dependente da quantidade de grupos aldeídos no DAC obtido na etapa anterior. Os ADAC's sintetizados mostraram boa solubilidade em água desde que o teor ácido sulfónico fosse superior a 0.16 mmol/g [82].

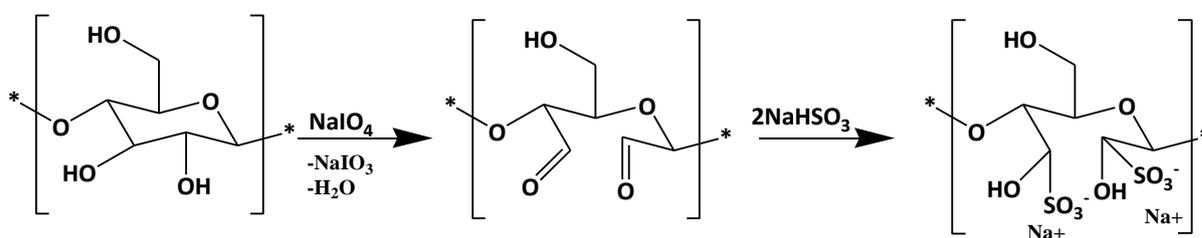


Figura 2.10. Oxidação da celulose com periodato de sódio seguido da reação de sulfonação com metabissulfito de sódio [83].

Grenda et al. (2021) [69] estudaram a síntese de polielérolitos aniônicos a partir de pastas de eucalipto, com diferentes teores de lignina, sendo a oxidação com periodato seguida de sulfonação com metabissulfito de sódio o mecanismo de modificação utilizado. Obtiveram polielérolitos aniônicos com potencial zeta na gama de -32 a -50 mV e observaram que de uma forma geral, os floculantes a partir de pastas com o maior teor de lignina (4.4%) apresentaram bons resultados na floculação, semelhantes aos resultados obtidos com os floculantes naturais sintetizados a partir de matérias-primas com menor teor de lignina e maior homogeneidade.

Uma vantagem deste método é que toda a síntese pode ser realizada em meio aquoso. As estruturas dos polímeros enxertados variam de um revestimento fino a uma matriz contínua envolvendo completamente as fibrilas. Este tipo de modificação pode oferecer uma maneira simples de melhorar a compatibilidade de materiais lignocelulósicos com polímeros sintéticos.

A partir dos exemplos discutidos acima, é claro que os materiais lignocelulósicos podem ser modificados de muitas maneiras diferentes. Isso deve ser feito sem descuidar o ajuste cuidadoso das funcionalidades introduzidas de forma a fortalecer a interação entre os derivados de lignocelulose e as impurezas do caldo e, portanto, maximizar os fenômenos de floculação propostos nesta tese de mestrado.

Capítulo 3

Materiais e trabalho experimental

O objetivo do trabalho consistiu no desenvolvimento de polímeros de celulose aniônicos, partindo do bagaço da cana-de-açúcar, para serem utilizados como floculantes no processo de clarificação do caldo da cana-de-açúcar. Numa perspetiva de economia circular, estudou-se o bagaço do mesmo processo (o bagaço da cana-de-açúcar) como matriz para a obtenção da celulose e posterior funcionalização.

Deste modo os objetivos para esta dissertação de mestrado podem ser divididos em:

- Purificação e caracterização da celulose, estudando duas proporções de DES e as condições de extração de lignina.
- Desenvolvimento e caracterização dos novos derivados de celulose aniônicos provenientes do bagaço tratado (mais rico em celulose).
- Estudo da eficiência dos diferentes bio-floculantes na clarificação do caldo de cana-de-açúcar.

O plano de trabalho foi realizado em parceria com a Universidade de São Paulo, tendo a componente de extração da lignina e síntese dos polielérolitos sido realizada no Departamento de Engenharia Química da Universidade de Coimbra e a componente de aplicação destes no caldo estudada na Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

3.1 Materiais

3.1.1 Bagaço da cana-de-açúcar

O bagaço da cana-de-açúcar foi a matéria-prima utilizada neste trabalho e foi fornecido pelo Laboratório Hugot de Tecnologia do Açúcar da Universidade de São Paulo. A amostra foi recolhida numa unidade fabril de produção de açúcar na zona de Piracicaba, Brasil e enviada para o Departamento de Engenharia Química, sem qualquer tratamento prévio. Posteriormente foi seca numa estufa a 60°C durante 48 horas, em seguida, moída com uma malha de 20 *mesh* num moinho de facas (fornecido por Thomas Scientific, USA) e por fim peneirada, Figura 3.1.



a)

b)

Figura 3.1. Bagaço da cana-de-açúcar: a) sem qualquer tratamento; b) moído (20 *mesh*).

3.1.2 Reagentes

O ácido levulínico (98 wt%, MW= 116.12 g/mol e uma densidade de 1.130) e o cloreto de colina (99 wt%, MW= 139.62 g/mol) foram comprados na Acros Organics, enquanto o ácido sulfúrico (72 wt%, MW=98.08 g/mol e densidade de 1.634 g/mL) foi adquirido na Chem-Lab NV. A solução de hidróxido de sódio a 10% foi preparada com água destilada e pérolas de hidróxido de sódio 1-2 mm (MW= 40 g/mol) adquiridas no LabKem. O carbonato de cálcio (>99%, MW=100.09 g/mol e densidade de 2.93g/mL a 25°C), o cloreto de lítio (99 wt%, MW=42.39 g/mol) e o metabissulfito de sódio (puro e seco 98-100.5%, MW= 190.11 g/mol) foram comprados na Sigma-Aldrich. A solução tampão de acetato com pH=4.5 foi preparada com acetato de sódio anidro (99 wt%, MW=82.03 g/mol e uma densidade de 1.52 g/cm³) e ácido acético glacial (99 wt%, 60.05 g/mol) adquiridos no Chem-Lab e VWR Chemicals, respetivamente. O periodato de sódio (99 wt%, MW= 213.89 g/mol) foi comprado na Fisher Scientific, o 2-propanol (99.94 wt%, MW=60.10 g/mol, com 0.012wt% de água) no José Manuel Gomes dos Santos, LDA e o etilenoglicol (MW= 62.07 g/mol) na ITW reagentes.

3.2 Metodologia experimental

3.2.1 Fracionamento do bagaço da cana-de-açúcar e purificação da celulose com DES

Na Figura 3.2 encontram-se esquematizado o procedimento experimental referente à etapa de fracionamento do bagaço com DES.

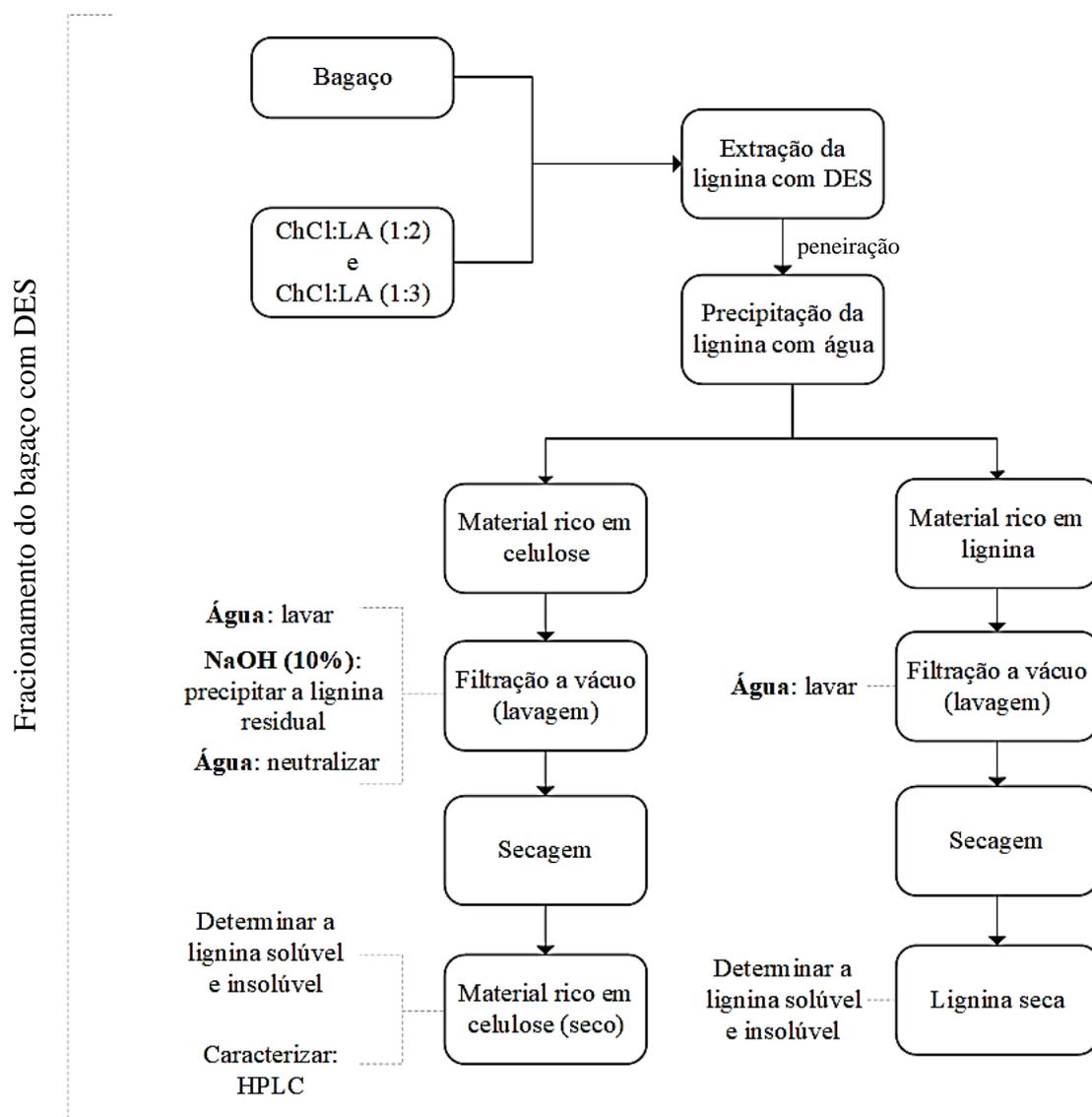


Figura 3.2. Esquematização do procedimento experimental do processo de fracionamento.

3.2.1.1 Preparação dos solventes eutéticos

Os solventes eutéticos utilizados foram o cloreto de colina + ácido levulínico nas proporções de 1:2 e 1:3. Para a sua preparação, pesou-se cada um dos reagentes e colocou-se num copo de 250 mL sob agitação à temperatura ambiente, durante 8-12 horas, para uma melhor homogeneização da mistura.

3.2.1.2 Processo de fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar

O fracionamento do bagaço da cana-de-açúcar foi realizado a diferentes temperaturas, tempos de extração e relação ChCl:LA, Tabela 2, de forma a avaliar o desempenho nas diferentes condições.

Tabela 2. Condições do processo de fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar-

Proporção de ChCl:LA	Temperatura (°C)	Tempo de reação (h)
1:2	120; 140; 160	1; 2; 4; 6; 8
1:3		

Começou-se por introduzir 0.75 g de bagaço da cana-de-açúcar (base seca), previamente seco numa estufa a 105°C e 10 mL de solvente eutético (ChCl:LA) num reator cilíndrico metálico, capaz de suportar altas pressões, Figura 3.3. De seguida, este foi colocado na estufa a temperaturas que variaram de 120 a 160°C enquanto que os tempos de extração variaram de 1 a 8 horas. Posteriormente, quando terminado o tempo de reação, o reator é retirado da estufa e deixa-se arrefecer.



Figura 3.3. Reator utilizado nas reações de extração.

Após o término da reação, o reator cilíndrico é cuidadosamente aberto, e a fração da celulose é meticulosamente lavada com água. Para tal, o conteúdo obtido pela reação do bagaço de cana-de-açúcar com DES é vertido num peneiro com uma malha de 0.355 mm (45 *mesh*) e lavado com água. Nesta fase, o material rico em lignina é arrastado com a água e o material rico em celulose fica no peneiro (ocorre a precipitação da lignina no filtrado, sendo a água o anti-solvente). É de salientar que a malha do peneiro tem que ser a ideal para que a separação ocorra, ou seja, que a celulose fique retida no peneiro e que a lignina seja arrastada com a água. Posteriormente, tanto a celulose como a lignina são filtradas a vácuo. Após a separação no peneiro são obtidas duas frações, uma rica em celulose (FRC) e outra em lignina (FRL).

A filtração do material rico em lignina ocorre por filtração a vácuo até que o resíduo de filtração esteja límpido. Por outro lado, a filtração do material rico em celulose é composta por 3 etapas. Começou-se por lavar muito bem com água, em seguida adicionou-se uma solução de NaOH a 10% em peso (aquoso), para remover a lignina residual que se encontra precipitada sobre a fibra. Por fim, a fração rica em celulose foi lavada extensivamente com água destilada para remover quaisquer produtos químicos remanescentes e neutralizar as fibras. Após as filtrações, os dois materiais, um rico em lignina e outro em celulose, foram secos numa estufa a 50-60°C para posteriormente serem caracterizados, Figura 3.4.

