

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**Coordenação de Engenharia Química/CCET**  
Trabalho de Conclusão de Curso - TCC



**ANNE CAROLYNE MENDONÇA CIDREIRA**

**EXTRAÇÃO DE DERIVADOS LIGNOCELULÓSICOS A  
PARTIR DA BIOMASSA RESIDUAL DO AÇAÍ (*Euterpe  
Olerácea*)**

São Luís  
2019

**ANNE CAROLYNE MENDONÇA CIDREIRA**

**EXTRAÇÃO DE DERIVADOS LIGNOCELULÓSICOS A  
PARTIR DA BIOMASSA RESIDUAL DO AÇAÍ (*Euterpe  
Olerácea*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Curso da Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do diploma de Graduação em Engenharia Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lamia Zuniga Linan

São Luís  
2019

Mendonça Cidreira, Anne Carolyne.

EXTRAÇÃO DE DERIVADOS LIGNOCELULÓSICOS A PARTIR DA  
BIOMASSA RESIDUAL DO AÇAÍ Euterpe Olerácea / Anne Carolyne  
Mendonça Cidreira. - 2019.

56 p.

Orientador(a): Lamia Zuniga Linan.

Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do  
Maranhão, São Luís - Ma, 2019.

1. Biomassa lignocelulósica. 2. Fibra de açaí. 3.  
Lignina. 4. NCCs. I. Zuniga Linan, Lamia. II. Título.

**BANCA EXAMINADORA:**

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. LAMIA ZUNIGA LINAN  
Orientador –DEEQ/CCET/UFMA

Prof. Dr. JAIVER EFREN JAIMES FIGUEIROA  
DEEQ/CCET/UFMA

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. CLÁUDIA QUINTINO DA ROCHA  
DEQUI/CCET/UFMA

**13 de dezembro de 2019**

Dedico este trabalho ao Germano, porque aqueles que são lembrados nunca morrem de verdade, vivem sempre em nossos corações.

## AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e em primeiro lugar agradeço a Deus, que está comigo em todas as situações, ainda que eu não perceba.

À minha família que me deu todo suporte nesta jornada, especialmente a minha mãe Rizomar, pela qual eu tenho o mais profundo amor e admiração, e ao meu tio Derval que gentilmente me aceitou em sua casa.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>.Dr<sup>ª</sup> Lamia Zuniga Linan por me apresentar essa incrível e versátil área de biomateriais, pela orientação desde a iniciação científica na qual estive sempre presente, sempre disposta e pela amizade que construímos, que desejo levar pra vida toda.

À Prof.<sup>a</sup> Cláudia e à Prof Teresa Cristina que cederam os equipamentos de seus laboratórios para que algumas análises pudessem ser realizadas.

Aos meus amigos da Comunidade AMAE pelo enorme incentivo e apoio nos momentos mais difíceis, minha história está ligada a vocês.

Aos meus amigos de carreira Ana Letícia, Simara, Camila, Júlio, Mária, Lucas Andrade e outros que foram essenciais e dividiram comigo sorrisos, angústias, sonhos e realizações.

CIDREIRA, A. C. M. **Extração de derivados lignocelulósicos a partir da biomassa residual do açaí (*Euterpe Olerácea*):** 2019. 56. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

## RESUMO

O fruto do açaí (*Euterpe Olerácea*) é um produto amplamente comercializado no Brasil, principalmente na região amazônica, que gera uma grande quantidade de resíduo, a utilização desse tipo biomassa lignocelulósica para geração de produtos com maior valor agregado se apresenta como uma alternativa sustentável. Nesse contexto, este trabalho teve como intuito avaliar o potencial da biomassa lignocelulósica do fruto do açaí na extração de derivados de alto valor agregado como nanocristais de celulose (NCCs) e lignina, principalmente. Para isto, realizou-se um pré-tratamento da fibra do açaí para a retirada de extrativos orgânicos e componentes estruturais como lignina, hemicelulose e carboidratos de baixo peso molecular, e em seguida empregou-se o método da hidrólise ácida com 41 % da mistura ácido sulfúrico e ácido clorídrico (1:1) para extração dos nanocristais. Um planejamento estatístico foi proposto para avaliar as melhores condições de produção dos NCCs, no qual se avaliaram as variáveis: temperatura, tempo, e faixa granulométrica de fibra. Os resultados de espectroscopia na região do infravermelho mostraram bandas características de lignina, hemicelulose e carboidratos presentes na fibra do açaí e, que a intensidade dessas bandas foi diminuindo da fibra deslignificada para fibra branqueada, indicando que houve a extração desses componentes nessas etapas. A análise da lignina por Ressonância Magnética Nuclear com Correlação Quântica Única Heteronuclear (HSQC  $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ ) indicou que ela é rica nas subestruturas precursoras com forte presença do radical metoxilo, ácido p-cumárico e algumas ligações  $\beta\text{-O-4}'$ , o que sugere a aplicação desta lignina para a produção de *commodity chemicals*. O maior rendimento de NCCs obtido foi de 11% para hidrólise na condição  $T=45^\circ\text{C}$ ,  $t= 120$  min e granulometria de (125 - 250)  $\mu\text{m}$ . A cristalinidade foi calculada pela técnica de DRX e apresentou um valor de 45%. Assim, verificou-se que é possível a obtenção desse material nanocristalino a partir da fibra do açaí, porém sua extração ainda enfrenta desafios como o baixo rendimento e a alta quantidade de água gasta no processo.

**Palavras-chave:** Biomassa lignocelulósica. Fibra de açaí. NCCs. Lignina.

CIDREIRA, A. C. M. **Extraction of lignocellulosic derivates from açai residual biomass (Euterpe Olerácea)**. 2019. 56 f. Final Graduation Dissertation (Graduation in Chemical Engineering) – Curso de Engenharia do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

### ABSTRACT

The use of lignocellulosic biomass for cellulose-based products generation has been widely studied, as it represents a sustainable alternative that uses a low-cost feedstock to generate higher value-added products. Açai berry is a widely traded product throughout Brazil, specially in the Amazon region. From its consumption is generated a huge amount of waste that is not collected properly the most of time, which causes environmental problems. In this context, this work aimed to evaluate the potential of the lignocellulosic biomass from Açai fruits (*Euterpe Olerácea*) to produce cellulosic nanocrystals (CNCs) and lignin. A pre-treatment of açai fibers was applied to remove extractives and components including lignin, hemicellulose and low molecular weight carbohydrates, after that, the acid hydrolysis method with 41% of the sulfuric acid and hydrochloric acid mixture (1:1) was carried out for extraction of nanocrystals. An experimental design was proposed to analyze the best extraction conditions of the CNCs, considering the variables: temperature, time, and particle size range of the fiber. The infrared spectroscopy results showed characteristic peaks of lignin, hemicellulose and carbohydrates present in the fiber. The intensity of these peaks decreased from the delignified fiber to the bleached fiber, which pointed out that these components were efficiently removed from these steps. A 2D NMR lignin analysis indicated that it is rich in precursor substructures with a strong presence of radical methoxy, p-cumaric acid and some b-O-4' bonds. The lignin is therefore a potential precursor to the production of chemical commodities. . The highest yield of NCCs was 11%, at hydrolysis condition of 45 °C, 120 min and (125-250) µm. The crystallinity was calculated by the XRD technique and presented a value of 45%. Thus, it was found that it is possible to obtain this nanocrystalline material from the açai fiber, but its extraction still faces challenges such as the low yield and the high amount of water spent in the process.

**Keywords:** Lignocellulosic biomass. Açai fiber. NCCs. Lignin.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –Estrutura dos componentes estruturais celulose, hemicelulose e lignina na parede celular das plantas e fibras.....	04
Figura 2 – Estrutura molecular da celulose (n= grau de polimerização) .....	06
Figura 3 – Fitoquímicos precursores a), b) e c) unidades estruturais e d), e) e f) constitutivas da lignina.....	09
Figura 4 – Arranjo das ligações $\beta$ -O-4' na estrutura molecular da lignina.....	09
Figura 5– Estruturas dos ácidos p-cumárico e ferúlico presentes nas ligninas das gramíneas.	10
Figura 6 – Procedimento realizado para a obtenção da biomassa do fruto do açaí. ....	12
Figura 7– Fluxograma do processo de extração da lignina e dos CNCs da fibra de açaí.. ....	14
Figura 8– Sistema experimental utilizado na reação de hidrólise ácida para extração de nanocristais de celulose.....	16
Figura 9– Espectro 2D- RMN definido pela técnica HSQC- RMN para uma lignina proveniente de madeira .....	19
Figura 10– Extração dos extrativos orgânicos no extrator sohxlet com uma mistura etanol/ciclohexano (1:1).....	21
Figura 11– Cromatograma dos extrativos orgânicos da fibra do açaí com detecção UV/Vis, fase móvel água/metanol com gradiente de 5 a 100 % de metanol em 40 min e 100% de metanol de 40 a 50 min. ....	22
Figura 12– Aspecto da fibra de açaí após cada etapa do pré-tratamento, lignina retirada na deslignificação alcalina e carboidratos retirados no branqueamento.....	23
Figura 13– Espectro de infravermelho da fibra de açaí in natura (FN), após o tratamento alcalino (FA) e após o branqueamento (FB). ....	25
Figura 14– Espectro da lignina (LG) obtida após o tratamento alcalino e do resíduo do branqueamento (RB).....	26
Figura 15– Espectro 2D- RMN completo gerado pela técnica HSQC- RMN para a lignina obtida da fibra do caroço de açaí. Em verde, as setas identificando as unidades estruturais com sinais positivos (áreas positivas).....	29
Figura 16- Espectro 2D- RMN ampliado da região alifática oxigenada gerado pela técnica HSQC- RMN para a lignina obtida da fibra do caroço de açaí. (1) C/H em metoxilo; (2)	

Correlação $A\gamma$ : $C\gamma/H\gamma$ em subestruturas normais $\beta$ -O-4', $\gamma$ -hidroxiladas; (3) correlação X3: $C3/H3$ em $\beta$ -D-xilopirranose. ....	30
Figura 17–Espectro 2D- RMN ampliado da região aromática gerado pela técnica HSQC- RMN para a lignina obtida da fibra do caroço de açaí. (4) PCA2,6: $C2/H2$ e $C6/H6$ no ácido p-Cumárico; (5) PCA3,5: $C3/H3$ e $C5/H5$ no ácido p-Cumárico; (6) Correlação $I'\alpha$ : $C\alpha/H\alpha$ grupos terminais ( $I'$ ) e $\gamma$ -álcool cinâmico acilado.....	30
Figura 18- Suspensão final NCCs obtida da hidrólise ácida da fibra de açaí com HCl/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1:1), a 45°C durante 120 min, antes e depois da sonificação.....	32
Figura 19– Nanocristais de celulose obtidos pela hidrólise ácida da fibra do açaí com HCl/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1:1), a 45°C durante 120 min, após a liofilização.....	32
Figura 20– Difratoograma dos NCCs obtidos pela hidrólise ácida da fibra do açaí a 45° C e 120 min .....	34

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Planejamento fatorial tipo $2^3 + 1$ ponto central para a hidrólise ácida da fibra do açaí .....	20
Tabela 2 - Porcentagem média de extrativos orgânicos de diferentes faixas granulométricas .....	22
Tabela 3 – Quantidade de lignina insolúvel em meio ácido na fibra de açaí de acordo com as faixas granulométricas estudadas.....	24
Tabela 4 – Dados de rendimento de NCCs de acordo com a faixa granulométrica de fibra de açaí utilizada na hidrólise ácida.....	33
Tabela 5 – Estimativa do volume de água destilada gasto em cada etapa do processo de obtenção dos derivados lignocelulósicos da fibra do açaí (lignina e NCCs). .....	35

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>2</b>
2.1 Objetivo geral.....	2
2.1 Objetivos específicos .....	2
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
3.1 Biomassa .....	3
3.2 Biomassa residual do fruto do açaí ( <i>Euterpe Olerácea</i> ) .....	4
3.3 Celulose e NCCs .....	5
3.4 Obtenção dos NCCs .....	7
3.5 Lignina.....	8
3.6 Hemicelulose.....	10
3.7 Extrativos .....	11
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>12</b>
4.1 Material .....	12
4.2 Local da pesquisa .....	12
4.3 Solventes e Reagentes.....	13
4.4 Métodos e procedimentos experimentais.....	13
4.5 Técnicas de Caracterização .....	16
4.5.1 CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (CLAE).....	16
4.5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV).....	17
4.5.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) COM CORRELAÇÃO QUÂNTICA ÚNICA HETERONUCLEAR ( <i>HSQC</i> $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ )- HSQC- RMN.....	17
4.5.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX) .....	19
4.6 Análise estatística .....	20
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>21</b>
5.1 Extração dos componentes organossolúveis .....	21
5.2 Avaliação do Pré-tratamento: Deslignificação Alcalina e Branqueamento .....	23

<b>5.3 Caracterizacão da lignina por RMN 2D.....</b>	<b>28</b>
<b>5.4 Obtenção dos nanocristais de celulose (NCCs) .....</b>	<b>31</b>
<b>5.5 Estimativa do gasto de água destilada durante o processo de extração dos derivados lignocelulósicos da fibra do açaí. ....</b>	<b>34</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>37</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os nanocristais de celulose são materiais de escala nanométrica formados pela parte cristalina da cadeia de celulose, que possuem ótimas propriedades mecânicas, óticas e térmicas. Pereira et al. (2014) relataram que essas características contribuem para a utilização desse material como nano partículas de reforço em nanocompósitos e chamam a atenção de indústrias de diferentes ramos, como a de embalagens, agricultura, alimentícia, automobilística, aeronáutica, entre outras, revelando seu potencial econômico em crescimento.

A lignina é um heteropolímero de estrutura complexa e amorfa presente na madeira, em gramíneas e na maioria dos resíduos agroindustriais que possui alta resistência térmica, química e biológica. Antes tratada como um resíduo indesejável da indústria de papel e celulose, a lignina tem recebido bastante atenção por parte da biorrefinaria para obtenção de produtos que substituam os insumos provenientes da cadeia petroquímica.

A comercialização do fruto do açaí (*Euterpe Oleracéa*) teve um grande aumento nos últimos vinte anos devido ao seu alto valor nutricional, por ter propriedades antioxidantes e ser rico na chamada “gordura boa”. Segundo dados da SEDAP (2017), no estado do Pará a produção de frutos alcançou 1.273.568 milhões de toneladas. Um relatório da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) de 2019 destaca o estado do Pará como maior produtor mundial da fruta, seguido do Amazonas, e revela a consolidação do Maranhão como um dos maiores produtores ocupando terceiro lugar no *ranking* nacional.

A extração da polpa do açaí gera uma biomassa residual que constitui 85% do fruto, assim, observa-se a necessidade do estudo do aproveitamento e tratamento desse resíduo biológico na geração de produtos com valor agregado. A fibra do açaí está localizada no mesocarpo, em contato com a polpa, e, portanto é um subproduto de sua extração. Pessoa et al. (2010) caracterizou a fibra de açaí e determinou sua composição lignolelulósica com 33% de lignina Klason, 33% de celulose, 37% de hemicelulose, 7% de extrativos solúveis em água e 1% de extrativos orgânicos, sendo assim um material com alto potencial para extração de nanocristais de celulose (NCC) e lignina.

A obtenção de produtos biodegradáveis oriundos de fontes renováveis e de baixo custo é de grande interesse da sociedade em geral, que visa substituir o uso de produtos derivados do petróleo. Assim, o presente trabalho possui alta relevância por avaliar o potencial de uma matéria-prima de baixo custo e de fácil acessibilidade para obtenção de

materiais de maior valor agregado, como os NCCs e lignina.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o potencial da fibra do açaí para produzir derivados lignocelulósicos (lignina e nanocristais de celulose)

### **2.1 Objetivos específicos**

- Estudar e estabelecer uma metodologia experimental apropriada, em escala laboratorial para a preparação das fibras da semente do açaí e para a extração dos derivados lignocelulósicos;
- Realizar ensaios preparativos da matéria prima, lavagem, remoção da fibra, moenda, e distribuição granulométrica visando a posterior quantificação dos rendimentos dos produtos a serem extraídos;
- Realizar a extração dos derivados da fibra: extrativos, lignina e NCCs;
- Realizar a caracterização físico-química dos produtos gerados;
- Definir as melhores condições de extração, em função dos NCCs produzidos, por ser este derivado o que oferece o maior desafio tecnológico para a extração;
- Avaliar o potencial que tem a fibra de açaí para a produção eficiente de NCCs.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Biomassa

Biomassa é toda matéria orgânica oriunda direta ou indiretamente do processo de fotossíntese e seus derivados como florestas, culturas e resíduos agrícolas, ou proveniente de rejeitos industriais e urbanos (CLAUDEMIRO, 2013). Essa matéria tem sido considerada a única fonte sustentável de carbono na terra, sendo um promissor substituto do petróleo para aplicações petroquímicas e na produção de combustíveis (ISIKGOR e BECER, 2015).

De acordo com Tursi (2019) a biomassa pode ser classificada de acordo com sua origem em quatro tipos: biomassa da madeira, biomassa herbácea, biomassa aquática, biomassa de resíduos animais e humanos, e mistura de biomassas.

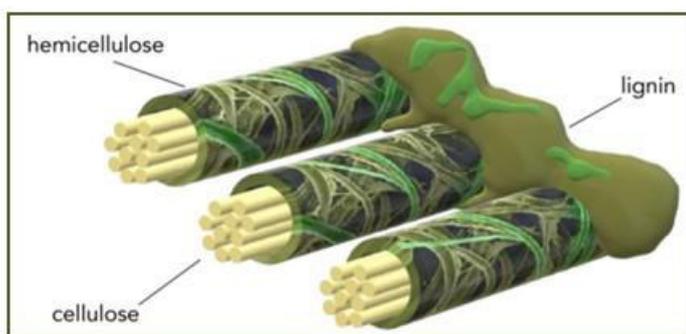
- I- Biomassa da madeira: proveniente de recursos florestais como lenha, resíduos de árvores e raízes, subprodutos gerados do processamento da madeira da indústria moveleira e de papel e celulose (SILVA et al., 2009).
- II- Biomassa herbácea: consiste basicamente de resíduos agroindustriais como o bagaço da cana-de-açúcar, a palha de arroz, a palha e o sabugo do milho, resto de cultura de soja e outros subprodutos (CORTEZ, LORA e GÓMEZ, 2008).
- III- Biomassa aquática: incluem macroalgas, microalgas e plantas aquáticas, constituídas por diferentes tipos de carboidratos em combinação com várias proteínas, lipídios e material inorgânico (de WILD, 2015).
- IV- Biomassa de resíduos animais e humanos: ossos, esterco, pelos e outros resíduos provenientes da criação de bovinos, suínos e aves; além de esterco e cabelo humano (VASSILEV et al. 2012).

Segundo Zhou (2011) é caracterizada como biomassa lignocelulósica toda matéria que possui como principais componentes estruturais os carboidratos poliméricos celulose, hemicelulose e lignina. Assim, as principais fontes desse material são a biomassa proveniente da madeira e a biomassa herbácea, pois a estrutura da parede celular das plantas é composta basicamente desses três carboidratos poliméricos.

Dependendo da fonte do material lignocelulósico esses polímeros são organizados em estruturas tridimensionais complexas e não uniformes que podem apresentar grande variação em sua composição relativa (ISIKGOR e BECER, 2015).

Nessa matriz, a celulose é o principal componente estrutural e é responsável por agregar rigidez ao material e, as propriedades mecânicas dependem da quantidade desse constituinte (KHALIL et al., 2014). A hemicelulose compõe uma parte amorfa da estrutura que envolve as microfibras de celulose e age como um compatibilizante natural da celulose e da lignina (KALIA et al., 2011). A lignina é um componente amorfo e com características hidrofóbica e hidrofílica que age como protetor das fibras de celulose contra ataque ácido ou biológico, também é responsável pela retenção de água na célula (MAJEED et al., 2013). A Figura 1 apresenta como está organizada essa estrutura na parede celular das plantas e fibras.

Figura 1- Estrutura dos componentes estruturais celulose, hemicelulose e lignina na parede celular das plantas e fibras.



Fonte: Tursi (2019)

A biomassa lignocelulósica tem sido estudada por diversos autores com o intuito de utilizar uma fonte renovável e de baixo custo para gerar materiais de maior valor agregado, como os materiais à base de celulose, que possam substituir os produtos provenientes do petróleo (MISHRA, KHARKAR e PETHE, 2019).

Alguns resíduos agroindustriais com diferentes porcentagens de celulose e lignina foram usados para extrair a parte cristalina da celulose denominada de nanocristais de celulose (NCCs) como: fibras de coco, palha de milho, talo de algodão, casca de arroz, fibra de sisal, kenaf, palha de trigo, bagaço de cana-de-açúcar e outros (BRINCHI et al., 2013).

### 3.2 Biomassa residual do fruto do açaí (*Euterpe Olerácea*)

O açaí (*Euterpe Olerácea*) é uma espécie típica da região da várzea amazônica e seu fruto é popularmente consumido na forma de suco por possuir grande valor energético, alta concentração de fibra alimentar e excelentes propriedades antioxidantes (YUYAMA et al.,

2011).

Os frutos do açaí são quase redondos, com diâmetro variando entre um e dois centímetros e uma epiderme externa lisa. O pericarpo tem cerca de 1 mm de espessura, o mesocarpo é formado por camadas internas que correspondem a região onde se encontra a polpa, e o endocarpo possui um tecido vascular formado por um rede monostélica que forma uma camada de fibra bem embalada, parcialmente destacável durante o processamento de frutas e que está em contato direto com a polpa (PESSOA et al., 2010)

Durante o processo de despolpação é gerada uma grande quantidade de resíduos que são constituídos basicamente pelo caroço coberto por fibras lignocelulósicas. Segundo Pessoa et al. (2010) aproximadamente 85% do peso da fruta são resíduos.

Buffalino et. al (2018) relataram que essa biomassa é acumulada em grandes depósitos e deixados perto dos estabelecimentos comerciais, causando poluição da terra e da água, além de problemas devido ao odor ofensivo gerado pela sua decomposição.

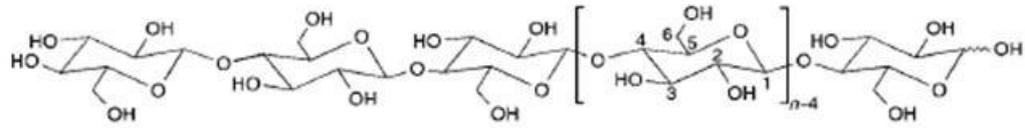
Com o intuito de melhorar a qualidade de vida da população residente desses locais diversas pesquisas têm sido realizadas para avaliar o potencial dessa biomassa, tanto na produção de energia (BUFFALINO et al., 2018), quanto na utilização da fibra lignocelulósica como reforço em compósitos com matrizes poliméricas (CASTRO et al., 2010; MARTINS et al., 2008). No entanto, não foram encontradas pesquisas relacionadas à extração dos derivados lignocelulósicos como lignina e produtos a base de celulose, como nanocristais de celulose (NCCs), nanofibras (NFC) ou a celulose microfibrilada (CMF).

### 3.3 Celulose e NCCs

Presente na madeira, no algodão, no cânhamo e outras agrofibras, a celulose é o polímero natural de maior ocorrência na terra e atua como um importante componente estrutural da parede celular das plantas (KARGARZADEH et al., 2018). Representada pela fórmula  $C_6H_{10}O_5$ , sua estrutura molecular é formada por unidades repetidas da  $\beta$ -D-glucopyranose que são ligadas covalentemente pelo grupo acetal e pelo grupo hidroxila dos átomos de carbono das extremidades da cadeia ( $\beta$ -1,4-glucan) (KLEMM et al., 2005).

De acordo com Habibi, Lucia e Rojas (2010) todos os anéis da  $\beta$ -D-glucopyranose assumem a conformação do tipo cadeira, onde as hidroxilas estão posicionadas na posição equatorial e os átomos de hidrogênio estão orientados na posição axial, sendo essa estrutura estabilizada por interações intramoleculares do tipo ponte de hidrogênio, conforme Figura 2.