O rendimento de extração global do bagaço é determinado pela Equação 1, onde m_{FRC} é definida como a massa da fração rica em celulose.

$$Rendimento\ extração = \frac{m_{bagaço\ (inicial)} - m_{FRC}}{m_{bagaço\ (inicial)}} \times 100 \quad (1)$$

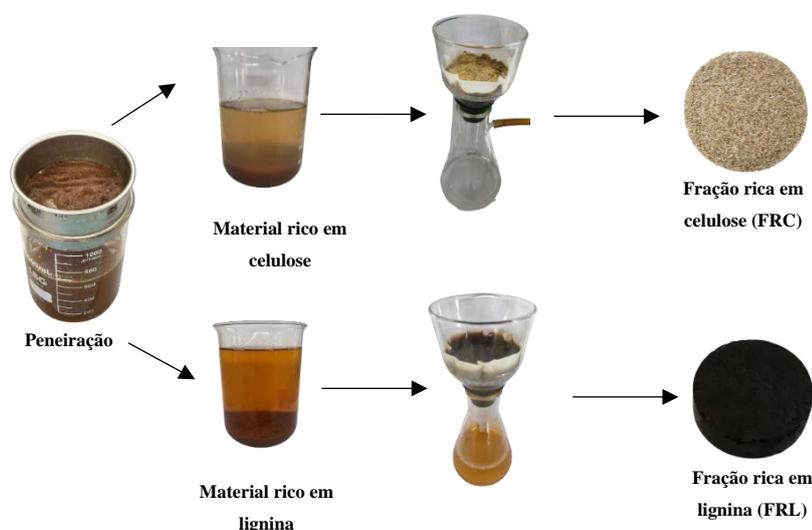


Figura 3.4. Representação esquemática do processo de separação da celulose e da lignina.

3.2.1.3 Caracterização da celulose e da lignina extraída

▪ Hidrólise da lignina extraída do bagaço

O método para quantificar o teor de lignina presente é denominado de hidrólise ácida e segue o protocolo padrão LAP-004 (NREL/TP-510-42618)[83], Anexo I. De uma forma resumida, pesaram-se aproximadamente 300 mg do extrato da reação e colocaram-se a hidrolisar com uma solução de ácido sulfúrico (12 mol/l) a 72% durante 1 hora a 30°C. Em seguida, a amostra hidrolisada foi diluída de forma a obter uma solução com 4% de ácido sulfúrico e foi colocada no autoclave a reagir durante 1 hora a 121°C. Posteriormente, as amostras foram filtradas a vácuo utilizando cadinhos filtrantes de forma a determinar a lignina insolúvel em ácido por gravimetria, Equação 2.

$$\text{Lignina insolúvel (\%)} = \frac{m_{\text{lignina}_{\text{ins}}}(\text{g})}{m_{\text{AS}}(\text{g})} \times 100 \quad (2)$$

Onde m_{AS} é a massa da amostra inicial (base seca) e $m_{\text{lignina}_{\text{ins}}}$ é a massa de lignina insolúvel.

As amostras dos filtrados foram adequadamente diluídas e usadas na determinação da lignina solúvel em ácido, Equação 3, medindo a absorvância das soluções a 205 nm num espectrómetro UV-VIS (espectrofotômetro JASCO V650). A quantidade total de lignina presente na fração rica em celulose foi estimada somando as frações insolúvel e solúvel, Equação 4.

$$\text{Lignina soluvel(\%)} = \frac{\text{ABS} \times \text{FD} \times V_{\text{Hidrolisado}}(\text{l})}{\varepsilon \left(\frac{\text{l}}{\text{g} \cdot \text{cm}^{-1}} \right) \times m_{\text{AS}}(\text{g})} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Lignina total (\%)} = \text{Lignina insolúvel (\%)} + \text{Lignina solúvel (\%)} \quad (4)$$

Onde $V_{\text{Hidrolisado}}$ é o volume do filtrado (onde se encontra a lignina solúvel), m_{AS} é a massa da amostra inicial (base seca), ABS é o valor de absorvância a 205 nm do filtrado diluído, FD é o fator de diluição para obter uma absorvância na faixa entre 0.2 e 0.8, ε toma o valor 110 e é o coeficiente de extinção molar para a lignina.

- **Hidrólise da celulose e hemicelulose do bagaço extraído para análise por HPLC**

Depois de autoclavar as amostras, uma amostra de 20 mL do hidrolisado proveniente do procedimento descrito para determinar a lignina, foi transferida para um Erlenmeyer de 50 mL e lentamente neutralizado com carbonato de cálcio até atingir um pH final de 5-6. O pH da solução foi monitorizado com um medidor de pH (inoLab, WTW de Weilheim, Alemanha). Em seguida, a solução foi filtrada com um filtro de Nylon de 0.22 μm diretamente para um tubo Eppendorf, sendo esta amostra usada para posterior análise de HPLC (Knauer, modelo K301).

- **Cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC)**

O conteúdo de carboidratos das frações do bagaço é determinado por HPLC e a preparação da amostra é feita conforme descrito em cima. O equipamento de HPLC é da marca Knauer, Alemanha (modelo K301). Foi usada uma coluna Rezex ROA-Organic acid H⁺ 300x7.8 mm (Phenomenex). Como fase móvel foi utilizada uma solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄), 0.005N, previamente filtrada com um filtro de membrana de 0.2 μm de porosidade e 47 mm de diâmetro. A taxa de fluxo foi de 0.6 mL/min, o tempo de execução de 60 min e a temperatura da coluna 40°C. A composição química e a pureza da celulose nas amostras da fração sólida rica em celulose foram determinadas com base na composição do monossacarídeo (ou seja, a celulose foi determinada com base na glicose e a hemicelulose com base no teor de xilose).

- **Espectroscopia UV-Visível**

Os espectros de UV-VIS da lignina solúvel em água foram medidos num espectrofotômetro Jasco, modelo V550, na faixa de comprimento de onda de 800 a 200 nm, com velocidade de varredura de 200 nm/min. As amostras são analisadas em duplicado.

3.2.1.4 Análise estatística (ANOVA)

O tratamento estatístico foi realizado utilizando a metodologia ANOVA ($\alpha = 0.05$), com o intuito de avaliar as diferenças significativas nos valores referentes ao rendimento das extrações nas diversas condições e na quantidade de lignina presente no material rico em celulose.

3.2.2 Síntese de polieletrólitos aniônicos

3.2.2.1 Síntese da celulose dialdeído (DAC)

O procedimento utilizado foi baseado no trabalho desenvolvido por Grenda et al. (2019) [73]. A primeira etapa tem como foco melhorar a acessibilidade dos reagentes às fibras, realizando-se o intumescimento da celulose extraída. Começou-se por pesar uma determinada quantidade de bagaço extraído (base húmida) num gobelé de 250 mL e adicionou-se água destilada até obter uma consistência de 4%. Em seguida, o gobelé foi colocado durante a noite sob agitação magnética (300 rpm) e à temperatura ambiente.

Posteriormente, a suspensão foi transferida para um balão de fundo redondo de 1 L, adicionou-se água destilada na proporção de 4 g de celulose extraída seca para 300 mL de água. Posteriormente, de forma a evitar a degradação do periodato de sódio, dado que é sensível à luz, o balão foi coberto com papel de alumínio. Em seguida, o balão foi colocado num banho de etilenoglicol e iniciou-se o processo de aquecimento com agitação magnética (70°C a 900 rpm). Quando a temperatura do banho indicou valores próximos de 50°C, adicionaram-se os reagentes, LiCl e NaIO₄, e com o esguicho de água limpou-se os resíduos que tenham ficado nas paredes do balão. Estes reagentes foram adicionados nas proporções de 4 g de bagaço seco para 7.2 g de LiCl e 4 g de bagaço seco para 8.2 g de NaIO₄.

Após o tempo de reação de 3 horas, à temperatura requerida para síntese, a mistura foi arrefecida e em seguida filtrada a vácuo. Na filtração, o sólido obtido (celulose dialdeído) foi lavado com água até que a água residual seja incolor, ou seja, até que os compostos com iodo sejam totalmente removidos. Posteriormente, o sólido foi pesado e colocado no frigorífico, para posterior anionização.

3.2.2.2 Anionização da celulose dialdeído

Iniciou-se a anionização definindo a quantidade de DAC em base seca a utilizar. Em seguida, pesou-se a quantidade de DAC não seco¹ num gobelé de 200 mL e adicionou-se água destilada na proporção de 1.5 g de DAC seco para 60 mL de água destilada. Posteriormente, o metabissulfito de sódio foi adicionado à reação na proporção de 14 mmol de Na₂S₂O₅ /g de DAC seco. Por fim, a mistura reacional foi colocada sob agitação (500 rpm) durante 24 h à temperatura ambiente.

Após a reação, a solução foi misturada com isopropanol para que o material solúvel precipite. Posteriormente, a mistura com o isopropanol foi transferida para tubos de centrifugação e com o auxílio da centrifugadora o material foi separado. No final do processo, o material precipitado foi lavado com água e isopropanol, até que a condutividade da água de limpeza seja o mais próximo da água usada no processo. Depois de limpo, o precipitado aniônico (ADAC) foi colocado na estufa a 60°C até secar.

3.2.2.3 Caracterização do DAC e do ADAC

▪ Determinação do teor de aldeídos do DAC

A determinação do teor de aldeídos do DAC tem como base a reação oxima entre os grupos aldeídos com um sal de hidroxilomina (NH₂OH-HCl). A celulose oxidada com periodato, não seca (aproximadamente 0.1 g), foi colocada num copo de 250 mL onde se adicionou 1.39g de NH₂OH-HCl e 100 mL de uma solução tampão de acetato de sódio (0.1 M e pH=4.5). A mistura foi colocada sob agitação à temperatura ambiente durante 48 h. Em seguida, o produto foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada, sendo posteriormente seco a 60°C numa estufa.

Com base na reação, sabe-se que 1 mol de aldeído reage com 1 mol de NH₂OH-HCl resultando em 1 mol do derivado de oxima. Assim, o teor de aldeído pode ser calculado diretamente pelo teor de azoto, podendo este ser determinado através da utilização da técnica análise elementar.

¹ Massa determinada segundo a expressão: $(12.134 \times \text{massa DAC seco}) / 5 \text{ g}$ [73]

A solução tampão de acetato (pH = 4.5) usada na reação de oxima foi feita carregando um balão volumétrico de 2 L com 27.4 g de acetato de sódio tri-hidratado e adicionando 15 mL de ácido acético glacial e diluindo a mistura resultante para 2 L com água desionizada.

▪ **Análise elemental**

Com a análise elemental é possível quantificar o teor de azoto presente no derivado de oxima do DAC e o teor de enxofre do ADAC, através da utilização de um analisador de elementos EA 1108 CHNS-O da Fisons.

A amostra em análise previamente seca e pesada foi introduzida numa cápsula de estanho e inserida num reator vertical de tubo de quartzo (tubo de combustão) a 900°C com um fluxo de hélio constante. Antes de colocar a amostra no tubo, a corrente de hélio foi enriquecida com oxigénio, com o intuito de obter um ambiente que garante uma combustão/oxidação completa. Da mistura de combustão resultam quatro componentes (N₂, H₂O, SO₂, CO₂) que passam posteriormente numa coluna de cromatografia gasosa onde são separados pelos tempos de retenção e quantificados por um detetor de condutividade térmica. Assim, o teor de azoto e enxofre são obtidos sob a forma de percentagem mássica (quociente entre a massa do composto e a massa total de amostra). As equações matemáticas utilizadas para os cálculos são as seguintes:

$$N\% = \frac{m_N}{m_T} \times 100 = \frac{DS \times 14}{MW_{AGU} + DS \times (MW_{sub} - MW_{lg})} \times 100 \quad (5)$$

No caso da celulose dialdeído, o DS pode ser estimado pelo rearranjo da equação anterior, obtendo-se a Equação 6.

$$DS = \frac{MW_{AGU} \times N\%}{14 \times 100 - N\% \times (MW_{sub} - MW_{lg})} \quad (6)$$

Onde 14 representa a massa molar do átomo de azoto, MW_{AGU} a massa molar da AGU, MW_{sub} a massa molar dos grupos substitutos, MW_{lg} a massa molar do grupo que deixa a AGU durante a reação e %N a percentagem de azoto presente na amostra.