Figura 2- Estrutura molecular da celulose (n= grau de polimerização)



Fonte: Klemm et al. (2005)

Segundo Janoobi et al. (2015) a celulose é formada por unidades nanométricas de fibras elementares que se sofrem torções e se agrupam em microfibras de estrutura helicoidal constituídas de regiões amorfas e domínios cristalinos fortemente ligados pelas interações inter e intramolecular de ponte de hidrogênio.

Devido aos diferentes tipos de estrutura nanofibrilar formados, as nanoceluloses obtidas pela desintegração da cadeia de celulose podem ser classificadas como nanocristais de celulose (NCCs) ou nanofibras de celulose (NFCs) (XIE et al., 2018). Os NCCs, também conhecidos como *nanowhiskers*, são materiais altamente cristalinos de 10-20 nm de largura e centenas de nanômetros de comprimento, enquanto as nanofibras são componentes formados por regiões amorfas e estruturas cristalinas de largura maior ou igual aos NCCs, porém com muitos micrometros de comprimento (XU et al., 2013).

Os cristais de celulose podem apresentar uma ampla variação em sua conformação devido às diferentes e complexas conexões criadas pelas ligações de hidrogênio, sendo formadas, assim, pelo menos quatro estruturas polimorfas denominadas celulose I, II, III e IV (HABIBI, LUCIA, ROJAS, 2010).

Conforme Moon et al. (2011) a celulose I é o tipo de estrutura cristalina sintetizada naturalmente pelas plantas, bactérias, algas e outros organismos, e é constituída ainda de duas estruturas polimorfas a I $\alpha$  (triclínica) e I $\beta$  (monoclínica) que variam em sua proporcionalidade dependendo da sua fonte de origem.

No entanto, Klemm et al. (2005) relataram que essa estrutura é menos estável e pode se converter em celulose tipo II (monoclínica) quando submetida ao tratamento com solução de hidróxido de sódio (mercerização) ou pela dissolução da celulose I em um solvente, seguida por uma etapa de precipitação, evidenciando a influencia dos tipos de tratamentos na estrutura dos NCCs.

### 3.4 Obtenção dos NCCs

Xie et al. (2018) relataram que o primeiro método usado para a extração dos nanocristais de celulose foi a hidrólise ácida com ácido clorídrico e ácido sulfúrico feito por Nickerson and Habrle em 1947, desde então, esse método tem sido amplamente utilizado por formar suspensões mais estáveis.

Outros métodos foram estudados e aprimorados, como a hidrólise enzimática, a degradação oxidativa, o método com líquidos iônicos e a hidrólise subcrítica, porém, apesar de trazerem benefícios ambientais, apresentam alto custo (XIE et al., 2018)

Durante a reação das fibras de celulose com ácidos fortes a parte amorfa da cadeia de celulose é quebrada e a parte cristalina permanece intacta e pode ser isolada em partículas na forma de bastão. Os ácidos mais comumente usados são  $H_2SO_4$ ,  $HCl$ , ácido oxálico,  $HBr$ ,  $H_3PO_4$  e  $HNO_3$  (KARGARZADEH et al., 2018).

Os ácidos atacam preferencialmente a parte amorfa da cadeia de celulose devido à habilidade de liberar no meio reacional íons  $H^+$ , que promovem a protonação dos átomos de oxigênio das ligações glicosídicas das moléculas, como essas ligações são mais fortes na parte cristalina devido ao alto grau de organização e a estrutura hierárquica das nanofibras unidas aos nanocristais, os íons não conseguem penetrar nessa parte da cadeia inicialmente (MENG et al., (2015).

No entanto, as condições da hidrólise ácida são essenciais para a eficiência na obtenção dos NCCs. Kargarzadeh et al. (2012) relataram que as características dos nanocristais dependem da fonte da qual foram extraídos e das condições da reação como temperatura, tempo e concentração do ácido. Esses mesmos autores verificaram que para condições de temperaturas mais baixas, é necessário um tempo maior de hidrólise para alcançar a eficiência esperada da reação.

Rosa et al. (2010) avaliaram o efeito do tempo na hidrólise ácida com  $H_2SO_4$  para extração de NCC da fibra de coco e verificaram que tempos de reação mais prolongados podem dissolver não somente a parte amorfa da cadeia de celulose, mas atacar também a parte cristalina, causando diminuição no grau de cristalinidade do material.

De acordo com Pereira et al. (2014) as condições reacionais e o tipo de ácido utilizados influenciam fortemente a morfologia e as dimensões dos NCCs. Eles relatam que o uso do ácido clorídrico implica uma limitada dispersão em solução aquosa, pois as partículas tendem a se agregar por meio da extensa possibilidade de ligações de hidrogênio.

O uso de ácido sulfúrico envolve a esterificação dos grupos hidroxila gerando a

adição grupos sulfatos (carga negativa) na superfície dos nanocristais de celulose, o que traz como benefício uma estabilização aniônica e previne a agregação dos NCCs, mas por outro lado, diminui a estabilidade térmica e pode causar a degradação do material (LU e HSIEH, 2010).

### 3.5 Lignina

De acordo com del Rio et al. (2015), a **lignina** é um heteropolímero aromático complexo, formado pelo acoplamento de três fitoquímicos principais: álcool p-cumarílico, álcool coniferílico e o álcool sinapílico. Estes fitoquímicos, chamados de monolignol se diferenciam entre si pelo **grau de metoxilação**, isto é, pela maior ou menor presença de grupos metoxilos na sua estrutura molecular. Os radicais metoxilos são do tipo éter que se formam pela união de um grupo metilo (CH<sub>3</sub>-) a um oxigênio (O) formando o radical **-O-CH<sub>3</sub>** através da reação de metoxilação. A Figura 3 apresenta as estruturas destes três “monômeros” precursores da lignina.

Na estrutura da lignina, estas unidades precursoras se interligam formando unidades estruturais superiores, dentre as quais, podem ser destacar três delas: a p-Hidroxifenila (H), a Siringila (S) e a Guaiacila (G). A interligação entre as estruturas precursoras se dá entre unidades idênticas, (da forma como se controle um homopolímero), desta forma, a ligação entre as estruturas do Álcool p-cumarílico origina a p-hidroxifenina, por outro lado, da interligação do álcool coniferílico origina a Guaiacila e por fim, a Siringila é formada pela junção das unidades do álcool sinapílico.

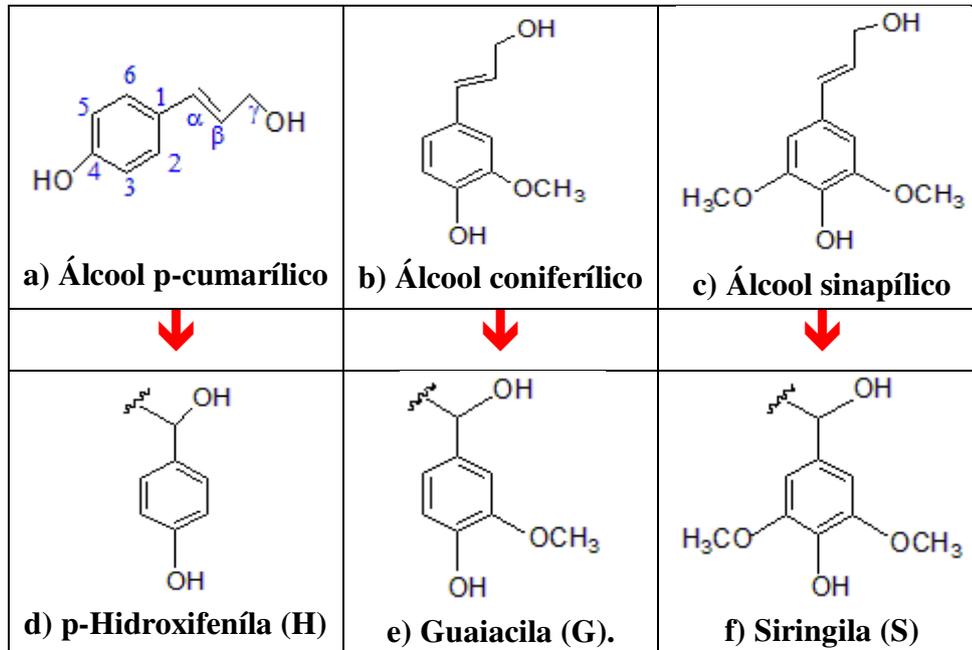
Na sequência, as unidades (H), (G) e (S) são interligadas por pelo menos sete tipos de ligações, nas quais predomina a denominada  $\beta$ -O-4'. A figura 4 apresenta duas unidades de Guaiacila interligadas pela ligação  $\beta$ -O-4'.

Sabe-se que a composição da lignina varia entre os tipos de plantas, e ainda, para uma mesma planta a composição muda nos diversos tecidos e camadas desta:

- Em madeiras duras (Eucalipto): a lignina é rica em estruturas Siringila (S), seguida de estruturas de Guaiacila (G);
- Em madeiras suaves ou brandas (coníferas): a lignina é rica em estruturas de Guaiacila (G) e em menor proporção de p-Hidroxifenila (H);

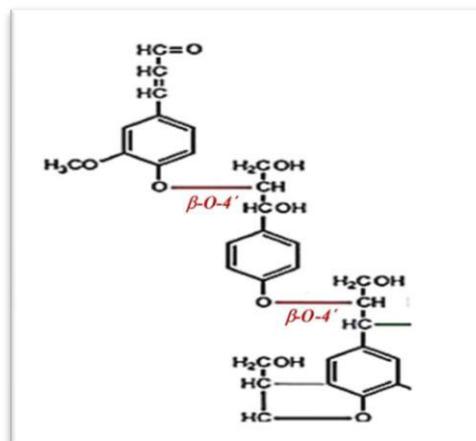
- Em gramíneas (Cana-de-açúcar, palhas): predominam as três unidades estruturais, sendo a p-Hidroxifenila (H) presente em menor proporção.

Figura 3- Fitoquímicos precursores a), b) e c) unidades estruturais e d), e) e f) constitutivas da lignina



Fonte: Próprio Autor

Figura 4- Arranjo das ligações  $\beta$ -O-4' na estrutura molecular da lignina

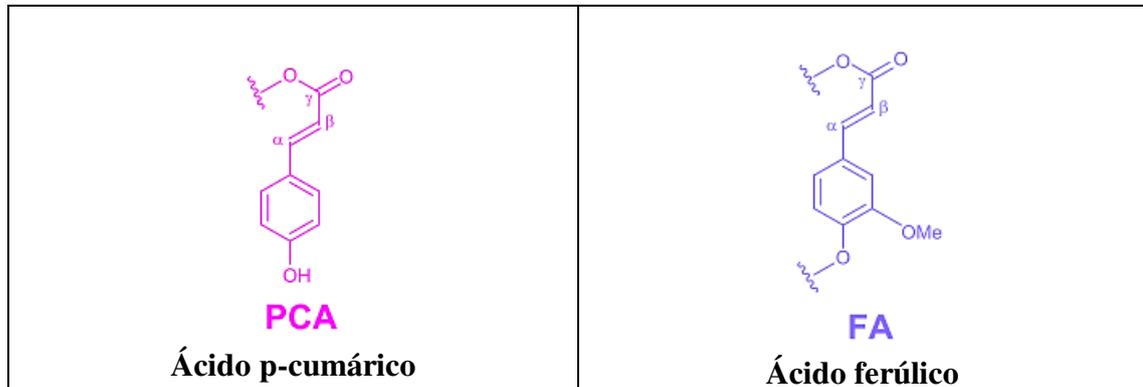


Fonte: Adaptado de Menezes (2018)

Menezes, 2016 e del Rio et. al (2015) também destaca a presença significativa de unidades dos ácidos hidroxicinâmicos, cujos principais representantes são os ácidos p-

cumárico (PCA) e o ferúlico (FA). Estes ácidos estão formados por um anel aromático, um grupo alifático e um ácido carboxílico no extremo. A Figura 5 apresenta a configuração estrutural destes dois tipos de ácidos

Figura 5- Estruturas dos ácidos p-cumárico e ferúlico presentes nas ligninas das gramíneas.