Para a celulose anionizada, as equações para calcular DS e o índice de anionicidade são as seguintes:

$$\text{Quantidade de unidades aniônicas (Aa)} = \frac{S\%}{100} \times \frac{368.1}{32.06 \times 2} \quad (7)$$

$$\text{Fração molar das unidades aniônicas} = \frac{\text{mol}_{\text{unidades aniônicas}}}{\text{mol}_{\text{totais}}} = \frac{\frac{Aa}{368.1}}{\frac{Aa}{368.1} + \frac{1 - Aa}{162}} \quad (8)$$

$$DS = \frac{2 \times \text{mol}_{\text{unidades aniônicas}}}{\text{mol}_{\text{totais}}} = \frac{2 \times \frac{Aa}{368.1}}{\frac{Aa}{368.1} + \frac{1 - Aa}{162}} \quad (9)$$

$$\text{Índice de anionicidade} = \frac{Aa}{368.1} \times 2 \times 1000 \quad (10)$$

Onde Aa representa a quantidade de unidades aniônicas, 162 (g/mol) corresponde à massa molar da unidade de AGU e 368.1 (g/mol) corresponde à massa molar da unidade aniônica. Assumiu-se também que no produto final apenas estão presentes unidades de anidroglicose e aniônica (sem dialdeído celulósico).

▪ Potencial zeta (ELS)

Os valores do potencial zeta de cada polieletrólito foram obtidos por dispersão de luz eletroforética (ELS), num Zetasizer NanoZS da Malvern Instruments. As amostras foram diluídas com água ultrapura para uma concentração de aproximadamente 0.1 wt%. Após a diluição, as amostras preparadas são agitadas magneticamente durante 1 hora a fim de melhorar a homogeneidade e a amostra é posteriormente colocada na célula capilar de medição de potencial zeta. A dispersão da luz é medida a 25°C com um tempo de equilíbrio de 60 s e no *software* é definido a medição em modo “automático” e 5 medições.

3.2.3 Ensaios simulados em laboratório da clarificação do caldo

Todos os testes foram realizados na Universidade de São Paulo, no Laboratório Hugot de Tecnologia do Açúcar pelo Professor Cláudio Aguiar.

- ***Unidades de produção de açúcar de cana e extração do caldo***

Para se obter o caldo da cana-de-açúcar bruto (SCJ), as canas saudáveis foram desintegradas e depois prensadas a 250 kgf.cm^{-2} durante 1 minuto. Em seguida, o SCJ foi filtrado através de peneiros de 200 *mesh* para remover as impurezas inorgânicas e as fibras e foi armazenado a -18°C até à realização dos testes. O SCJ foi caracterizado e apresentou 24.8 ± 0.01 °Brix (sólidos solúveis totais; % w/w), turbidez de $1,287 \pm 0.01$ NTU (Unidade de Turbidez Nefelométrica), pH 5.2 ± 0.01 , condutividade de $1.96 \pm 0.01 \text{ mS.cm}^{-1}$, $1.32 \pm 0.1\%$ g de açúcares redutores por 100 g de caldo, e pol% (teor de sacarose aparente por 100 g de caldo) de $16.7 \pm 0.4\%$. Os procedimentos de análise das amostras de caldo de cana seguiram os métodos oficiais da Icumsa (2011) e Consecana (2015) e serão apresentados em seguida [84,85].

- ***Tratamento do caldo da cana-de-açúcar com polieletrólitos à base de celulose***

O caldo da cana-de-açúcar foi submetido a um tratamento semelhante ao aplicado a nível industrial nas unidades industriais de açúcar de cana com a substituição adequada do polieletrólito comercial (Flonex a 6 mg kg^{-1}) por diferentes doses de polieletrólitos à base de celulose de *Acacia* sp. e bagaço de cana (*Saccharum* sp.), como mostra a Figura 3.5. Primeiramente, adicionou-se ácido sulfuroso (grau analítico) ao caldo da cana-de-açúcar sendo este sujeito a clarificação por sulfitação a pH de 3.8. Em seguida, o pH do caldo foi neutralizado por suspensão de hidróxido de cálcio (leite de cal) até pH de 7.2. Para a desnaturação de proteínas e promoção da coagulação de fosfolípidos, o caldo foi pré-aquecido a 65°C durante 20 min, simulando as condições de funcionamento das fábricas de produção de açúcar a partir de cana-de-açúcar. Depois, foram adicionados diferentes polieletrólitos, em doses diferentes ($100, 250$ e 500 mg.kg^{-1}), ao caldo de cana tratado para analisar a eficiência da sedimentação e a temperatura então foi elevada a 103°C durante 2 min, para remover as microbolhas distribuídas no caldo, deixando-se então o caldo de cana sob repouso para análise da sedimentação de impurezas.

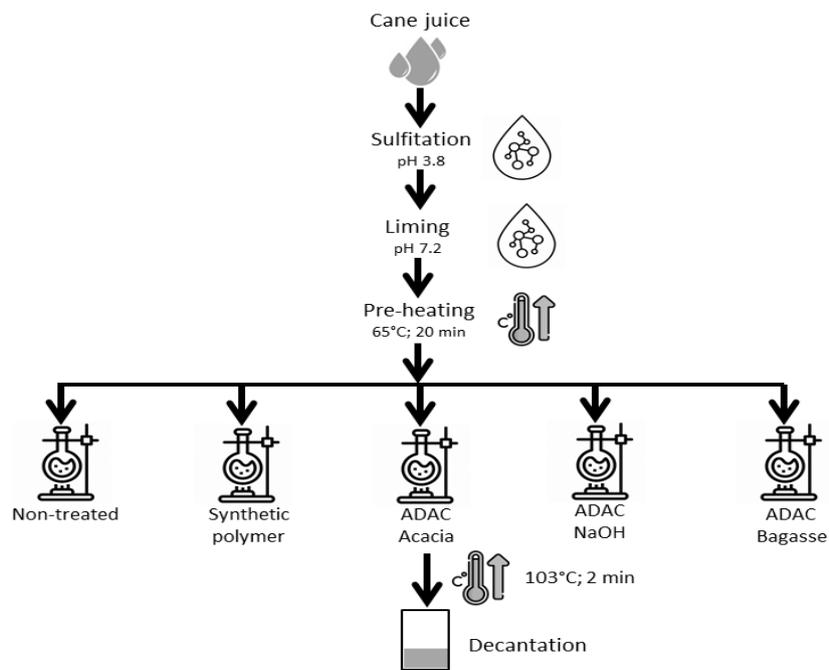


Figura 3.5 Representação esquemática das etapas do tratamento do caldo simulado em escala laboratorial (fornecido por Cláudio Aguiar).

- ***Sólidos solúveis totais (Brix) do caldo da cana-de-açúcar***

Os sólidos solúveis totais foram quantificados para todos os caldos da cana-de-açúcar (com ou sem tratamentos por polieletrólitos à base de celulose). Os valores de Brix foram medidos utilizando um refratômetro (refratômetro RFM712, Bellingham+Stanley Ltd., Tunbridge Wells, Reino Unido) e os resultados são expressos como °Brix (% w/w) de acordo com Consecana (2015) [85].

- ***Condutividade do caldo da cana-de-açúcar***

A condutividade elétrica foi também medida para todos os caldos da cana-de-açúcar (com ou sem tratamentos por polieletrólitos à base de celulose). Os valores foram medidos utilizando um medidor de condutividade HI8820N (Hanna Instruments Co., Portugal) e expressos como $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ de acordo com o Método ASTM D1125-95 (1999).

- ***Teor aparente de sacarose (pol%) do caldo da cana-de-açúcar***

A análise de pol% foi realizada através da leitura sacarimétrica das amostras clarificadas, utilizando uma mistura clarificante baseada em alumínio, num polarímetro modelo ADS 420 (Bellingham+Stanley Ltd., Tunbridge Wells, Reino Unido), de acordo com Consecana (2015) [85]. A conversão da leitura sacarimétrica com a mistura clarificante à base de alumínio (L_{Al}) para a leitura equivalente em acetato de chumbo (L_{Pb}) foi realizada utilizando a Equação 11. A pol% (S) foi expressa pela leitura equivalente em acetato de chumbo (L_{Pb}) e sólidas totais iniciais solúveis ($Brix_0$) como % w/w (ou g de sacarose aparente por 100 g de caldo de cana), Equação 12.

$$L_{Pb} = (1.00621 \times L_{Al}) + 0.05117 \quad (11)$$

$$S = L_{Pb} \times (0.2605 - (0.00009882 \times Brix_0)) \quad (12)$$

O índice de purificação da sacarose do caldo de cana tratado foi calculado pela Equação 13.

$$\text{Índice de purificação da sacarose(\%)} = \frac{(S_{final} - S_{inicial})}{S_{inicial}} \times 1050 \quad (13)$$

- ***Turbidez nefelométrica do caldo de cana-de-açúcar***

A turbidez do SCJ foi medida para determinar a quantidade de turvação, e foi expressa como Unidades de Turbidez Nefelométrica (NTU). A turbidez das amostras foi obtida pela leitura num turbidímetro de bancada modelo Tecnopon TB1000 (Piracicaba, Brasil), devidamente calibrado contra uma curva de 0 a 1,000 NTU, como descrito por Ogando et al. (2019). A eficiência de remoção de turbidez do caldo de cana tratado foi descrita pela Equação 14.

$$\text{Eficiência de remoção de turbidez(\%)} = \frac{(\text{Turbidez final} - \text{Turbidez inicial})}{\text{Turbidez inicial}} \times 100 \quad (14)$$

Capítulo 4

Resultados e discussão

4.1 Obtenção da fração rica em celulose e caracterização química

▪ Otimização das condições de fracionamento do bagaço

O bagaço da cana-de-açúcar utilizado no presente trabalho apresentou, em média, 38.78% de celulose, 23.81% de hemicelulose, 24.02% de lignina e uma granulometria de 0.841 mm após a moagem. A restante percentagem corresponde a extrativos ou outros componentes que não foram determinados.

As condições de reação são um dos parâmetros mais importantes no processo de fracionamento. Desta forma, o rendimento de extração global do bagaço foi estudado com duas proporções de DES, ChCl:LA (1:2) e ChCl:LA (1:3). Para cada proporção de solvente, o tempo de reação e a temperatura foram variados segundo a Tabela 2, como pode ser visto na Figura 4.1.

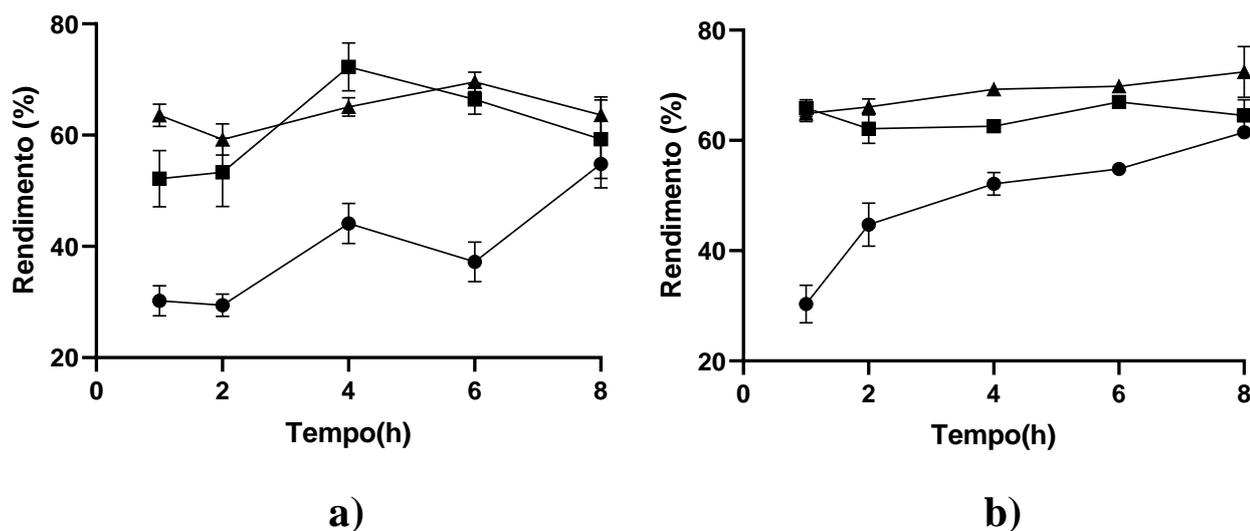


Figura 4.1. Rendimento de extração global do bagaço usando: a) ChCl:LA (1:2); b) ChCl:LA (1:3) em função do tempo de reação para três temperaturas diferentes, 120°C (●), 140°C (■) e 160°C (▲).

É possível observar através da Figura 4.1a que, de uma forma geral, com o aumento do tempo de reação o rendimento de extração global do bagaço também aumenta. No entanto, para tempos de reação superiores a 4 horas e para as temperaturas de 140°C e 160°C não se verificam melhorias significativas, sendo possível identificar para ambas as combinações de DES uma condição tempo versus temperatura ótima em relação ao rendimento de extração. Isso é mais notório para a mistura de DES de 1:3. Verifica-se que, para qualquer tempo de reação, a extração a 120°C alcança rendimentos inferiores em comparação com as outras temperaturas em análise (140°C e 160°C). Apesar da reação de extração a 120°C ser melhor em termos energéticos, o rendimento foi sempre inferior em comparação com as restantes condições.

Em relação às temperaturas de 140°C e 160°C, com o aumento do tempo não se obtém melhorias significativas no rendimento de extração. Pelo contrário, foi possível verificar que o rendimento obtido foi praticamente constante ao longo do tempo.