Fonte : Adaptado do del Rio et. al (2015)

Por ser resistente a degradação química e biológica, a presença da lignina pode dificultar o tratamento do material lignocelulósico. O isolamento da lignina pode ser feito de três maneiras de acordo com Saliba et al. (2001):

**a) como resíduo** - É o método de Klason, no qual pela hidrólise ácida, os polissacarídeos são removidos e a lignina é liberada como resíduo.

**b) como derivado** - Neste método, o vegetal, ao ser tratado com determinados reagentes, forma produtos solúveis que serão separados.

**c) como extrativo** - A lignina é obtida pela extração com solventes orgânicos a partir do vegetal finamente moído. Nesse método a estrutura da lignina natural é mais preservada.

De acordo com Quinelato (2016) no isolamento da lignina pela reação com hidróxido de sódio (NaOH) esse composto é obtido como um derivado e durante esse processo pode ocorrer a quebra nas ligações de éter entre as unidades de fenilpropano, formando grupos fenólicos responsáveis por sua solubilização.

### 3.6 Hemicelulose

A hemicelulose é o segundo polímero de maior abundância na terra e possui uma estrutura amorfa, formada por cadeias aleatoriamente distribuídas, composta por heteropolímeros formados por monossacarídeos com 5 ou 6 átomos de carbono; pentoses

(xilose, arabinose), hexoses (manose, glicose, galactose) e açúcares acetilados (ISIKGOR e BECER, 2015).

De acordo com Kumar e Wyman (2009), as hemiceluloses apresentam maior facilidade de quebra por hidrólise, pois não possuem a capacidade de ser agregar e são bastante solúveis em solução alcalina.

### **3.7 Extrativos**

Os extrativos presentes no material lignocelulósico consistem de alguns sais, açúcares e polissacarídeos (solúveis em água); ácidos ou ésteres graxos; álcoois de cadeia longa; ceras; resinas; esteroides; e outros compostos orgânicos (terpenóides, ácidos graxos, flavonóides, esteróides e outros aromáticos) que geralmente não possuem funções estruturais na parede celular, mas são responsáveis pelas características organolépticas como cor e cheiro, ou pela proteção da célula vegetal de ataques biológicos e são agrupados conforme sua estrutura química e polaridade (OLIVEIRA, 2014; PINO et al., 2007).

A presença desses componentes pode variar tanto quantitativamente quanto qualitativamente, com porcentagem na faixa de 2 – 5% em materiais provenientes da madeira, alcançando até 15 % em algumas espécies tropicais (ZHANG et al., 2007).

De acordo com Sun e Sun (2001) os extrativos orgânicos (ou lipofílicos) causam alguns problemas de deposição no processo de polpação e as ceras e os ésteres são difíceis de hidrolisar sob condições alcalinas. Segundo Meng et al. (2015) a remoção desses extrativos é uma etapa importante do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica para a extração de NCCs, visto que esses compostos impedem o contato da solução alcalina com as fibras de celulose e podem até reduzir a eficiência dos tratamentos químicos subsequentes.

No entanto, alguns metabólitos secundários, que podem estar presentes nos extrativos orgânicos, como os certos tipos de terpenos e flavonoides são compostos biologicamente ativos e atuam no combate ao colesterol ruim, doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (VIZZOTO, KROLOW e WEBER, 2010).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

A biomassa residual do processo de extração da polpa do açaí foi doada pelo comercial Puro Açaí localizado na cidade de São Luís-Ma. O fruto recebido para a comercialização passa por uma lavagem inicial para retirada da sujeira e desinfecção com uma solução diluída de hipoclorito de sódio, em seguida, o material é direcionado a máquina de despolpação, após esse processo é gerado um resíduo composto pelo caroço e pela fibra. Aproximadamente 3 Kg desse material residual foram previamente lavados para retirar o resíduo da polpa e em seguida foram armazenados na geladeira a uma temperatura de 15°C. A fibra foi separada do caroço manualmente para posterior tratamento. A Figura 6 mostra o processo de obtenção dessa biomassa.

Figura 6- Procedimento realizado para a obtenção da biomassa do fruto do açaí.



Fonte: Próprio Autor (2019)

### 4.2 Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Materiais e Engenharia de Processos (LaMEP) e no Laboratório de Processos do Departamento de Engenharia Química, ambos localizados na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), no campus do Bacanga, na cidade de São Luís-Ma.

### 4.3 Solventes e Reagentes

A relação e as características dos solventes e reagentes utilizados no pré-tratamento e na etapa de hidrólise estão dispostos no quadro 1.

Quadro 1: Relação dos solventes e reagentes utilizados

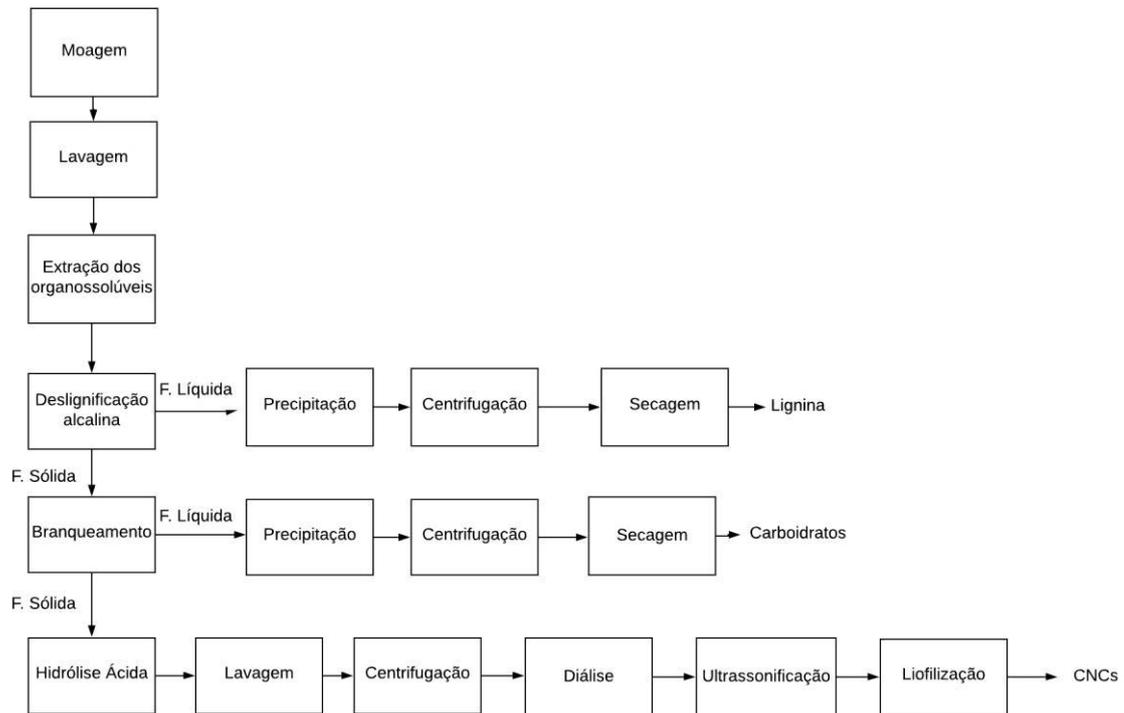
Solvente/Reagente	Marca	Especificações
Etanol P.A.	SCIAVICCO	95%
Ciclohexano P.A.	ISOFAR	99%
Hidróxido de Sódio (NaOH) P.A. (Micropérolas)	ISOFAR	99%
Hipoclorito de Sódio (NaOCl) P.A.	ISOFAR	4 - 6 %
Ácido Acético Glacial P.A.	SCIAVICCO	99,7%
Ácido Nítrico (HNO <sub>3</sub> ) P.A.	QUIMEX	65%
Ácido Sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ISOFAR	96 %
Ácido Clorídrico (HCl)	QUIMEX	37%

### 4.4 Métodos e procedimentos experimentais

O procedimento experimental realizado no tratamento da fibra do açaí para a extração dos componentes de interesse, lignina e NCCs, consistiu basicamente nas etapas de pré-tratamento, hidrólise ácida e purificação. No pré-tratamento foram realizadas as etapas de moagem, lavagem, extração dos componentes organossolúveis, deslignificação alcalina e branqueamento. A lignina obtida da deslignificação alcalina passou pelas etapas de precipitação, centrifugação e secagem. Já a fibra pré-tratada foi submetida à hidrólise ácida. Por fim, a purificação dos nanocristais envolveu as etapas de lavagem, centrifugação, diálise, ultrassonificação e liofilização. A Figura 7 mostra o fluxograma do processo.

A moagem do material lignocelulósico foi realizada primeiramente em um moinho de martelos (Marca TECNAL, modelo TE-330), onde 126 g de fibra foram alimentadas e trituradas durante 10 min, em seguida o material foi direcionado a um pulverizador a fim de se obter um tamanho mais uniforme e deixá-lo mais suscetível ao tratamento químico. A classificação granulométrica foi feita em um conjunto de peneiras vibratórias Tyler na ordem crescente de 35, 60, 120 e 270 mesh. O material foi dividido em três faixas granulométricas:  $35\mu m \leq \phi < 125\mu m$ ,  $125\mu m \leq \phi < 250\mu m$  e  $250\mu m \leq \phi < 500\mu m$ .

Figura 7- Fluxograma do processo de extração da lignina e dos CNCs da fibra de açaí.



Fonte: Próprio Autor (2019)

Em seguida, o material foi lavado com água destilada para retirar as impurezas presentes nas amostras. Para cada 5 g do material foram utilizados 800 mL de água. A lavagem foi feita em tanques encamisados com capacidade de 1L, com agitação mecânica constante, a 70°C, durante 2 h conforme (Pessoa et al., 2010). Após a lavagem, o material foi seco a 70° C em uma estufa até se obter massa constante.

A extração dos componentes organossolúveis foi realizada em um conjunto de Extratores Soxhlet da marca TECNAL durante cinco horas usando uma solução de ciclohexano/etanol (1:1), conforme a TAPPI 204 cm-97 (Pessoa et al., 2010).

Na etapa de deslignificação alcalina, uma quantidade conhecida de fibra foi dispersa em uma solução de NaOH 2% p/v na proporção de 1:7. Após a homogeneização, a mistura foi cozida em uma autoclave (marca Digitale, modelo SF 350) por dois ciclos de 127° C e 40 min cada (ROSA et al., 2010; JONOBI et al., 2009). Posteriormente, adicionou-se água destilada para parar a reação e evitar a degradação da fibra. A fibra foi separada da solução por sedimentação e lavada com água destilada até se obter o pH neutro. A lignina presente no sobrenadante foi precipitada pela adição de 1-2 mL de HCl 37% e separada da solução por centrifugação em uma macro centrífuga da marca Benfer . A lignina foi submetida à secagem

em uma estufa da marca LimaTec a 70°C por 24 h e quantificada por pesagem em uma balança analítica da EVEN.

A fibra resultante da deslignificação foi submetida a uma etapa de branqueamento para remoção de lignina, hemicelulose e carboidratos remanescentes. O material foi disperso em uma solução de NaOCl 1% p/v, contendo 8 gotas de ácido acético glacial, a uma proporção 1:30 g/mL de solução. A mistura foi agitada em intervalos regulares durante 1 hora a 70°C, a fibra foi filtrada e lavada com água destilada. Em seguida, realizou-se um tratamento com uma solução 0,05 N de ácido nítrico por 1 hora a 70°C. Por fim, a fibra foi lavada extensivamente com água destilada até o pH neutro ser obtido (ROSA et al., 2010). Para contabilizar os carboidratos remanescentes, o filtrado foi centrifugado e o precipitado obtido foi seco a 70°C por 24 h e pesado em uma balança analítica.

As fibras pré-tratadas foram submetidas à hidrólise ácida em uma solução 41% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCl (1:1) na proporção de 1:20 g/mL de solução (MENG et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2010). Os experimentos foram realizados em um sistema experimental composto por dois reatores encamisados, um banho maria (marca TECNAL, modelo TE-054) e dois agitadores mecânicos sob temperatura e pressão constantes. A figura 3 mostra o sistema experimental usado.

O material hidrolisado foi lavado e centrifugado repetidas vezes até obtenção de um pH em entre 5 e 6. Em seguida, a suspensão e o precipitado foram submetidos a uma diálise por 3 dias em membranas de celulose regenerada (12-14 Da) da marca INLAB (33 x 21 mm), a fim de retirar grupos sulfatos que não reagiram, sais e alguns açúcares solúveis (MENG et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2010). A suspensão final foi colocada em um banho ultrassom por 20 min para obter uma boa dispersão dos nanocristais. Por fim, a suspensão foi liofilizada em um liofilizador K105 da LIOTOP e os nanocristais foram contabilizados mediante pesagem com o auxílio de uma balança analítica.

Figura 8- Sistema experimental utilizado na reação de hidrólise ácida para extração de nanocristais de celulose.



Fonte: Próprio Autor (2019)

## 4.5 Técnicas de Caracterização

### 4.5.1 CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (CLAE)

A CLAE um tipo de cromatografia líquida que conta com um sistema composto por um reservatório de fase móvel, uma bomba, um medidor de pressão, uma válvula para amostragem, uma coluna, um detector e um registrador. As colunas empregadas nesse tipo de cromatografia contam com partículas de tamanho iguais ou menores que 10  $\mu\text{m}$ , o que confere a essa técnica alta resolução, pois a diminuição do tamanho da partícula diminui a profundidade dos poros e faz com que a amostra saia mais rapidamente (COLLINS, 2010).

Como a cromatografia é uma técnica de separação e não de identificação, geralmente ela vem acoplada a detectores que vão ajudar a caracterizar o composto separado. Os detectores por absorvância no ultravioleta e no visível (UV-Vis) usam o princípio de absorvância da luz por parte da amostra ao passar através dela qualquer radiação eletromagnética, em um dado comprimento de onda (COLLINS, 2010).

A energia característica de uma transição e o comprimento de onda da radiação absorvida são propriedades de grupos de átomos chamados de cromóforos, assim, se a substancia a ser identificada possuir um cromóforo será possível ter informações sobre quais grupos funcionais a constitui (PAVIA et al., 2010)

Para determinar as classes de compostos presentes nos extrativos orgânicos extraídos da fibra do açaí foi utilizado um equipamento de CLAE-DAD (marca Shimadzu, modelo L-20

AT) com uma coluna C18 (150 x 4,6 mm) com partículas de 4 µm de diâmetro e porosidade de 100 Å, acoplado a um detetor UV/Vis (marca Shimadzu, modelo- 20 Å). A fase móvel utilizada foi água/metanol com um método cromatográfico exploratório de 5 a 100% de metanol em 40 min e isocrático 100% de metanol de 40 a 50 min. O volume de injeção foi de 10 µL com concentração de 10 mg/ µL.

#### 4.5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV)

A Espectroscopia na Região do Infravermelho é um tipo de espectroscopia vibracional amplamente utilizada pela possibilidade de trabalhar com amostras em estado sólido amorfo ou cristalino, soluções aquosas, solventes orgânicos, filmes e membranas (FORATO, 2010). Essa técnica utiliza o princípio de absorção de energia, onde as moléculas são excitadas para atingir um estado de energia maior. A radiação na região do infravermelho corresponde à faixa que engloba frequências vibracionais de estiramento e dobramento de ligações químicas, assim, os padrões de absorção, ou espectro infravermelho, fornecem informações sobre os tipos de ligações e sobre a estrutura da molécula, permitindo identificar as moléculas presentes em um determinado composto (PAVIA et al., 2010).

Para analisar a composição da fibra in natura, da fibra após a deslignificação alcalina, da fibra após o branqueamento, bem como a lignina e os carboidratos obtidos no pré-tratamento utilizou-se um equipamento de infravermelho da marca Shimadzu, modelo IR-Prestige-2. As amostras foram preparadas com pastilhas de KBr e a análise ocorreu com uma resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e um range de varredura de 650 a 4000 cm<sup>-1</sup>.

#### 4.5.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) COM CORRELAÇÃO QUÂNTICA ÚNICA HETERONUCLEAR (*HSQC* <sup>13</sup>C – <sup>1</sup>H)- HSQC- RMN

Constitui uma das técnicas avançadas de espectroscopia, a qual permite verificar e estudar as estruturas presentes nas ligninas derivadas seja da madeira como das gramíneas. Através da técnica é possível identificar as correlações entre os núcleos envolvidos que estão distantes por uma ligação química. Desta forma, um experimento HSQC <sup>13</sup>C – <sup>1</sup>H indica a qual carbono está ligado cada um dos hidrogênios da molécula orgânica (Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear -IQ/UNICAMP, 2019). Por ser um experimento em duas

dimensões os sinais individuais (picos) de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  são cruzados, resultando em espectros de áreas (**2D-RMN**) que mostram as coordenadas  $\delta_{\text{C}}$  (no eixo y) e  $\delta_{\text{H}}$  (no eixo x) onde as vibrações atômicas foram detectadas. Esta combinação de sinais é chamada de **Correlações**.

Nas ligninas, os espectros 2D- RMN podem ser divididos em até três regiões:

- **Região alifática C-C** (com coordenadas  $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$  entre 5-50 e 0,5 – 3,0 respectivamente);
- **Região alifática oxigenada C-O** (com coordenadas  $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$  entre 50-95 e 2,75 – 6,0 respectivamente)
- **Região aromática** (com coordenadas  $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$  entre 95-145 e 6,0 – 8,5 respectivamente)

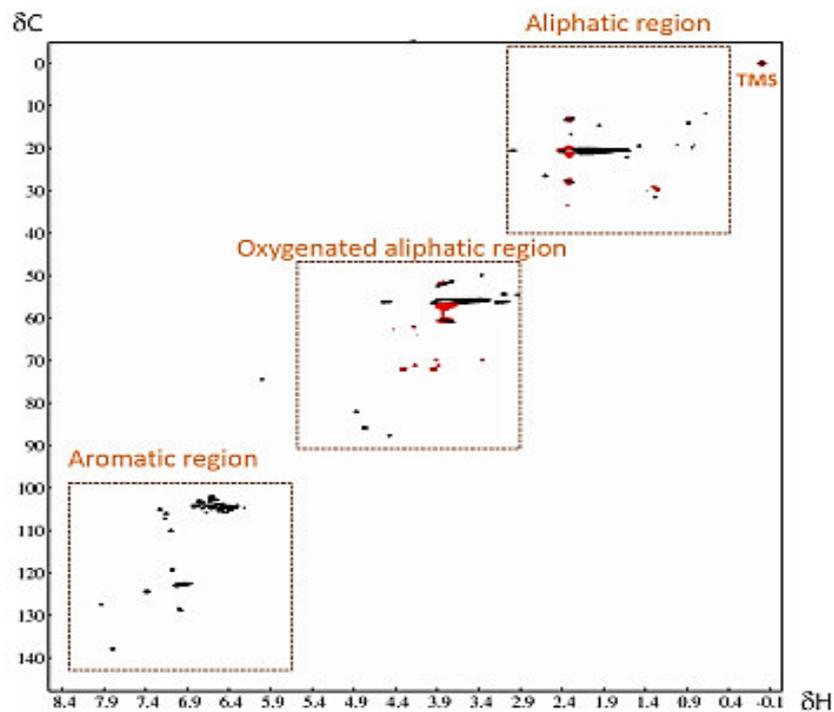
De acordo com Menezes et al. (2016) e del Rio et al. (2015), a região alifática oxigenada é a mais importante para as ligninas porque é onde são visualizados as principais ligações e estruturas como a  $\beta\text{-O-4}'$ ,  $\beta\text{-}\beta'$ ,  $\beta\text{-5}$  e  $\alpha\text{-O-4}'$ , assim com as subestruturas  $\beta\text{-O-4}'$ , grupo metoxilo, aquil-aril éter, fenilcumaran, tetrahydrofurano, resinol e carboidratos (se houver). Estas ligações e subestruturas estão associadas à presença das unidades poliméricas (S) e (G) principalmente. A Figura 9 apresenta um espectro 2D- RMN típico definido pela técnica HSQC- RMN para uma lignina proveniente de madeira (IBARRA et al. 2007), nela pode ser observado, na região alifática a presença da correlação acetila (correlação  $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$  20/1,9) grupos metoxilos na região alifática oxigenada (correlação  $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$  55,6/3,73) e unidades de Siringila (correlação  $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$  103,8/6,69).

Os ensaios espectros 2D- RMN foram gerados seguindo o protocolo do Laboratório Nacional de Biociências (LNBio) do Centro Nacional de Pesquisas em Energia e Materiais (CNPEM) (Menezes et al. 2016). A lignina foi dissolvida em DMSO-deuterado até uma concentração de 50 mg/mL e depois, um volume de 0,6 mL foi depositado no tubo para RMN de 5 mm do equipamento Agilent DD2 MHz com sonda de ressonância tripla e z-gradiente inverso. As condições técnicas para a geração dos espectros seguiram o protocolo a seguir:

- Foi selecionado o programa *HSQC adiabatic pulse program* (gHSQCad) para a geração dos mapas de contorno, com amplitude espectral de 800 Hz (0 – 16 ppm) e 25000 Hz (0 – 200 ppm) para as dimensões  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  respectivamente;
- O software NMRPipe foi usado para processar os dados do *2D HSQC*;

- Previamente à transformação de Fourier, os dados em 2D foram zerados para obter a matriz de  $4K \times 1 K$  pontos;
- Foi aplicada uma correção da linha base polinomial
- Finalmente, os sinais cruzados e as correlações resultantes foram assignadas por comparação com a literatura, usando os trabalhos de Ralph et al. (2004) e del Rio et al. (2015) para correlações registradas em ligninas provenientes da madeira, do bagaço de cana-de-açúcar e da palha de cana-de-açúcar

Figura 9- Espectro 2D- RMN definido pela técnica HSQC- RMN para uma lignina proveniente de madeira



Fonte: Ibarra et al. (2007)

#### 4.5.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Ao incidir um feixe de raios X em um cristal, o mesmo interage com os átomos presentes, originando o fenômeno de difração. A difração de raios X ocorre segundo a Lei de Bragg (Equação 1), a qual estabelece a relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram, característicos para cada fase cristalina (SILVA et al., 2011).

$$n\lambda = 2d \sin\theta \quad (1)$$

n: número inteiro

$\lambda$ : comprimento de onda dos raios X incidentes

d: distância interplanar

$\theta$ : ângulo de difração

A análise de difração de raios X foi realizada em um difratômetro da marca Bruker, modelo D8 ADVANCE, operando a 45 kV. Os dados foram adquiridos com uma variação do ângulo  $2\theta$  de  $5^\circ$  a  $40^\circ$ .

#### 4.6 Análise estatística

Um planejamento experimental composto de ponto central do tipo  $2^3 + 1$  ponto central foi feito através do software STATISTICA. As variáveis avaliadas foram a temperatura, o tempo de hidrólise e o tamanho da fibra. Na Tabela 1 o sinal de (+) indica o nível máximo da variável, o sinal de (-) representa o nível mínimo e o (0) refere-se ao ponto central. Assim, a temperatura variou de 45 a  $85^\circ\text{C}$ , com ponto central em  $65^\circ\text{C}$ , o tempo variou de 60 a 120 min, sendo 90 min a condição do ponto central e o tamanho da fibra foi avaliado em um nível máximo para a faixa de 250-500  $\mu\text{m}$ , nível mínimo na faixa de 35-125  $\mu\text{m}$  e o ponto central na faixa de 125-250  $\mu\text{m}$ . As condições de temperatura e tempo do experimento 2 foram as melhores condições de extração obtidas por Rosa et al. (2010), por isso foram repetidas com o objetivo de avaliar a influência da granulometria da fibra.

Tabela 1- Planejamento fatorial tipo  $2^3 + 1$  ponto central para a hidrólise ácida da fibra do açaí.