Comparando as duas proporções, é de notar que o rendimento de extração é, de uma forma geral, sempre superior para a proporção ChCl:LA (1:3). Contudo, a 140°C e para um tempo de reação igual a 6 horas, o rendimento de extração é igual para as duas proporções. O mesmo se verifica para a condição de 6 horas a 160°C. É também possível observar que, para a proporção ChCl:LA (1:3) e para um tempo de reação de 1 hora, o rendimento de extração é igual para as temperaturas de 140°C e 160°C.

▪ *Caracterização da fração rica em celulose*

A lignina é um dos polímeros presentes na estrutura lignocelulósica que mais pode interferir com a modificação estrutural da celulose [86,87]. Deste modo, para cada fração sólida rica em celulose obtida determinou-se a percentagem de lignina presente referente a cada condição de extração em análise. As Figuras 4.2 e 4.3 representam o rendimento de extração e a percentagem de lignina na serradura para as diferentes condições de extração e para as proporções de ChCl:LA (1:2) e (1:3), respetivamente.

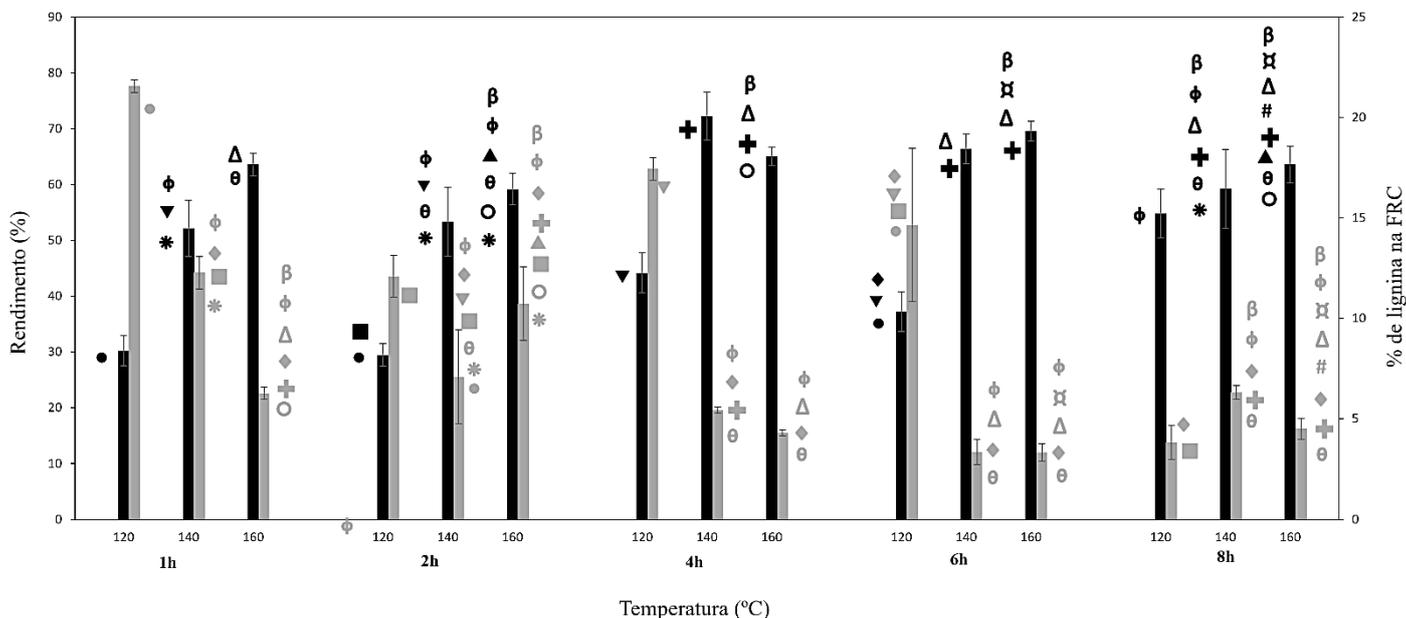


Figura 4.2. Representação do rendimento de extração (preto) e percentagem de lignina na fração rica em celulose (cinzento) usando ChCl:LA (1:2) para várias condições de extração. A presença dos mesmos símbolos acima das barras não indicam diferenças significativas no rendimento de extração e na percentagem de lignina dos testes ANOVA unidirecionais ($p \leq 0.05$).

Pela análise da Figura 4.2, é possível aferir que, de uma forma geral, um aumento do tempo de reação traduziu-se numa diminuição da percentagem de lignina na fração rica em celulose. O mesmo também se verifica para o aumento da temperatura.

Para as três temperaturas em análise, para 120°C foi onde se observa maior percentagem de lignina e, para um tempo igual a 8 horas de reação a quantidade de lignina na fração rica em celulose decresce bruscamente, sendo obtido aproximadamente 4% de lignina. A 160°C, independentemente do tempo de reação, foi quando se conseguiu extrair mais lignina. No entanto, para 6 horas de reação a quantidade de lignina na serradura foi aproximadamente igual para a reação a 140°C e 160°C.

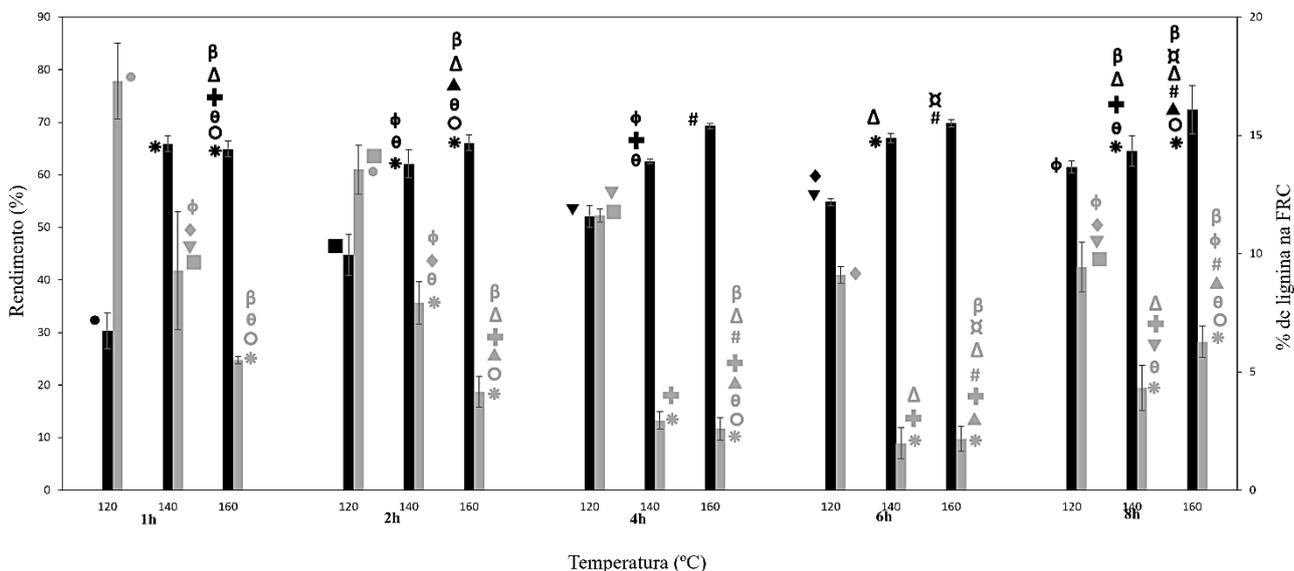


Figura 4.3. Representação do rendimento de extração (preto) e percentagem de lignina na fração rica em celulose (cinzento) usando ChCl:LA (1:3) para várias condições de extração. A presença dos mesmos símbolos acima das barras não indicam diferenças significativas no rendimento de extração e na percentagem de lignina dos testes ANOVA unidirecionais ($p \leq 0.05$).

Observando os resultados para a extração usando ChCl:LA (1:3), Figura 8, é possível constatar que, tal como acontece para proporção 1:2, com o aumento da temperatura e do tempo de reação, a percentagem de lignina diminui.

O comportamento das três temperaturas em análise (120°C, 140°C, 160°C) foi igual, ou seja, a quantidade de lignina na serradura diminui ao longo do tempo de reação, no entanto, para um tempo igual a 8 horas esta quantidade aumenta. A 160°C a percentagem de lignina foi sempre baixa, sendo que para esta temperatura e para os tempos de reação de 2, 4 e 6 horas, este valor é abaixo dos 5%.

Comparando as duas proporções de ChCl:LA (1:2 e 1:3), a quantidade de lignina foi, geralmente, superior para a extração usando ChCl:LA (1:2). Para um tempo de reação de 8 horas, para a proporção 1:2 a 140°C, a percentagem de lignina foi igual à obtida para as condições de reação a 160°C na proporção 1:3. Para as condições de 1:3 a 140°C e 1:2 a 160°C, o mesmo também aconteceu.

Para a etapa posterior de modificação da celulose, a condição ideal seria conseguir obter um maior rendimento de extração com menor percentagem de lignina. Assim, para a proporção de solventes de 1:2 e 1:3, de uma forma global, as melhores condições de extração são 4 horas a 140°C e 160°C. Apesar de com um tempo de 6 horas se conseguir uma percentagem de lignina inferior para as duas temperaturas, esta diferença não foi

suficientemente grande para que se justifique ter um acréscimo no tempo de reação de 2 horas.

▪ ***Extração global do bagaço nas condições ótimas e caracterização da fração rica em celulose***

Encontradas as melhores condições de extração, o processo foi repetido com um reator maior, o que permitiu obter maiores quantidades de fração rica em celulose para posterior modificação.

Na Figura 4.4 está representado o rendimento de extração global do bagaço, a percentagem de deslignificação e os teores de celulose, hemicelulose e lignina na fração rica em celulose para as quatro condições em análise. Para efeitos de comparação, a composição do bagaço puro também está representada.

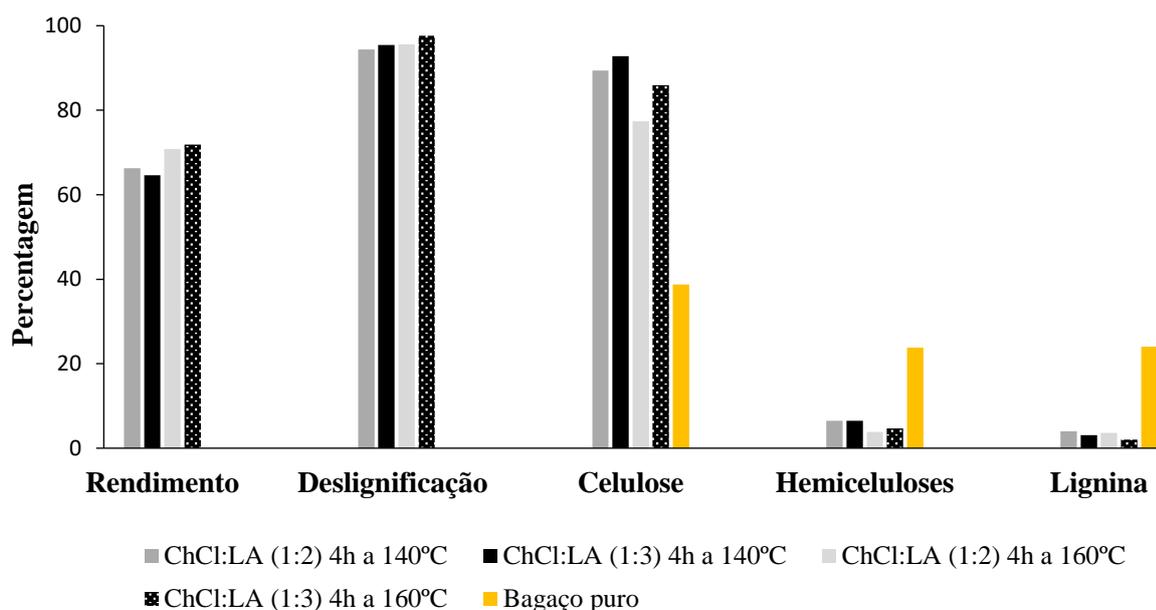


Figura 4.4. Representação do rendimento de extração, percentagem de deslignificação e teor de celulose, hemicelulose e lignina na fração rica em celulose extraída para as condições em análise. A composição do bagaço puro está representada a amarelo, e as condições de extração 1:2 e 1:3 estão representadas a cinzento e preto, respetivamente.

É possível constatar que o rendimento das quatro condições em análise foi muito semelhante e aproximadamente 70%. Comparativamente ao bagaço puro, como era de esperar, o teor de celulose após a reação de extração aumentou e as percentagens de hemicelulose e lignina diminuíram. A percentagem de deslignificação indica a quantidade de

lignina que o método de extração utilizado conseguiu remover. Para as condições em análise, esta toma valores de aproximadamente 90%, pelo que se pode concluir que o método utilizado foi bastante eficiente quanto à remoção de lignina. É importante referir que, não foram quantificados os extratáveis ou outros componentes presentes na amostra, mas apenas a celulose, hemicelulose e lignina.

Na Tabela 2, encontram-se apresentados os valores de rendimento de extração global do bagaço, pureza da celulose extraída, percentagem de lignina na fração rica em celulose, rendimento de extração da fração rica em lignina e pureza da lignina extraída. A percentagem de lignina na serradura foi calculada pelo somatório da lignina solúvel e insolúvel obtidas pelo procedimento de hidrólise ácida, e a pureza da celulose foi determinada com recurso ao HPLC.

Tabela 3. Caracterização dos resíduos obtidos após o fracionamento do bagaço.

Condições	Rendimento de extração (%) ¹	Pureza da celulose (%)	%lignina na FRC	Rendimento de extração da FRL (%) ²	Pureza da lignina (%)
ChCl:LA (1:2) 4h a 140°C	66.69	89.39	4.02	30.78	51.65
ChCl:LA (1:3) 4h a 140°C	64.60	92.82	3.12	38.08	46.38
ChCl:LA (1:2) 4h a 160°C	70.77	77.4	3.61	28.04	67.12
ChCl:LA (1:3) 4h a 160°C	71.85	85.94	2.01	38.55	66.83

1- Rendimento de extração global do bagaço (%) = $100 - ((\text{massa resíduo de FRC} / \text{massa inicial de bagaço}) * 100)$

2- Rendimento de extração da fração rica em lignina (FRL) (%) = $(\text{massa resíduo de lignina} / \text{massa inicial de bagaço}) * 100$

Como referido anteriormente, após a reação do bagaço com DES obtém-se duas frações distintas, uma rica em celulose e outra rica em lignina. A fração rica em celulose possui de facto um elevado grau de pureza e embora se verifique que com o aumento da temperatura de reação aumentamos o rendimento de extração, a pureza do extraído foi muito similar para as duas temperaturas, exceto quando analisamos a condição de 4h a 160°C (1:2), que parece

conduzir a uma pureza da lignina extraída maior, mas a uma pureza da celulose menor. Isto é muito provavelmente devido à dissolução de outros componentes do bagaço da cana-de-açúcar, como a hemicelulose.

Para a fração rica em lignina conseguiram-se obter rendimentos de extração igualmente elevados e com um grau de pureza, de uma forma geral, superior a 50%. É possível afirmar que o método desenvolvido neste trabalho para além da valorização da celulose pode ser utilizado também para a valorização da lignina.

4.2 Síntese dos polieletrólitos naturais aniónicos

Encontradas as condições de extração ótimas para as duas proporções, procedeu-se à modificação da celulose. Na Tabela 3 estão expressos os resultados relativos à síntese e anionização da celulose dialdeído partindo das quatro celulose extraídas, apresentados na Tabela 2. Para todas as condições a reação de síntese teve uma duração de 3 horas a 70°C e a anionização de 24 h à temperatura ambiente.

Tabela 4. Caracterização dos polieletrólitos à base de celulose de cana-de-açúcar.

	ADAC1	ADAC2	ADAC3	ADAC4
Condições de extração	ChCl:LA (1:2) 4h a 140°C	ChCl:LA (1:3) 4h a 140°C	ChCl:LA (1:2) 4h a 160°C	ChCl:LA (1:3) 4h a 160°C
<i>Composição da serradura (fração rica em celulose)</i>				
Lignina	4.02	3.12	3.61	2.01
Celulose	89.39	92.82	77.40	85.94
Hemicelulose	6.45	6.47	3.86	4.66
<i>Introdução dos Aldeídos</i>				
DS	1.49	1.19	1.56	1.63
Aldeídos (mmol/g)	9.30	7.42	9.72	10.15
<i>Após a anionização</i>				
DS	1.363	0.585	1.87	2.02
Índice de anionicidade	4.506	2.633	5.28	5.45
Potencial zeta	-34.27(±3)	-23.25(±3)	-32.37(±1)	-30.87(±2)

Através dos resultados expressos na Tabela 3, é possível observar que, de uma forma geral, quanto menor o teor de lignina, maior foi o grau de substituição tanto dos aldeídos como da celulose aniônica. Esta relação pode ser explicada pela disponibilidade de dióis vicinais da lignina presente. Foi relatado que, durante a reação de oxidação, o periodato pode reagir com os grupos fenólicos da lignina. Este reage com o grupo do guaiacol, criando um radical mesomérico. Este radical por sua vez, pode reagir com um radical hidroxilo para produzir um hemiacetal que é posteriormente convertido numa ortoquinona [86,87]. Esta reação secundária compete com a oxidação da celulose, o que justifica que para as amostras com maior teor de lignina não se consiga obter valores de DS superiores. A exceção é o caso da oxidação da serradura obtida para o DES com a razão 1:3, a 4 horas e 140°C, o que pode estar relacionado com o maior teor de hemicelulose desta FRC. Para todas as situações quanto menor o DS em aldeídos, menor o índice de anionicidade final que se obtém.

Em relação ao potencial *zeta*, pode-se constatar que, tendo um grau de substituição dos grupos aniônicos acima de 1, é possível garantir um potencial *zeta* de aproximadamente -30 mV. Por outro lado, há uma correlação direta entre o índice de anionicidade e o potencial *zeta*, como seria de esperar. Globalmente, os resultados mostraram-se favoráveis, dado que foram conseguidos valores de DS superiores à unidade.

4.3 Avaliação do desempenho dos flocculantes no tratamento do caldo de cana-de-açúcar

Após a síntese dos flocculantes, o passo seguinte foi avaliar a eficácia destes no tratamento do caldo em condições simuladas àquelas encontradas em fábricas de produção de açúcar de cana. Como os testes foram realizados no Brasil pelo Professor Cláudio Aguiar, não foi possível enviar as amostras desenvolvidas ao longo desta dissertação dentro dos prazos estipulados. No entanto, foram enviadas três amostras sintetizadas pelo grupo de investigação: bagaço da cana-de-açúcar e *Acácia* extraídos com ChCl:LA (1:2) durante 4 horas a 160°C e bagaço da cana-de-açúcar extraído com soda, procedimento anteriormente adotado pelo professor Cláudio Aguiar [88]. É importante referir que a reação de introdução dos aldeídos teve uma duração de 3 h a 70°C e a reação de anionização de 24 h à temperatura ambiente tal como foi adotado neste trabalho. Estas condições de operação foram definidas analisando trabalhos anteriormente realizados pelo grupo de investigação. As características das diferentes amostras encontram-se representadas na Tabela 4.

Tabela 5. Caracterização dos polieletrólitos sintetizados pelo grupo de investigação, para posterior aplicação no tratamento do caldo de cana-de-açúcar.

Condições de extração	ADAC(B1) <i>Acácia extraída com ChCl: LA (1:2)</i>	ADAC(B2) <i>Bagaço extraído com soda</i>	ADAC(B3) <i>Bagaço extraído com ChCl: LA (1:2)</i>
<i>Composição da serradura (fração rica em celulose)</i>			
Lignina	2.83 (± 0.18)	2.34 (± 0.24)	0.84 (± 0.02)
Celulose	60.48	71.63(± 0.24)	84.71 (± 1.11)
Hemicelulose	3.89	15.17 (± 0.39)	4.67 (± 0.03)
<i>Introdução dos Aldeídos</i>			
DS	1.06	2.28	0.94
Aldeídos (mmol/g)	6.58	7.98	5.88
<i>Após a anionização</i>			
DS	0.791	2.11	0.618
Índice de anionicidade	3.249	5.248	2.737
Potencial zeta	-22.4(± 1)	-36.83(± 2)	-29.3(± 2)

Os três polieletrólitos foram avaliados quanto ao seu desempenho no tratamento do caldo de cana-de-açúcar e comparados com polielérolito tradicionalmente utilizado pela indústria açucareira. As Tabelas 5 e 6 representam os resultados obtidos referentes ao caldo clarificado após quatro horas da adição dos flocculantes. Os testes foram realizados para diferentes doses de polímero (100, 200 e 250 mg.kg⁻¹) sendo que estes valores foram definidos tendo por base a dissertação de mestrado do João Azevedo na área de estratégias de descoloração do açúcar [13]. Por outro lado, foi utilizado apenas 6 mg.kg⁻¹ do polímero sintético no tratamento, concentração utilizada nas fábricas de produção de açúcar.

Tabela 6. Caracterização do caldo de cana bruto e tratado durante o tratamento com três doses diferentes de polieletrólitos à base de celulose.

	Concentração do polieletrólito (mg.kg ⁻¹)	pH	Sólidos solúveis totais (%)	Condutividade (mS.cm ⁻¹)	Turbidez nefelométrica (NTU)	Sacarose aparente (% w/w)	Açúcares redutores (% w/w)
Caldo sem tratamento	-	5.2±0.01	24.8±0.01	1.96±0.01	1 287±0.01	16.7±0.4	1.32±0.1
Polimero sintético	6	7.1±0.02	24.2±0.01	2.11±0.02	18.0±0.80	19.4±0.2	1.440±0.1
ADAC(B1)	100	7.0±0.01	23.2±0.06	2.30±0.02	2.4±1.07	22.8±0.8	0.27±0.1
	250	7.0±0.04	22.4±0.0	2.70±0.03	5.4±0.25	19.6±0.5	0.62±0.1
	500	7.3±0.05	21.9±0.0	2.60±0.04	8.3±0.25	19.1±0.4	0.66±0.1
ADAC(B2)	100	6.8±0.02	21.8±0.0	2.30±0.02	4.1±0.66	21.3±0.7	0.29±0.1
	250	7.1±0.01	22.3±0.0	2.60±0.02	5.9±0.06	19.7±0.4	0.61±0.1
	500	7.0±0.04	21.7±0.06	2.60±0.02	11.6±0.46	18.2±0.8	0.77±0.1
ADAC(B3)	100	7.1±0.01	21.0±0.0	2.30±0.03	8.0±0.52	19.1±0.4	0.52±0.1
	250	7.4±0.04	22.4±0.06	2.70±0.03	2.4±0.17	19.7±0.5	0.64±0.1
	500	7.1±0.03	21.2±0.06	2.60±0.01	7.0±0.26	18.3±0.5	0.68±0.1

A análise dos resultados apresentados nas Tabelas 5 e 6 pode ser realizada de duas formas. A primeira passa por avaliar o efeito do aumento da concentração dos polieletrólitos adicionados ao caldo de cana-de-açúcar. Na segunda análise é comparado o desempenho dos polieletrólitos, para a mesma concentração, para tentar entender como e quais as propriedades que influenciam o tratamento do caldo de cana-de-açúcar.

Pela análise do pH, é possível observar que, o caldo tem um pH levemente ácido e, com a adição dos polieletrólitos, é neutralizado. Este comportamento é verificado para todos os polieletrólitos, inclusive o sintético e independente da dose adicionada. Se os polieletrólitos fossem ácidos e comesçassem a reduzir ou a aumentar o pH, poderia levar a um aumento dos açúcares redutores pela hidrólise da sacarose, fato que seria prejudicial à fabricação de açúcar cristal. No entanto, o pH do caldo manteve-se neutro, o que é um resultado favorável. Por outro lado, o Brix (sólidos solúveis totais) não se alterou, o que se deve ao facto deste parâmetro detetar a presença de açúcares presentes e não apenas as partículas que estariam associadas às impurezas. Assim, se o Brix tivesse diminuído significativamente, poderia ser um indicador da alteração da concentração de sacarose e açúcares redutores como glicose e frutose.

Outro parâmetro analisado foi a condutividade, apesar de não ser, geralmente, avaliado nas unidades industriais. Esta indica indiretamente a quantidade de sais (iões livres) e, como

na indústria há um grande problema de óxidos de cálcio e magnésio incrustados nas tubulações, principalmente nos evaporadores, foi interessante analisar este parâmetro, uma vez que, quanto maior o teor de sais, maior será a probabilidade de incrustações e, portanto, maior será o tempo de manutenção dos equipamentos de evaporação o que significa que o equipamento estará indisponível mais tempo. Pela Tabela 5, verifica-se que a condutividade do caldo tratado e não tratado foi semelhante e independente da dose. Isto significa que o processo de clarificação conseguiu eliminar e não deixou um excesso de iões (por exemplo, cálcio ou magnésio) no caldo clarificado.

O parâmetro mais importante para a produção de açúcar é a pol% (ou seja, o teor de sacarose aparente analisada indiretamente por polarimetria) que indica a ocorrência ou não da degradação da sacarose durante o processo. Neste caso, podemos concluir que, independentemente do polieletrólito e das doses utilizadas, a estrutura da sacarose não foi afetada, ou seja, não houve degradação de açúcares, o que é um resultado muito favorável. O teor de sacarose recuperada foi superior para doses menores e uma forma de confirmar efetivamente a degradação desta foi através da análise dos açúcares redutores. O que se pode concluir dos resultados obtidos, uma vez mais que à medida que se aumenta a dose de polímero, os açúcares redutores aumentam levemente, é que com o aumento da concentração de polímero estará a ocorrer uma perda ligeiramente maior de sacarose.