Experimento	Temperatura ( $^\circ\text{C}$ )	Tempo (min)	Tamanho da fibra ( $\mu\text{m}$ )
1	(-) 45	(-) 60	(+) 250-500
2a	(-) 45	(+) 120	(-) 35-125
2b	(-) 45	(+) 120	( 0 ) 125-250
2c	(-) 45	(+) 120	(+) 250-500
3	(+) 85	(-) 60	(-) 35-125
4	(+) 85	(+) 120	(+) 250-500
5	( 0 ) 65	( 0 ) 90	( 0 ) 125-250

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação da porcentagem de fibra na biomassa residual da despolpação do fruto de açaí foi feita através de um teste onde a massa de fibra retirada de cada 100 g do material foi contabilizada com o auxílio de uma balança analítica. Foram feitas cinco medidas e verificou-se que a porcentagem média de fibra lignocelulósica presente no caroço foi 4,3%. Os resultados do pré-tratamento e da hidrólise ácida desse material serão discutidos nos tópicos a seguir.

### 5.1 Extração dos componentes organossolúveis

A extração dos componentes organossolúveis indicou a presença de extrativos de cor amarelada como mostra a Figura 10. Para determinar a porcentagem desses componentes na massa tratada seguiu-se o procedimento da norma TAPPI T-204 cm-97. Esse método é capaz de extrair carboidratos de baixo peso molecular, sais, polifenóis, ceras e hidrocarbonetos não voláteis.

Figura 10- Extração dos extrativos orgânicos no extrator SOXHLET com uma mistura etanol/ciclohexano (1:1).



Fonte: Próprio Autor

Os testes com amostras de aproximadamente 5 g foram realizados em triplicata com as três faixas granulométricas como mostra a Tabela 2.

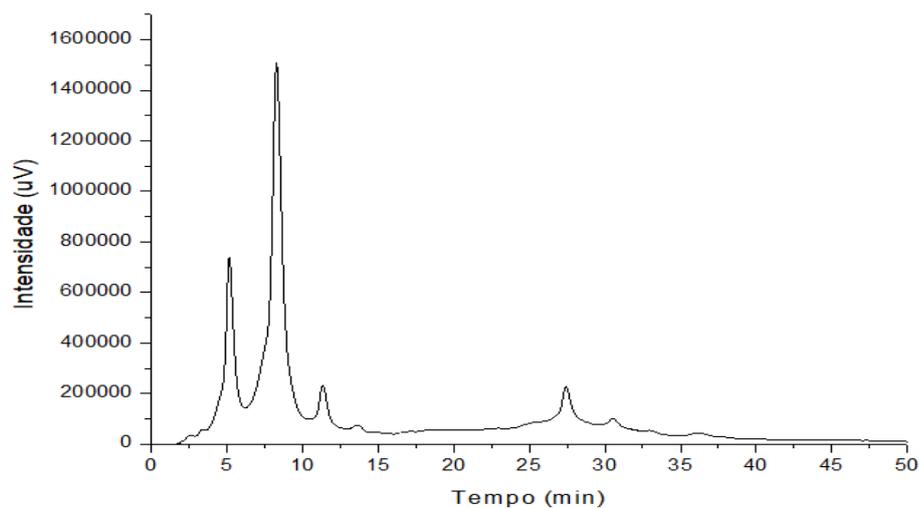
Tabela 2- Porcentagem média de extrativos orgânicos de diferentes faixas granulométricas

<b>Faixa Granulométrica</b>	<b>Porcentagem média de extrativos (%)</b>	<b>Desvio padrão</b>
250-500 $\mu\text{m}$	1,34	$\pm 0,12$
125- 250 $\mu\text{m}$	1,36	$\pm 0,07$
35-125 $\mu\text{m}$	1,95	$\pm 0,17$

Os valores de porcentagem média obtidos na triplicata apresentaram desvio padrão baixo e estão próximos da porcentagem de extrativos orgânicos extraídos da fibra de açaí reportado por Pessoa et al. (2010) que foi de 1 %. É possível observar uma tendência de aumento na quantidade de extrativos obtidos com a diminuição do comprimento da fibra. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que a redução do tamanho da fibra causa um aumento da superfície de contato do material com a mistura de solventes utilizados na extração, aumentando a eficiência do processo.

O cromatograma mostrado na Figura 11 obtido pela técnica de CLAE revela a presença de três compostos de alta polaridade que saíram entre 2 e 12 min de corrida e três compostos de média polaridade com tempo de eluição entre 25 e 40 min.

Figura 11- Cromatograma dos extrativos orgânicos da fibra do açaí com detecção UV/Vis, fase móvel água/metanol com gradiente de 5 a 100 % de metanol em 40 min e 100% de metanol de 40 a 50 min.



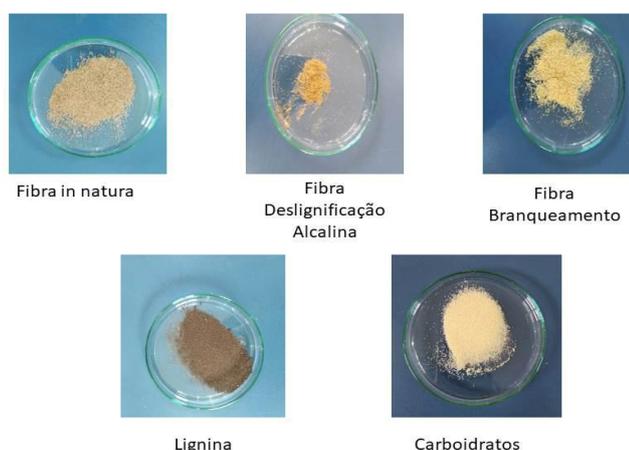
Fonte: Próprio Autor

## 5.2 Avaliação do Pré-tratamento: Deslignificação Alcalina e Branqueamento

A fibra de açaí foi pré-tratada com o objetivo de retirar a lignina e a hemicelulose, pois esses componentes estruturais da fibra lignocelulósica podem dificultar o ataque ácido e reduzir a eficiência da hidrólise. A Figura 12 mostra o aspecto do material após as etapas de deslignificação alcalina e de branqueamento, bem como os subprodutos gerados nessas etapas.

Foi possível observar um clareamento significativo da fibra durante as etapas do pré-tratamento, esse aspecto pode ser um indicativo de que aconteceu a remoção da lignina, pois esse componente possui como característica a coloração marrom. Verificou-se que a maior parte da lignina foi retirada na deslignificação alcalina com solução 2% de NaOH para o tratamento de 1,5 g de fibra, enquanto na etapa do branqueamento foi obtido um resíduo branco. Porém, percebeu-se que ao aumentar a quantidade de material tratado, mantendo a mesma proporção de 1:30 g/mL de solução, foi possível retirar parte da lignina remanescente do tratamento alcalino no branqueamento, o que leva a constatar que a etapa do branqueamento é de grande importância no tratamento da fibra lignocelulósica do açaí, tanto para a obtenção de lignina quanto para a extração de nanocristais de celulose, pois de acordo com o que foi reportado por Rosa et al. (2010) a remoção da lignina deixa as microfibras de celulose mais expostas ao ataque ácido.

Figura 12- Aspecto da fibra de açaí após cada etapa do pré-tratamento, lignina retirada na deslignificação alcalina e carboidratos retirados no branqueamento.



Fonte: Próprio Autor

Com o objetivo de quantificar a lignina insolúvel presente na fibra do açaí, a deslignificação alcalina foi realizada com amostras de 1,5 g de fibras provenientes da extração no SOXHLET em triplicata para as três faixas granulométricas obtidas. O resultado está disposto na Tabela 3.

Tabela 3- Quantidade de lignina insolúvel em meio ácido na fibra de açaí de acordo com as faixas granulométricas estudadas.

<b>Faixa Granulométrica (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Massa média de lignina (g)</b>	<b>Desvio</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
250-500	0.3305	$\pm 0,030$	22.03
125-250	0.2725	$\pm 0,087$	18.17
35-125	0.2694	$\pm 0,018$	17.96

Os resultados mostram que a porcentagem de lignina insolúvel variou entre 17 e 22%, com maior valor de desvio para a amostra de 125- 250  $\mu\text{m}$ . Mesquita (2013) reportou uma porcentagem de 30,35% de lignina Kraft insolúvel e Martins et al. (2008) encontrou 33% de lignina para a fibra do acai (*Euterpe Olerácea*).

A diferença dos valores obtidos neste trabalho com relação àqueles reportados na literatura pode estar relacionada com o método de extração usado, pois neste estudo a lignina foi gerada como um derivado do processo de extração dos nanocristais de celulose e não como um resíduo da hidrólise ácida. Não foi verificada a influencia da diminuição da granulometria na eficiência da extração.

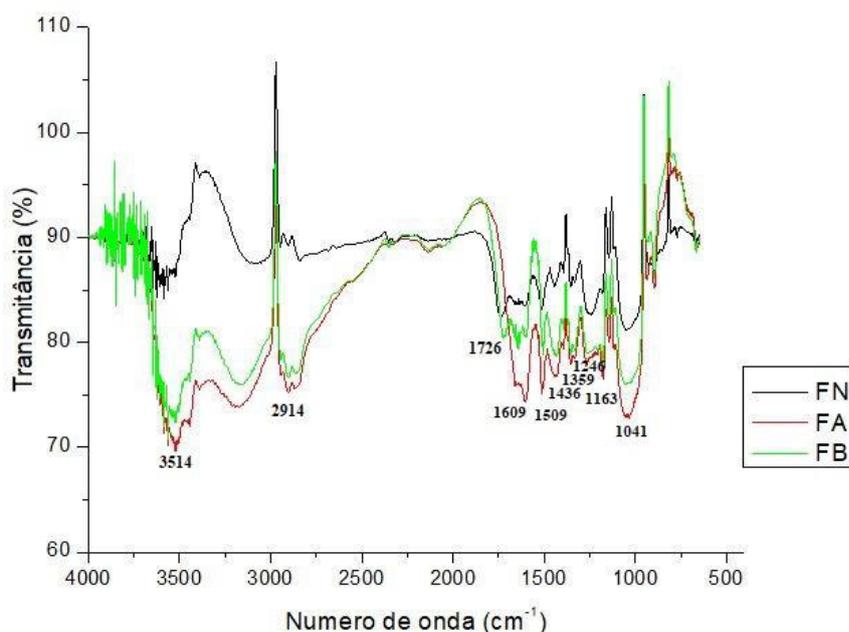
Para confirmar a eficácia do tratamento alcalino e do branqueamento na remoção da lignina e de outros componentes estruturais como hemicelulose e carboidratos de menor peso molecular foram feitas análises de espectroscopia na região do infravermelho. A Figura 13 mostra o espectro obtido.

O espectro de infravermelho mostra a presença bandas largas próximas a  $3500\text{ cm}^{-1}$  correspondentes ao estiramento da ligação C-O presente na cadeia de celulose, apresentando maior intensidade para as fibras provenientes do tratamento alcalino e do branqueamento, e bandas na região de  $2900\text{ cm}^{-1}$  correspondentes ao estiramento C-H que pode indicar a presença de grupos alifáticos de metila ( $\text{CH}_3$ ) e metileno ( $\text{CH}_2$ ) (MERLINI, et al., 2012).

Bandas de absorção também são observadas na região de  $1726 - 1647\text{ cm}^{-1}$  que correspondem ao estiramento da ligação C=O característico de grupos acetila da hemicelulose e da ligação éster do grupo carboxila dos ácidos ferulico e p-cumarico da lignina (JONOBI

et al., 2009; ALEMDAR e SAIN, 2008). No entanto, a intensidade desses picos é menos pronunciada para a fibra do branqueamento e não está presente na fibra proveniente do tratamento alcalino.

Figura 13- Espectro de infravermelho da fibra de açaí in natura (FN), após o tratamento alcalino (FA) e após o branqueamento (FB)



Fonte: Próprio Autor (2019)

Em seguida, aparecem as bandas na região de  $1609\text{ cm}^{-1}$  e  $1509\text{ cm}^{-1}$  que representam a vibração da ligação C=C do anel aromático característico da lignina (ROSA et al., 2010). A intensidade dessa banda é maior para a fibra do tratamento alcalino do que para a fibra proveniente do branqueamento, sendo um indício de que houve a remoção desse componente após a etapa do branqueamento.

As bandas de absorção na região de  $1431\text{ cm}^{-1}$  e  $1363\text{ cm}^{-1}$  correspondem à deformação da ligação C-H presentes na celulose e na lignina (ROSA et al., 2010).

A absorbância na região de  $1380\text{--}1320\text{ cm}^{-1}$  esta relacionada às vibrações de dobramento dos grupos C-H e C-O do anel aromático dos polissacarídeos (JONOBI et al., 2009)

As bandas na região  $1242\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$  estão associados ao estiramento do grupo arila presente na lignina (MENG et al., 2015), enquanto a banda dos picos  $1160$  e  $1128\text{ cm}^{-1}$  indicaria um C-O-C alongamento assimétrico em celulose e hemicelulose (OLIVEIRA, 2014).

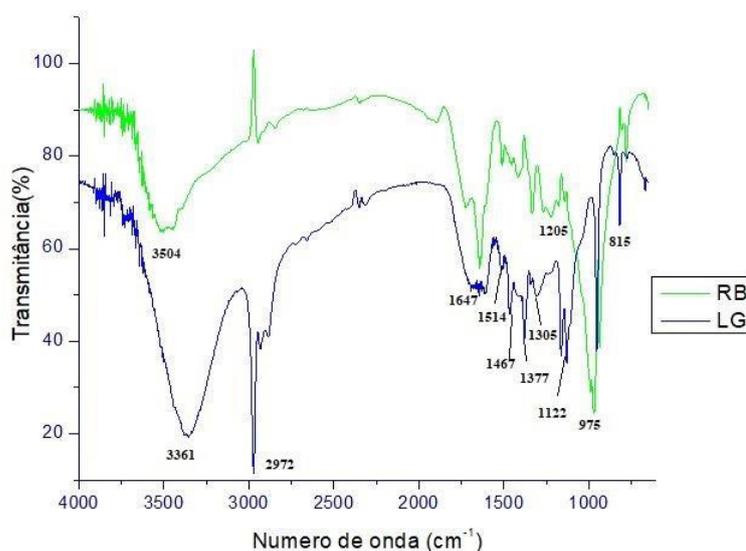
A banda próxima a  $1040\text{ cm}^{-1}$  indicam as vibrações de estiramento C-O-C típicos dos materiais celulose, hemicelulose e da lignina (GEHLEN, 2014).

Dessa forma, é possível confirmar a presença dos componentes estruturais da celulose, hemicelulose, lignina e polissacarídeos na fibra de açaí. Ao comparar os espectros da fibra após o tratamento alcalino (FA) e após o branqueamento (FB) observa-se uma redução na intensidade das bandas características da hemicelulose e da lignina, assim é possível inferir que houve realmente a remoção desses componentes em decorrência dos tratamentos realizados, o que está de acordo com o aspecto visual verificado na Figura 2.

No entanto, o espectro da fibra in natura (FN) mostrou menor intensidade nas bandas de absorção desses componentes, o que pode ser justificado pela sobreposição dos sinais, que gera interferência e dificulta a detecção do equipamento.

Também foram gerados os espectros de IV para os materiais retirados no tratamento alcalino e no branqueamento conforme mostra a Figura 14.

Figura 14- Espectro da lignina (LG) obtida após o tratamento alcalino e do resíduo do branqueamento (RB)



Fonte: Próprio Autor (2019)

Para a análise do espectro da lignina, obtida da fibra do açaí pelo tratamento alcalino com NaOH foi tomada como referência as informações obtidas dos espectros da lignina do bagaço da cana-de-açúcar extraída com NaOH por Quinelato (2016). Também, das ligninas resultantes da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar por Menezes (2018) e da lignina da fibra de sisal extraídas pelo método acidólise por Dirceu (2006).

É possível observar uma banda de absorção larga próxima a  $3400\text{ cm}^{-1}$  referente às vibrações de estiramento ou deformação axial do grupo O-H das ligações de hidrogênio intra e intermolecular no espectro da lignina e do resíduo do branqueamento, porém essa banda de absorção é mais intensa e larga no espectro da lignina.

Na região de  $2900\text{ cm}^{-1}$  é registrada a vibração C-H do grupo metoxilo característico da lignina, no entanto esse pico não está presente no espectro do resíduo do branqueamento.

Em seguida, aparecem as bandas na região entre  $1700$  e  $1647\text{ cm}^{-1}$  que é atribuída à deformação axial do C=O das cetonas não conjugadas presentes tanto na lignina devido à presença do grupo carboxila dos ácidos ferúlico e p-cumárico, quanto na hemicelulose.

As bandas de absorção na região próxima a  $1500\text{ cm}^{-1}$  representam as vibrações do esqueleto aromático da lignina influenciada por estiramento C=O. Já a banda de absorção na região de  $1467\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à deformação assimétrica do grupo C-H do grupo metoxilo.

Na região próxima a  $1370\text{ cm}^{-1}$  aparecem as bandas referentes à deformação angular do grupo C-H presentes na celulose, na hemicelulose e na lignina.

A banda de absorção em torno de  $1200\text{ cm}^{-1}$  se encontra a vibração O-H e por volta de  $1100\text{ cm}^{-1}$  obtém-se a vibração C-O-C devido à deformação assimétrica deste grupo na celulose.

O espectro do resíduo do branqueamento apresenta uma banda de absorção larga na região de  $975\text{ cm}^{-1}$  o que segundo Meng et al. (2015) é atribuído as ligações glicosídicas que são simétricas nos polissacarídeos, e representam as ligações entre as unidades de glucose na celulose. Esse pico aparece bem menos pronunciado no espectro da lignina.

Por fim, em  $1030\text{ cm}^{-1}$ , e  $830\text{ cm}^{-1}$  são as bandas dos grupos C-H e C-O alifáticos em éteres e do C-H fora do plano das unidades de p-hidroxifenila, respectivamente.

Assim, é possível inferir que o espectro do material retirado no tratamento alcalino apresenta a maioria das bandas correspondentes à lignina e que algumas diferenças significativas no espectro do resíduo do branqueamento levam a concluir que o material pode ser constituído em sua maioria por polissacarídeos e celulose, pois algumas bandas características da lignina não estão presentes ou aparecem com menor intensidade. No entanto, se mostra necessária uma análise mais rigorosa do material mediante o uso de técnicas mais sensíveis como o RMN.

### 5.3 Caracterização da lignina por RMN 2D

A Figura 15 apresenta o espectro completo (com as regiões alifática, alifática oxigenada e aromática) da lignina gerada da fibra do caroço do açaí. O espectro demonstra a presença de estruturas significativas nas três regiões espectrais da lignina. As setas, em verde, identificam as áreas de alta significância resultantes do cruzamento dos sinais (áreas positivas).

Como era o esperado, as regiões aromática e alifática oxigenada evidenciaram um maior número de estruturas. Um agrupamento menor de unidades estruturais também são presentes na região alifática (entre  $\delta_C/\delta_H$  10 - 30/0,5 a 1,0), no entanto, não puderam ser atribuídas a nenhum grupo previamente identificado nas referências bibliográficas consultadas. De acordo com Menezes et al. (2016) nesta região é possível identificar, nas ligninas derivadas do bagaço de cana-de-açúcar brasileiro, uma correlação na altura de  $\delta_H = 1,25$  ppm, correspondente a subestruturas que contém carbonos alifáticos saturados na cadeia lateral do tipo  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ . Estas subestruturas não foram evidentes na amostra de lignina da fibra de açaí em estudo, devido à baixa extensão delas e ao limite de detecção do equipamento.

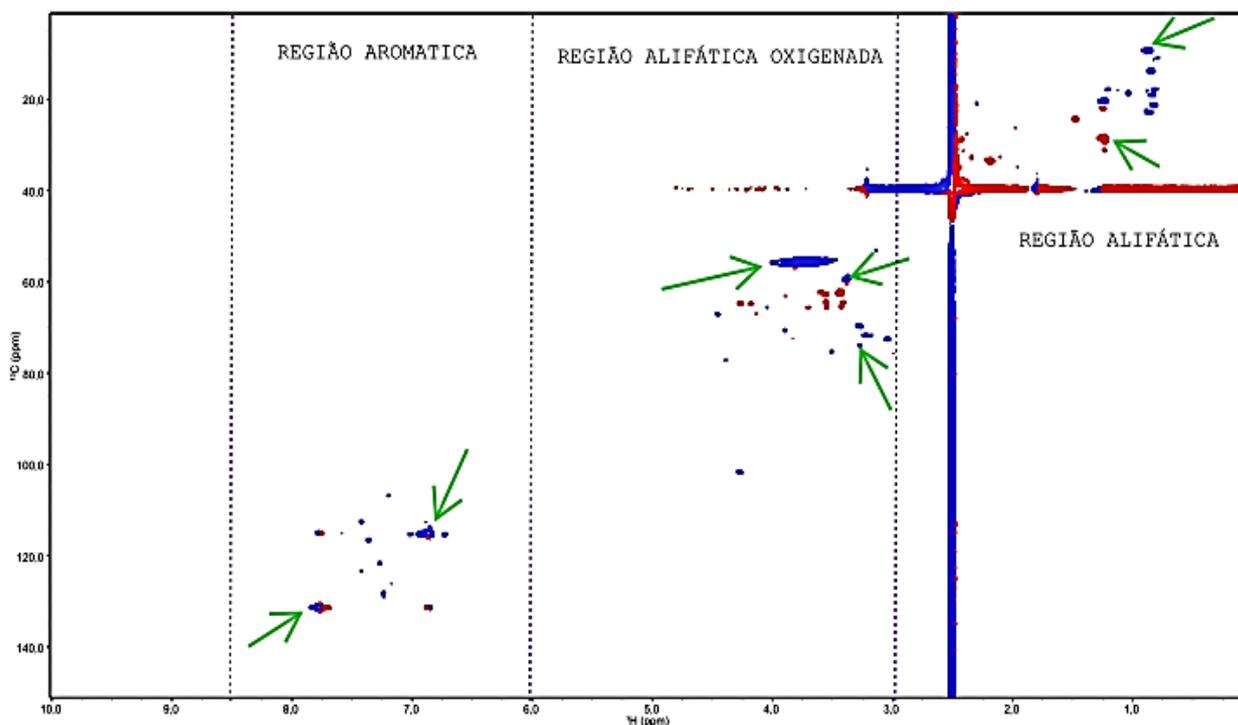
As Figuras 16 e 17 apresentam de forma ampliada das regiões alifática, oxigenada e aromática respectivamente. Na região alifática oxigenada pode-se distinguir a forte presença do grupo metoxila (correlação  $\delta_C/\delta_H$  59,82/3,75), que como registrado previamente, este grupo faz parte das estruturas dos álcoois coniferílico e sinapílico, (precursores da Guaiacila (G) e da Seringila (S) respectivamente) e também, do ácido ferúlico (FA). Adicionalmente, as coordenadas  $\delta_C/\delta_H$  (59,33/3,37) e  $\delta_C/\delta_H$  (74,09/3,27) registraram respectivamente a presença de ligações  $\beta\text{-O-4}'$  e correlações  $X_3$ . As ligações  $X_3$  correspondem a sinais de carboidratos provenientes do xilano, já as ligações  $\beta\text{-O-4}'$  são características da interligação entre estruturas de Guaiacila e Seringila. Embora unidades de Guaiacila e de Seringila não foram detectadas, a presença do grupo metoxila sugere a presença delas, mas em um estado de agregação menor, não existindo uma forte ligação entre elas. Isto também sugere que a lignina formada tenha também um baixo peso molecular, ou qual implicaria em um menor poder recalcitrante (menor rigidez da fibra e menor resistência mecânica) da lignina na fibra do caroço de açaí. Estudos complementares usando a Cromatografia de Permeação em Gel GPC e a Py-GC/MS (Pirólise acoplado à Cromatografia gasosa e espectrometria de massas) para

determinar o peso molecular e quantificar em massa cada uma destas unidades respectivamente permitirão reafirmar esta teoria.