A turbidez nefelométrica é também um parâmetro importante na análise do desempenho dos polieletrólitos na clarificação do caldo de cana. Pela observação da Tabela 5, é possível constatar que os polieletrólitos naturais conseguiram, de uma forma geral, valores de turbidez inferiores em comparação com o polieletrólito sintético. É ainda possível verificar que o ADAC(B3) não possui um comportamento claro com o aumento da concentração de polímero, enquanto que, tanto para o ADAC(B1) como para o ADAC(B2) o teor de turbidez aumenta com o aumento da quantidade de polímero. Este efeito pode estar associado ao polímero em excesso que não decantou no momento da análise. Fixando a mesma dose, por exemplo 100 mg.kg^{-1} , os ADAC (B1, B2 e B3) tomam valores de turbidez de 2.4, 4.1 e 8, respetivamente. Esta diferença pode estar associada ao teor de lignina do floculante, podendo constatar-se que com o aumento da percentagem de lignina na composição do floculante verifica-se uma melhor a eficiência do tratamento do caldo, menor valor de turbidez e maior teor de sacarose aparente. Neste processo o que estamos a tentar remover são fosfolípidos, ceras, enzimas e ácidos orgânicos, a lignina como apresenta uma maior hidrofobicidade que a celulose pode favorecer a interação do floculante com as ceras, ácidos orgânicos e as partes

anfílicas dos fosfolípidos e das enzimas presentes, contribuindo para uma maior remoção de turbidez.

Tabela 7. Sólidos solúveis totais removidos, índice de purificação da sacarose e eficiência de remoção da sacarose do caldo de açúcar tratado com polieletrólitos à base de celulose.

	Concentração do polieletrólito (mg.kg ⁻¹)	Sólidos solúveis totais removidos (%)	Índice de purificação da sacarose (%)	Eficiência de remoção da turbidez(%)
Polimero sintético	6	2.7±0.23	15.8±2.9	98.6±0.01
ADAC(B1)	100	6.5±0.39	36.1±1.4	99.8±0.09
	250	9.6±0.21	17.1±0.4	99.6±0.02
	500	11.6±0.21	14.0±0.7	99.4±0.02
ADAC(B2)	100	12.0±0.21	27.5±0.6	99.7±0.06
	250	10.0±0.21	17.7±0.6	99.6±0.00
	500	12.5±0.03	8.6±1.8	99.1±0.04
ADAC(B3)	100	15.2±0.20	14.4±0.7	99.3±0.04
	250	9.4±0.22	17.5±0.0	99.8±0.01
	500	14.3±0.22	9.7±0.5	99.5±0.02

Pela análise da Tabela 6 pode-se constatar que os três polieletrólitos desenvolvidos apresentam, de uma forma geral, melhor desempenho em comparação com o polieletrólito sintético utilizado convencionalmente em unidades industriais de produção de açúcar de cana.

Analisando os valores referentes ao sólidos solúveis totais removidos, é possível observar que os polímeros derivados da celulose apresentam valores significativamente superiores em relação ao sintético. Enquanto que os biopolímeros conseguiram remover aproximadamente 10% dos sólidos solúveis totais, o floculante sintético conseguiu remover apenas 2.7%. Contudo, como referido anteriormente, a quantificação dos sólidos solúveis totais não representa apenas partículas associadas a impurezas, mas também pode representar açúcares presentes. Assim, um maior valor de remoção de sólidos muitas vezes está associado à degradação da sacarose, o que pode ser comprovado pelo valor do índice de purificação da sacarose.

Observando os resultados do índice de purificação da sacarose, pode-se constatar que, de uma forma geral, quanto maior a dose de polieletrólito adicionada, menor a índice de purificação. Isto significa que, com o aumento da concentração de polieletrólito, há uma maior degradação da sacarose, o que não é favorável para a produção de açúcar cristal. Comparando os biopolímeros com o polieletrólito sintético, este último apresentou um valor de purificação de 15% enquanto que os restantes variam entre 36% a 8%, aproximadamente.

O ADAC(B1) a uma concentração de 100 mg.kg^{-1} conseguiu remover 6.5% do total de sólidos solúveis, e apresentou um índice de purificação da sacarose de 36.1%. Por outro lado, o polieletrólito sintético apresentou um índice de purificação de 15% e conseguiu remover apenas 2.7% de sólidos solúveis. Posto isto, podemos concluir que o ADAC(B1) a 100 mg.kg^{-1} apresenta melhor desempenho face ao sintético, uma vez que, conduziu a uma maior remoção de sólidos solúveis e a um caldo mais puro em sacarose.

Em relação à eficiência de remoção de turbidez, todos os polieletrólitos sintetizados apresentaram melhor eficiência em comparação com o polímero sintético, sendo que estes exibem valores na gama dos 99%, enquanto que o sintético apenas conseguiu uma eficiência de remoção de 98%, devendo, no entanto, ter-se em conta as maiores concentrações usadas no caso dos bio-polímeros.

Capítulo 5

Conclusões

O trabalho desenvolvido nesta dissertação teve como objetivo principal o desenvolvimento de polieletrólitos aniônicos à base de celulose, partindo do bagaço de cana-de-açúcar, para posterior aplicação no tratamento do caldo da cana-de-açúcar.

A primeira etapa correspondeu à otimização das condições de extração da lignina, em que o principal objetivo era a obtenção de um elevado rendimento de extração correspondendo a um resíduo rico em celulose e com baixo teor de lignina. Visando uma perspectiva de economia circular, a matéria-prima utilizada foi o bagaço da cana-de-açúcar, uma vez que é um resíduo da produção de açúcar a partir da cana-de-açúcar. O processo de extração utilizado foi baseado em solventes eutéticos (cloreto de colina associado ao ácido levulínico nas proporções de 1:2 e 1:3) e para as condições de operação de 120°C, 140°C e 160°C e um tempo de reação de 1, 2, 4, 6 e 8 horas. Nesta etapa foi possível concluir que, de uma forma geral, quanto maior é o tempo de reação assim como a temperatura, maior é o rendimento de extração e menor é o teor de lignina na fração rica em celulose. As condições de operação de 4h a 140°C e 160°C para as duas proporções de DES foram as que permitiram obter maior rendimento de extração, com o menor teor de lignina no bagaço tratado obtendo-se uma taxa de deslignificação de aproximadamente 90%.

A segunda etapa é a da síntese dos polieletrólitos aniônicos a partir do resíduo rico em celulose obtido na etapa anterior. A síntese destes ocorre em duas etapas, síntese da celulose dialdeído (DAC) e síntese da celulose aniônica (ADAC), realizadas durante 3h a 70°C e 24h a 25°C, respetivamente. Constatou-se que, de uma forma geral, quanto menor o teor de lignina, maior o grau de substituição e que independentemente do teor de lignina, é possível garantir um valor de potencial zeta de aproximadamente -30 mV, ou seja, uma carga apreciável dos polieletrólitos, devendo, no entanto, ter-se em conta as maiores concentrações usadas no caso dos bio-polímeros.

A última etapa consiste na avaliação da eficácia dos flocculantes sintetizados no tratamento do caldo de cana-de-açúcar. Dada a falta de tempo, foram testados três flocculantes já sintetizados anteriormente pelo grupo de investigação, partindo do bagaço da cana-de-açúcar e acácia extraídos com ChCl:Lev (1:2) e bagaço da cana-de-açúcar extraído com soda. Os testes foram realizados para diferentes concentrações de polímero (100, 250 e 500 mg.kg⁻¹)

e foi ainda testado o polímero sintético usualmente utilizados nas unidades de produção de açúcar para fins de comparação. Os resultados mostraram que, de uma forma geral, com o aumento da dose de polímero adicionada o desempenho diminuiu e que os biopolímeros apresentaram melhor desempenho que o polímero sintético. Constatou-se ainda que, com o aumento da percentagem de lignina na composição do floculante a eficiência do tratamento do caldo aumenta, obtendo-se menor valor de turbidez e maior teor de sacarose aparente. Resumindo, o ADAC(B1) com uma dosagem de 100 mg.kg^{-1} é o que apresenta melhores resultados: 99.8% de eficiência de remoção de turbidez, um índice de purificação da sacarose de 36% e uma remoção total de sólidos solúveis de 6%.

Sugestões para trabalhos futuros

- Testar a modificação da celulose para a condição de extração de ChCl:LA (1:2) de 2h a 160°C , pois apresenta um bom rendimento de extração da fração rica em celulose e baixo teor de lignina;
- Avaliar a viabilidade de recuperação e reutilização dos DESs durante o pré-tratamento;
- Avaliar o scale-up do processo de extração;
- Testar outras condições de reação de modificação da celulose proveniente do bagaço de cana-de-açúcar, uma vez que a condição ótima varia consoante a matéria-prima e 3 horas a 70°C , no caso do bagaço pode não ser a condição melhor;
- Modificação da lignina obtida pelo método de extração utilizado neste trabalho para posterior valorização;
- Testar o tratamento do caldo de cana-de-açúcar com menores concentrações de polímero e para uma dosagem igual à usualmente utilizada nas unidades industriais de produção de açúcar de cana (6 mg.kg^{-1});
- Testar o tratamento do caldo de cana-de-açúcar com lignina modificada;
- Estudar a influência do pH no tratamento do caldo de cana-de-açúcar.
- Determinar o peso molecular dos floculantes;
- Estudar a biodegradabilidade dos polieléctrolitos produzidos ao longo do tempo.

Bibliografia

- [1] M. Meghana, Y. Shastri, “Sustainable Valorization of Sugar Industry Waste: Status, Opportunities, and Challenges,” *Bioresource Technology*. 303 (2020) 122929. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122929>.
- [2] J.L. Ren, R.C. Sun, C.F. Liu, Z.Y. Chao, W. Luo, “Two-Step Preparation and Thermal Characterization of Cationic 2-Hydroxypropyltrimethylammonium Chloride Hemicellulose Polymers from Sugarcane Bagasse,” *Polymer Degradation and Stability*. 91 (2006) 2579–2587. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2006.05.008>.
- [3] C.S. Lee, J. Robinson, M.F. Chong, “A Review on Application of Flocculants in Wastewater Treatment,” *Process Safety and Environmental Protection*. 92 (2014) 489–508. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.04.010>.
- [4] H. Liimatainen, J. Sirviö, O. Sundman, O. Hormi, J. Niinimäki, “Use of Nanoparticulate and Soluble Anionic Celluloses in Coagulation-Flocculation Treatment of Kaolin Suspension,” *Water Research*. 46 (2012) 2159–2166. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.01.035>.
- [5] Y. Yijun, W. Hongru, “An Overview on Chemical Modification of Cellulose,” *Polymers and Polymer Matrix Composites*. 32 (2018) 3478–3488. <https://doi.org/https://doi.org/10.11896/j.issn.1005-023X.2018.19.023>.
- [6] A.M.A. Hasan, M.E.-S. Abdel-Raouf, Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels, in: *Polym. Polym. Compos. A Ref. Ser.*, Springer, Cham, 2019: pp. 245–267. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77830-3_11.
- [7] C. Fernandes, E. Melro, S. Magalhães, L. Alves, R. Craveiro, A. Filipe, A.J.M. Valente, G. Martins, F.E. Antunes, A. Romano, B. Medronho, “New Deep Eutectic Solvent Assisted Extraction of Highly Pure Lignin from Maritime Pine Sawdust (*Pinus Pinaster Ait.*),” *International Journal of Biological Macromolecules*. 177 (2021) 294–305. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.088>.
- [8] BEQ, “A Produção de Açúcar,” (2021). <https://betaeq.com.br/index.php/2019/10/14/producao-de-acucar/> (accessed March 21, 2021).
- [9] M.B. Santos, V.A. Fortes, “Estudo do processo de clarificação do açúcar, utilizando peróxido de hidrogênio 30%”, Dissertação de Mestrado, Universidade do Vale do Paraíba, 2016.
- [10] R.E. Ferreira, “Microfiltração tangencial do caldo de cana-de-açúcar: avaliação da influência da temperatura e da pressão transmembrana e comparação em relação ao processo de clarificação convencional”, Dissertação de Doutorado, Universidade estadual de Campinas, 2012.
- [11] P. Prati, R.H. Moretti, “Study of Clarification Process of Sugar Cane Juice for Consumption,” *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 30 (2010) 776–783. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000300033>.

- [12] J.R. de J. Quaresma, “Estudo da evolução da cor no processo de refinação de ramas de cana-de-açúcar”, Dissertação de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, 2019.
- [13] J.L.A. Azevedo, “Sugar decolorization - strategies and solutions”, Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade de Coimbra, 2017.
- [14] G.H.G. Costa, I. dos S. Masson, L.A. de Freitas, J.P. Roviero, M.J.R. Mutton, “Use of Moringa Oleífera Lamarck Leaf Extract as Sugarcane Juice Clarifier: Effects on Clarified Juice and Sugar,” *Food Science and Technology (Campinas)*. 34 (2014) 204–209. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014000100029>.
- [15] P. Maćczak, H. Kaczmarek, M. Ziegler-Borowska, “Recent Achievements in Polymer Bio-Based Flocculants for Water Treatment,” *Materials*. 13 (2020) 3951. <https://doi.org/10.3390/ma13183951>.
- [16] T. Tripathy, B.R. De, “Flocculation : A New Way to Treat the Waste Water Tridib,” *Journal of Physical Sciences*. 10 (2006) 93–127. <http://inet.vidyasagar.ac.in:8080/jspui/bitstream/123456789/713/2/JPS10art9.pdf>.
- [17] T. Suopajarvi, “Functionalized nanocelluloses in wastewater treatment applications”, Doctoral Dissertation, University of Oulu, 2015.
- [18] T.C. Mokhena, M.J. Mochane, T.E. Motaung, L.Z. Linganisio, O.M. Thekiso, S.P. Songca, Sugarcane Bagasse and Cellulose Polymer Composites, in: Alexandre Bosco de Oliveira (Ed.), *Sugarcane - Technol. Res., InTech*, 2018: pp. 226–240. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71497>.
- [19] Z. YUAN, “Sistema Para Pré – Tratamento De Bagaço De Cana-De-Açúcar”, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade De Brasília, 2016.
- [20] C. Quinelato, “Métodos de Extração da Lignina do Bagaço da Cana-de-Açúcar da Região Noroeste do Estado de São Paulo”, Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, 2016.
- [21] M. Asgher, Z. Ahmad, H.M.N. Iqbal, “Alkali and Enzymatic Delignification of Sugarcane Bagasse to Expose Cellulose Polymers for Saccharification and Bio-Ethanol Production,” *Industrial Crops and Products*. 44 (2013) 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.10.005>.
- [22] Alokika, Anu, A. Kumar, V. Kumar, B. Singh, “Cellulosic and Hemicellulosic Fractions of Sugarcane Bagasse: Potential, Challenges and Future Perspective,” *International Journal of Biological Macromolecules*. 169 (2021) 564–582. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.175>.
- [23] W. de Jong, Biomass Composition, Properties, and Characterization, in: W. De Jong, J.R. Van Ommen (Eds.), *Biomass as a Sustain. Energy Source Futur.*, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, 2014: pp. 36–68. <https://doi.org/10.1002/9781118916643.ch2>.
- [24] D. Klemm, B. Heublein, H.-P. Fink, A. Bohn, “Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material,” *Angewandte Chemie International Edition*. 44 (2005) 3358–3393. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>.

- [25] L.C.H. Alves, “Cellulose solutions : Dissolution , regeneration , solution structure and molecular interactions”, Doctoral Dissertation, University of Coimbra, 2015. <https://estudogeral.uc.pt/handle/10316/87580>.
- [26] X. Zhou, L.J. Broadbelt, R. Vinu, Mechanistic Understanding of Thermochemical Conversion of Polymers and Lignocellulosic Biomass, in: *Adv. Chem. Eng.*, 1st ed., Elsevier Inc., 2016: pp. 95–198. <https://doi.org/10.1016/bs.ache.2016.09.002>.
- [27] O. Nechyporchuk, M.N. Belgacem, J. Bras, “Production of Cellulose Nanofibrils: A Review of Recent Advances,” *Industrial Crops and Products*. 93 (2016) 2–25. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.016>.
- [28] J. George, S. S N, “Cellulose Nanocrystals: Synthesis, Functional Properties, and Applications,” *Nanotechnology, Science and Applications*. (2015) 45. <https://doi.org/10.2147/NSA.S64386>.
- [29] M.C. V. Nagel, T. Heinze, “Esterification of Cellulose with Acyl-1H-Benzotriazole,” *Polymer Bulletin*. 65 (2010) 873–881. <https://doi.org/10.1007/s00289-010-0250-9>.
- [30] I. Jölly, S. Schlögl, M. Wolfahrt, G. Pinter, M. Fleischmann, W. Kern, “Chemical Functionalization of Composite Surfaces for Improved Structural Bonded Repairs,” *Composites Part B: Engineering*. 69 (2015) 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2014.10.020>.
- [31] P. Bajpai, Structure of Lignocellulosic Biomass, in: *SpringerBriefs in Molecular Science* (Ed.), *Pretreat. Lignocellul. Biomass Biofuel Prod.*, Springer, Singapore, 2016: pp. 7–12. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0687-6_2.
- [32] P. Figueiredo, K. Lintinen, J.T. Hirvonen, M.A. Kostianen, H.A. Santos, “Properties and Chemical Modifications of Lignin: Towards Lignin-Based Nanomaterials for Biomedical Applications,” *Progress in Materials Science*. 93 (2018) 233–269. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2017.12.001>.
- [33] M. Nauman Aftab, I. Iqbal, F. Riaz, A. Karadag, M. Tabatabaei, Different Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass for Use in Biofuel Production, in: *Biomass Bioenergy - Recent Trends Futur. Challenges*, IntechOpen, 2019: pp. 1–24. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84995>.
- [34] A.R. Mankar, A. Pandey, A. Modak, K.K. Pant, “Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review on Recent Advances,” *Bioresour. Technology*. 334 (2021) 125235. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125235>.
- [35] J. Baruah, B.K. Nath, R. Sharma, S. Kumar, R.C. Deka, D.C. Baruah, E. Kalita, “Recent Trends in the Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Value-Added Products,” *Frontiers in Energy Research*. 6 (2018) 1–19. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00141>.
- [36] V.B. Agbor, N. Cicek, R. Sparling, A. Berlin, D.B. Levin, “Biomass Pretreatment: Fundamentals toward Application,” *Biotechnology Advances*. 29 (2011) 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>.
- [37] R.O. De Almeida, “Tratamento da Acacia dealbata com líquidos iónicos e com líquidos

- eutéticos”, Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade de Coimbra, 2018.
- [38] H. Chen, J. Liu, X. Chang, D. Chen, Y. Xue, P. Liu, H. Lin, S. Han, “A Review on the Pretreatment of Lignocellulose for High-Value Chemicals,” *Fuel Processing Technology*. 160 (2017) 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.007>.
- [39] G. Brodeur, E. Yau, K. Badal, J. Collier, K.B. Ramachandran, S. Ramakrishnan, “Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass : A Review,” *Enzyme Research*. 2011 (2011). <https://doi.org/10.4061/2011/787532>.
- [40] A.W. Bhutto, K. Qureshi, K. Harijan, R. Abro, T. Abbas, A.A. Bazmi, S. Karim, G. Yu, “Insight into Progress in Pre-Treatment of Lignocellulosic Biomass,” *Energy*. 122 (2017) 724–745. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.01.005>.
- [41] H. Luo, M.M. Abu-Omar, Chemicals From Lignin, in: *Encycl. Sustain. Technol.*, Elsevier, 2017: pp. 573–585. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10235-0>.
- [42] A.K. Mathew, A. Abraham, K.K. Mallapureddy, R.K. Sukumaran, Lignocellulosic Biorefinery Wastes, or Resources?, in: *Waste Biorefinery*, Elsevier, 2018: pp. 267–297. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63992-9.00009-4>.
- [43] P. Halder, S. Kundu, S. Patel, A. Setiawan, R. Atkin, R. Parthasarthy, J. Paz-Ferreiro, A. Surapaneni, K. Shah, “Progress on the Pre-Treatment of Lignocellulosic Biomass Employing Ionic Liquids,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 105 (2019) 268–292. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.01.052>.
- [44] L. Neubert, J. Sunthornvarabhas, M. Sakulsombat, K. Sriroth, “Delignification and Fractionation of Sugarcane Bagasse with Ionic Liquids,” *Cellulose Chemistry and Technology*. 54 (2020) 301–318. <https://doi.org/10.35812/CelluloseChemTechnol.2020.54.32>.
- [45] N. Yamaki, K. Shiota, Y. Izato, D.K. Hoang, A. Miyake, “Thermal Hazard Analysis of a Biomass Pretreatment Process Using Ionic Liquids,” *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 138 (2019) 2945–2953. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08412-4>.
- [46] M. Francisco, A. van den Bruinhorst, M.C. Kroon, “Low-Transition-Temperature Mixtures (LTTMs): A New Generation of Designer Solvents,” *Angewandte Chemie International Edition*. 52 (2013) 3074–3085. <https://doi.org/10.1002/anie.201207548>.
- [47] D. Trache, M.H. Hussin, C.T. Hui Chuin, S. Sabar, M.R.N. Fazita, O.F.A. Taiwo, T.M. Hassan, M.K.M. Haafiz, “Microcrystalline Cellulose: Isolation, Characterization and Bio-Composites Application—A Review,” *International Journal of Biological Macromolecules*. 93 (2016) 789–804. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.056>.
- [48] A. Satlewal, R. Agrawal, S. Bhagia, J. Sangoro, A.J. Ragauskas, “Natural Deep Eutectic Solvents for Lignocellulosic Biomass Pretreatment: Recent Developments, Challenges and Novel Opportunities,” *Biotechnology Advances*. 36 (2018) 2032–2050. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.009>.
- [49] N. Delgado-Mellado, M. Larriba, P. Navarro, V. Rigual, M. Ayuso, J. García, F. Rodríguez, “Thermal Stability of Choline Chloride Deep Eutectic Solvents by

- TGA/FTIR-ATR Analysis,” *Journal of Molecular Liquids*. 260 (2018) 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.03.076>.
- [50] G. Li, Y. Jiang, X. Liu, D. Deng, “New Levulinic Acid-Based Deep Eutectic Solvents: Synthesis and Physicochemical Property Determination,” *Journal of Molecular Liquids*. 222 (2016) 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.07.039>.
- [51] E. Scelsi, A. Angelini, C. Pastore, “Deep Eutectic Solvents for the Valorisation of Lignocellulosic Biomasses towards Fine Chemicals,” *Biomass*. 1 (2021) 29–59. <https://doi.org/10.3390/biomass1010003>.
- [52] Y.T. Tan, A.S.M. Chua, G.C. Ngoh, “Deep Eutectic Solvent for Lignocellulosic Biomass Fractionation and the Subsequent Conversion to Bio-Based Products – A Review,” *Bioresource Technology*. 297 (2020) 122522. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122522>.
- [53] M. Francisco, A. van den Bruinhorst, M.C. Kroon, “New Natural and Renewable Low Transition Temperature Mixtures (LTTMs): Screening as Solvents for Lignocellulosic Biomass Processing,” *Green Chemistry*. 14 (2012) 2153. <https://doi.org/10.1039/c2gc35660k>.
- [54] J.G. Lynam, N. Kumar, M.J. Wong, “Deep Eutectic Solvents’ Ability to Solubilize Lignin, Cellulose, and Hemicellulose; Thermal Stability; and Density,” *Bioresource Technology*. 238 (2017) 684–689. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.079>.
- [55] C. D’Agostino, R.C. Harris, A.P. Abbott, L.F. Gladden, M.D. Mantle, “Molecular Motion and Ion Diffusion in Choline Chloride Based Deep Eutectic Solvents Studied by ¹H Pulsed Field Gradient NMR Spectroscopy,” *Physical Chemistry Chemical Physics*. 13 (2011) 21383–21391. <https://doi.org/10.1039/c1cp22554e>.
- [56] Y.T. Tan, G.C. Ngoh, A.S.M. Chua, “Effect of Functional Groups in Acid Constituent of Deep Eutectic Solvent for Extraction of Reactive Lignin,” *Bioresource Technology*. 281 (2019) 359–366. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.010>.
- [57] C.-W. Zhang, S.-Q. Xia, P.-S. Ma, “Facile Pretreatment of Lignocellulosic Biomass Using Deep Eutectic Solvents,” *Bioresource Technology*. 219 (2016) 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.026>.
- [58] X.-D. Hou, K.-P. Lin, A.-L. Li, L.-M. Yang, M.-H. Fu, “Effect of Constituents Molar Ratios of Deep Eutectic Solvents on Rice Straw Fractionation Efficiency and the Micro-Mechanism Investigation,” *Industrial Crops and Products*. 120 (2018) 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.076>.
- [59] X. Zhao, S. Li, R. Wu, D. Liu, “Organosolv Fractionating Pre-treatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Enzymatic Saccharification: Chemistry, Kinetics, and Substrate Structures,” *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 11 (2017) 567–590. <https://doi.org/10.1002/bbb.1768>.
- [60] A. Satlewal, R. Agrawal, P. Das, S. Bhagia, Y. Pu, S.K. Puri, S.S. V. Ramakumar, A.J. Ragauskas, “Assessing the Facile Pretreatments of Bagasse for Efficient Enzymatic Conversion and Their Impacts on Structural and Chemical Properties,” *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 7 (2019) 1095–1104.

<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b04773>.

- [61] Y. Chen, L. Zhang, J. Yu, Y. Lu, B. Jiang, Y. Fan, Z. Wang, “High-Purity Lignin Isolated from Poplar Wood Meal through Dissolving Treatment with Deep Eutectic Solvents,” *Royal Society Open Science*. 6 (2019) 181757. <https://doi.org/10.1098/rsos.181757>.
- [62] A. Procentese, E. Johnson, V. Orr, A. Garruto Campanile, J.A. Wood, A. Marzocchella, L. Rehmman, “Deep Eutectic Solvent Pretreatment and Subsequent Saccharification of Corncob,” *Bioresource Technology*. 192 (2015) 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.053>.
- [63] M. Vilková, J. Płotka-Wasyłka, V. Andruch, “The Role of Water in Deep Eutectic Solvent-Base Extraction,” *Journal of Molecular Liquids*. 304 (2020) 112747. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112747>.
- [64] A. Mukherjee, M.-J. Dumont, V. Raghavan, “Review: Sustainable Production of Hydroxymethylfurfural and Levulinic Acid: Challenges and Opportunities,” *Biomass and Bioenergy*. 72 (2015) 143–183. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.11.007>.
- [65] W. Xu, X. Chen, H. Guo, H. Li, H. Zhang, L. Xiong, X. Chen, “Conversion of Levulinic Acid to Valuable Chemicals: A Review,” *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. (2021). <https://doi.org/10.1002/jctb.6810>.
- [66] E. Melro, A. Filipe, A.J.M. Valente, F.E. Antunes, A. Romano, M. Norgren, B. Medronho, “Levulinic Acid: A Novel Sustainable Solvent for Lignin Dissolution,” *International Journal of Biological Macromolecules*. 164 (2020) 3454–3461. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.128>.
- [67] M. Lu, G. Han, Y. Jiang, X. Zhang, D. Deng, N. Ai, “Solubilities of Carbon Dioxide in the Eutectic Mixture of Levulinic Acid (or Furfuryl Alcohol) and Choline Chloride,” *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 88 (2015) 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2015.04.021>.
- [68] M. Larriba, M. Ayuso, P. Navarro, N. Delgado-Mellado, M. Gonzalez-Miquel, J. García, F. Rodríguez, “Choline Chloride-Based Deep Eutectic Solvents in the Dearomatization of Gasolines,” *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 6 (2018) 1039–1047. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b03362>.
- [69] K. Grenda, J.A.F. Gamelas, J. Arnold, L. Pellizzer, O.J. Cayre, M.G. Rasteiro, “Evaluation of Anionic Eco-Friendly Flocculants Prepared from Eucalyptus Pulps with Diverse Lignin Contents for Application in Effluent Treatment,” *Polymers*. 13 (2021). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/polym13010025>.
- [70] J. Credou, T. Berthelot, “Cellulose: From Biocompatible to Bioactive Material,” *J. Mater. Chem. B*. 2 (2014) 4767–4788. <https://doi.org/10.1039/C4TB00431K>.
- [71] L.A. Hiller, “The Reaction of Cellulose with Acetic Acid,” *Journal of Polymer Science*. 14 (1954) 555–577. <https://doi.org/10.1002/pol.1954.120147805>.
- [72] R. Pönni, E. Kontturi, T. Vuorinen, “Accessibility of Cellulose: Structural Changes and Their Reversibility in Aqueous Media,” *Carbohydrate Polymers*. 93 (2013) 424–429.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.12.025>.

- [73] K. Grenda, “Modification of natural polymers and natural by-products for coagulation and flocculation purposes”, Doctoral Dissertation, University of Coimbra, 2018. <https://estudogeral.uc.pt/handle/10316/87580>.
- [74] Y.-L. Loow, E.K. New, G.H. Yang, L.Y. Ang, L.Y.W. Foo, T.Y. Wu, “Potential Use of Deep Eutectic Solvents to Facilitate Lignocellulosic Biomass Utilization and Conversion,” *Cellulose*. 24 (2017) 3591–3618. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1358-y>.
- [75] X. Zhang, Y. Kim, I. Elsayed, M. Taylor, T.L. Eberhardt, E.B. Hassan, R. Shmulsky, “Rigid Polyurethane Foams Containing Lignin Oxyalkylated with Ethylene Carbonate and Polyethylene Glycol,” *Industrial Crops and Products*. 141 (2019) 111797. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111797>.
- [76] J.E. McDonald, D.J. Rooks, A.J. McCarthy, Methods for the Isolation of Cellulose-Degrading Microorganisms, in: *Methods Enzymol.*, 2012: pp. 349–374. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415931-0.00019-7>.
- [77] M.S. Rahman, M.S. Hasan, A.S. Nitai, S. Nam, A.K. Karmakar, M.S. Ahsan, M.J.A. Shiddiky, M.B. Ahmed, “Recent Developments of Carboxymethyl Cellulose,” *Polymers*. 13 (2021) 1345. <https://doi.org/10.3390/polym13081345>.
- [78] H. Almlöf Ambjörnsson, K. Schenzel, U. Germgård, “Carboxymethyl Cellulose Produced at Different Mercerization Conditions and Characterized by NIR FT Raman Spectroscopy in Combination with Multivariate Analytical Methods,” *BioResources*. 8 (2013). <https://doi.org/10.15376/biores.8.2.1918-1932>.
- [79] L. Zhu, J. Qin, X. Yin, L. Ji, Q. Lin, Z. Qin, “Direct Sulfation of Bacterial Cellulose with a ClSO₃H/DMF Complex and Structure Characterization of the Sulfates,” *Polymers for Advanced Technologies*. 25 (2014) 168–172. <https://doi.org/10.1002/pat.3218>.
- [80] A. Svensson, E. Nicklasson, T. Harrah, B. Panilaitis, D.L. Kaplan, M. Brittberg, P. Gatenholm, “Bacterial Cellulose as a Potential Scaffold for Tissue Engineering of Cartilage,” *Biomaterials*. 26 (2005) 419–431. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.02.049>.
- [81] H. Liimatainen, M. Visanko, J.A. Sirviö, O.E.O. Hormi, J. Niinimäki, “Enhancement of the Nanofibrillation of Wood Cellulose through Sequential Periodate–Chlorite Oxidation,” *Biomacromolecules*. 13 (2012) 1592–1597. <https://doi.org/10.1021/bm300319m>.
- [82] D. Rajalaxmi, N. Jiang, G. Leslie, A.J. Ragauskas, “Synthesis of Novel Water-Soluble Sulfonated Cellulose,” *Carbohydrate Research*. 345 (2010) 284–290. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.09.037>.
- [83] D. Sluiter, Amie & Hames, Bonnie & Ruiz, R. & Scarlata, C. & Sluiter, J. & Templeton, David & Crocker, “Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomassa,” *Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory*. (2008).

- [84] International Commission For Uniform Methods of Sugar Analysis– ICUMSA, Method G.S. 2/3-9: The determination of sugar solution colour at 7.0, Lincolnshire: ICUMSA, 2011.
- [85] CONSECANA, Conselho de Produtores de Cana de açúcar, Açúcar e Etanol do Estado de São Paulo. Manual de instruções. 6ªed. São Paulo, 2015.
- [86] Y.-Z. Lai, X.-P. Guo, W. Situ, “Estimation of Phenolic Hydroxyl Groups in Wood by a Periodate Oxidation Method,” *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 10 (1990) 365–377. <https://doi.org/10.1080/02773819008050245>.
- [87] E. Adler, S. Hernestam, E. Boss, A. Cagliaris, “Estimation of Phenolic Hydroxyl Groups in Lignin. I. Periodate Oxidation of Guaiacol Compounds.,” *Acta Chemica Scandinavica*. 9 (1955) 319–334. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.09-0319>.
- [88] C.L. Aguiar, T.J.B. Menezes, “Produção de Celulosases e Xilanase Por *Aspergillus Niger* IZ9 Usando Fermentação Submersa Sobre Bagaço de Cana-de-Açúcar,” *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*. 18 (2000). <https://doi.org/10.5380/cep.v18i1.1125>.

Anexos

Anexo I: Procedimentos experimentais utilizados na caracterização do bagaço da cana-de-açúcar

▪ Determinação do teor de secura

- 1- Pesar aproximadamente 1g de uma amostra de bagaço (base seca), numa caixa de pesagem, previamente tarada e registar o valor.
- 2- Colocar a caixa e a tampa na estufa, à temperatura de 105°C, durante um tempo superior a 4h e inferior a 24h.
- 3- Após a secagem, tapar deixar a caixa e deixar arrefecer dentro de um exsiccador cerca de 20 min; depois destapar e proceder à pesagem da mesma.
- 4- O teor de secura é determinado através da razão entre a massa de bagaço seco e a massa de bagaço húmido:

$$\text{Teor de secura} = \frac{m_{seca}(g)}{m_{húmida}(g)}$$

▪ Determinação da lignina e polissacarídeos

Hidrólise ácida

- 1- Introduzir o cadinho de vidro filtrante, na estufa à temperatura de 105 ±3 °C durante 4 horas.
- 2- Pesar, aproximadamente 0.1mg a 300mg de amostra pré-extraída usando um tubo de centrífugadora.
- 3- Adicionar 3.00 ± 0.001mL de ácido sulfúrico a 72% (m/m) no tubo e misturar. Introduzir o tubo num banho de água a 30 ± 3°C durante 1 hora e, sem retirar a amostra do banho, agitar a cada 5/10 minutos.
- 4- Retirar o tubo do banho e verter o seu conteúdo para um frasco.

- 5- Adicionar lentamente $84.00 \pm 0.04\text{mL}$ de água ultrapura para diluir o ácido sulfúrico para 4%(m/m).
- 6- Colocar o frasco na autoclave durante 1 hora a 121°C .
- 7- Retirar o cadinho filtrante da estufa, colocar num exsiccador durante 20 minutos e pesar.
- 8- Remover o frasco da autoclave e deixar a arrefecer. Posteriormente, filtrar o seu conteúdo a vácuo, usando um cadinho filtrante previamente seco e pesado. Armazenar o filtrado num frasco.
- 9- Lavar o frasco retirado da estufa com 50mL de água destilada quente, de forma a remover todos os resíduos presentes. Filtrar novamente através do cadinho.

Determinação da lignina insolúvel

- 10- Colocar o cadinho de vidro filtrante com os resíduos na estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 12 horas.
- 11- Retirar o cadinho da estufa, colocá-lo num exsiccador durante 20 minutos e pesar.
- 12- A percentagem de lignina insolúvel é obtida pela razão entre a massa de lignina insolúvel ($m_{lignina_{ins}}$) e a massa de amostra seca (m_{AS}) a multiplicar por 100.

Determinação da lignina solúvel

- 13- Colocar 0.5mL do filtrado, recolhido na etapa 8, num tubo de ensaio e adicionar 4.5mL de água ultrapura e agitar em seguida.
- 14- Num outro tubo de ensaio, colocar 0.5mL de ácido de sulfúrico a 4% e adicionar 4.5mL de água ultrapura. Esta solução será o branco.
- 15- Utilizando uma célula de quartzo, medir a absorbância da amostra do tubo de ensaio a 205nm. Esta medição deve ser realizada no máximo até 6 horas após a realização da hidrólise ácida.
- 16- A percentagem de lignina solúvel é determinada pela relação entre a absorbância a 205nm (ABS), o fator de diluição utilizado ($FD = 10$), o volume de hidrolisado ($V_{Hidrolisado} = 87\text{mL}$), a absorvidade da lignina ($\epsilon = 110 \text{ L} \cdot (\text{g} \cdot \text{cm})^{-1}$), o comprimento da célula ($b = 1\text{cm}$).

17- A percentagem de lignina total é dada pela soma da lignina solúvel com a insolúvel

Determinação dos polissacarídeos

18- Neutralizar as amostras de filtrado obtidas na etapa 8, usando carbonato de cálcio até atingir um pH entre 5 e 6.

19- Deixar precipitar e filtrar com um filtro de seringa de nylon com 0.2 µm de porosidade e 25 mm de diâmetro para um tubo *ependorf*.

20- Por fim, analisar a amostra usando a técnica de HPLC. A injeção deve ser efetuada com um tempo entre amostras de aproximadamente uma hora para verificar a eventual existência de furfural ou hidroximetilfurfural (produtos de degradação da xilose e glucose) para além dos hidratos de carbono, uma vez que, estes dois compostos apresentam tempos de retenção maiores.

21- Após a injeção, determinar a percentagem de hidratos de carbono na amostra (equação seguinte).

$$\text{Hidratos de carbono (\%)} = \frac{C_{HPLC} (g \cdot mL^{-1}) \times V_{hidrolisado} (mL) \times fc}{m_{AS} (g)} \times 100$$

Onde C_{HPLC} é a concentração de monossacarídeos obtida pelo HPLC e fc é o fator de correção para transformar na forma anidra, que varia quando se refere a uma hexose (glucose, manose e galactose) ou a uma pentose (xilose e arabinose), $fc = 0.90$ (hexose) e $fc = 0.88$ (pentose).

A injeção das amostras foi realizada utilizando um equipamento (Knauer, Modelo K301) conectado a um detetor de índice de refração, com as seguintes condições de operação:

- Como fase móvel, utilizou-se uma solução de H_2SO_4 (0.005N) filtrada, previamente, com um filtro de membrana de 0.2 µm de porosidade (Fioroni) e 47 mm de diâmetro.
- Para a identificação e quantificação dos compostos foi utilizada uma coluna Rezex ROA - Organic acid H^+ 300×7.8 mm (Phenomenex) a 40°C e a respetiva pré-coluna.