Na região aromática pôde ser identificada a presença de unidades do ácido p-cumárico, tanto na correlação PCA2,6 como PCA3,5, (coordenadas  $\delta_C/\delta_H$  115,21/6,9 e  $\delta_C/\delta_H$  131,47/7,77 respectivamente) e ainda a presença do álcool cinamílico acilado na coordenada  $\delta_C/\delta_H$  131,49/6,85. A presença do ácido p-cumárico já tinha sido registrada na análise de infravermelho, onde o pico na região de 1700-1647  $\text{cm}^{-1}$  confirmou a presença do grupo funcional desse ácido.

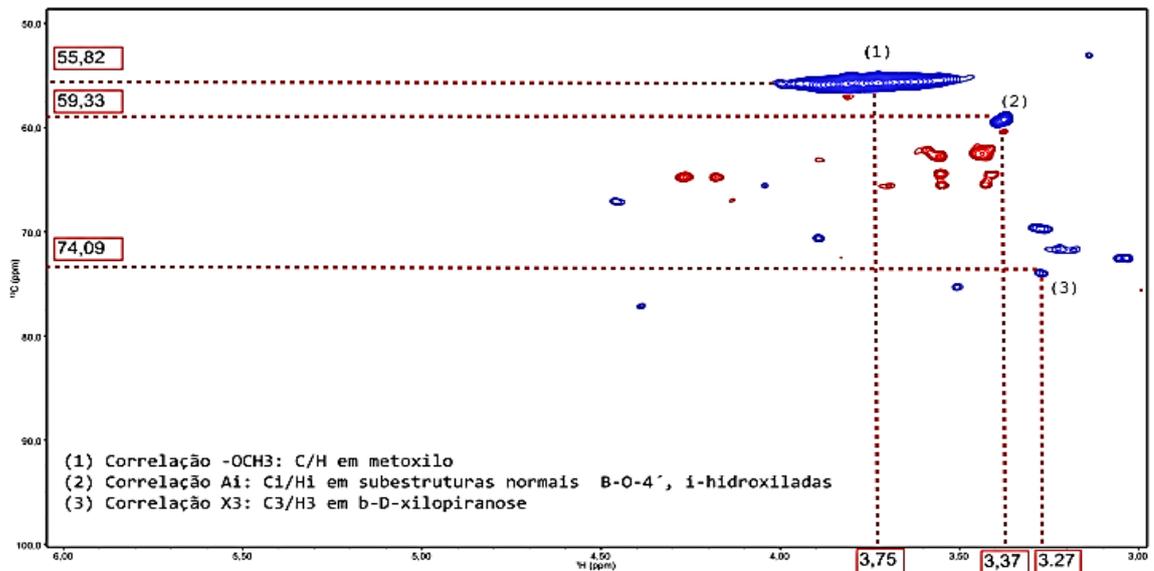
O ácido p-cumárico é um hidroxilo derivado do ácido cinamílico. Este se encontra abundantemente em gramíneas e plantas comestíveis e suas propriedades como antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobial têm sido reportadas. del Rio (2015) confirmou uma forte presença deste ácido nos espectros 2D-RMN HMBC das ligninas tanto do bagaço de cana-de-açúcar como da palha da mesma planta.

Figura 15- Espectro 2D- RMN completo gerado pela técnica HSQC- RMN para a lignina obtida da fibra do caroço de açaí. Em verde, as setas identificando as unidades estruturais com sinais positivos (áreas positivas).



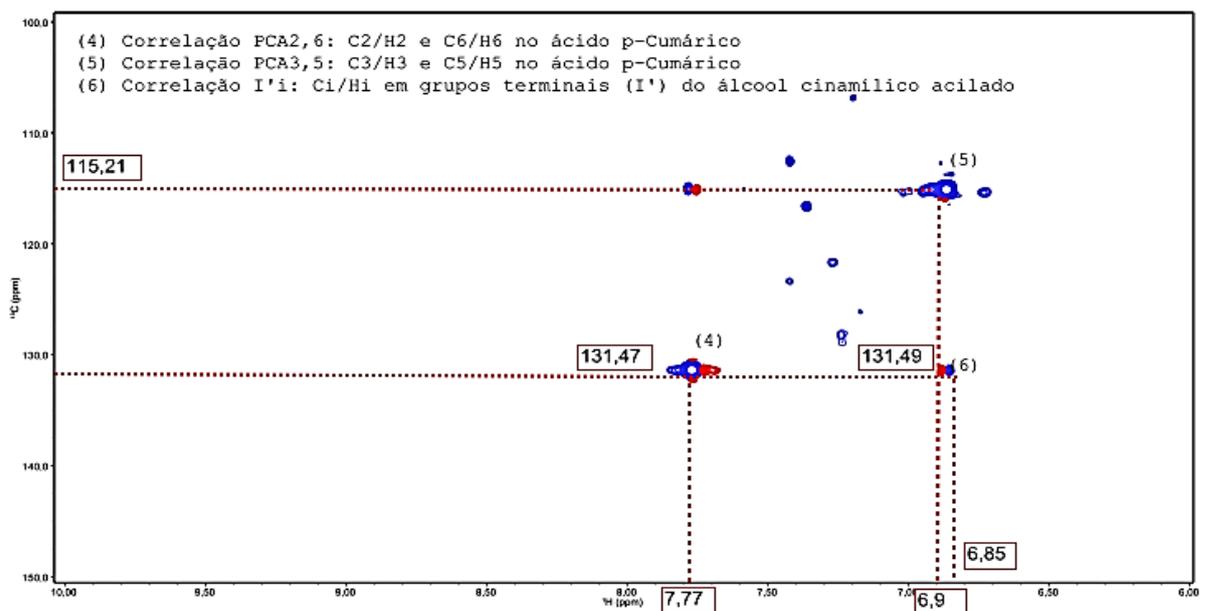
Fonte: Próprio Autor (2019)

Figura 16- Espectro 2D- RMN ampliado da região alifática oxigenada gerado pela técnica HSQC- RMN para a lignina obtida da fibra do caroço de açaí. (1) C/H em metoxilo; (2) Correlação  $A\gamma$ :  $C\gamma/H\gamma$  em subestruturas normais  $\beta$ -O-4',  $\gamma$ -hidroxiladas; (3) correlação X3:  $C_3/H_3$  em  $\beta$ -D-xilopirranose.



Fonte: Próprio Autor (2019)

Figura 17. Espectro 2D- RMN ampliado da região aromática gerado pela técnica HSQC- RMN para a lignina obtida da fibra do caroço de açaí. (4) PCA2,6:  $C_2/H_2$  e  $C_6/H_6$  no ácido p-Cumárico; (5) PCA3,5:  $C_3/H_3$  e  $C_5/H_5$  no ácido p-Cumárico; (6) Correlação  $I'\alpha$ :  $C\alpha/H\alpha$  grupos terminais ( $I'$ ) e  $\gamma$ -álcool cinamílico acilado



Fonte: Próprio Autor (2019)

Da análise comparativa, considerando os espectros das ligninas do bagaço de cana-de-açúcar e da palha da cana-de-açúcar (del Rio, 2015) pode-se afirmar que os espectros obtidos para a lignina da fibra do caroço do açaí tem uma composição particular que não segue a tendências de nenhuma das duas referências tomadas, visto que, por um lado a lignina do bagaço de cana-de-açúcar é rica em unidades de Siringila (S) e por outro lado, a lignina da palha é rica em unidades de Guaiacila (G). A lignina em estudo resultou rica nas subestruturas precursoras destas unidades (com forte presença do radical metoxilo, ácido p-cumárico e algumas ligações  $\beta$ -O-4').

Nesta pesquisa, a natureza da fibra do caroço do açaí foi assumida como de uma gramínea, desta forma, os espectros 2D- RMN da lignina do bagaço de cana-de-açúcar e da palha da mesma planta, amplamente estudados e registrados foram tomados de referência por serem da mesma família, no entanto, sabe-se que termos composicionais, a lignina em estudo é mais próxima da fibra do coco.

A forte detecção do grupo metoxilo sugere que devem existir unidades de Guaiacila (G) e de Siringila (S) formadas, pois os radicais metoxilo estão ligados a estas unidades (como registrado na Figura 3). O que pode ser afirmado com estes resultados preliminares é que existe uma baixa extensão (ou ligação/ agregação) destas unidades na lignina o que dificulta a detecção pelo equipamento. Adicionalmente, a baixa extensão destas unidades sugere que o tratamento desta lignina para a produção de *commodity chemicals*, como o ácido p-cumárico e éteres seja fácil e barato.

#### 5.4 Obtenção dos nanocristais de celulose (NCCs)

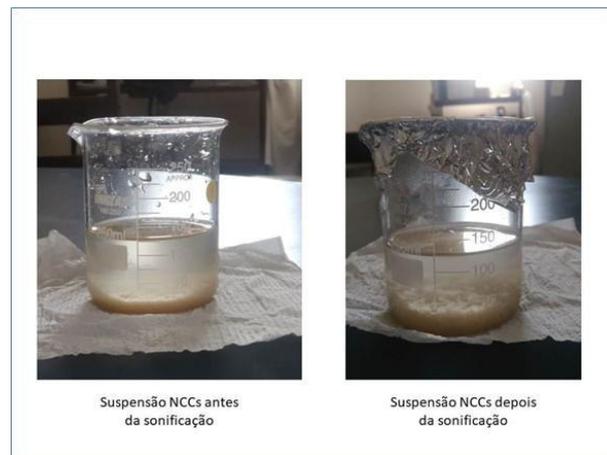
Os NCCs foram obtidos pelo método de hidrólise ácida utilizando uma mistura 33% (1:1) de HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. A Figura 18 mostra a suspensão final após a etapa de sonificação no banho ultrassom.

A suspensão mostrou uma boa dispersão em meio aquoso o que pode ser explicado pela presença dos íons sulfato na superfície dos cristais, que criam uma carga negativa e geram uma repulsão eletrostática, evitando a agregação gerada pela característica hidrofílica dos nanocristais (TEXEIRA et al., 2010).

Segundo Meng et al. (2015) o tratamento no banho de ultrassom gera o rompimento das ligações de hidrogênio mais fracas no sólidos agregados de NCCs e aumenta a dispersão na suspensão. Esse efeito foi mais pronunciado nas microfibras de celulose presentes no precipitado, como pode ser observado na Figura 9, enquanto que não houve uma alteração

significativa na turbidez da suspensão de NCCs que indicasse o espalhamento dessas partículas. Seria necessário realizar a análise do potencial Zeta para estimar a presença de cargas superficiais e confirmar o aumento da dispersão.

Figura 18- Suspensão final NCCs obtida da hidrólise ácida da fibra de açaí com HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1), a 45°C durante 120 min, antes e depois da sonificação.



Fonte: Próprio Autor (2019)

Para obter os nanocristais em estado sólido para posterior caracterização e quantificação as suspensões foram liofilizadas. Ao final do processo foi obtido um sólido branco, extremamente leve e com alta capacidade de agregação, conforme a Figura 19.

Figura 19- Nanocristais de celulose obtidos pela hidrólise ácida da fibra do açaí com HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1), a 45°C durante 120 min, após a liofilização.



Fonte: Próprio Autor (2019)

Foi avaliado o rendimento da extração dos NCCs e das microfibras de celulose para amostras de aproximadamente 1,6 g das três faixas granulométricas de fibra de açaí utilizadas, o resultado está disposto na Tabela 4.

Esses valores de rendimento correspondem aos experimentos 2c e 2b do planejamento experimental proposto neste trabalho, no qual as fibras provenientes do branqueamento foram hidrolisadas sob as mesmas condições experimentais de temperatura e tempo, 45°C e 120 min. É esperado em rendimento baixo na produção de NCCs provenientes de fibras lignocelulósicas devido à alta porcentagem de lignina e hemicelulose nesses materiais. Janoobi et al. (2011) relata que o rendimento da produção de NCCs para a fibra de jute foi de 10,4 %.

Tabela 4- Dados de rendimento de NCCs de acordo com a faixa granulométrica de fibra de açaí utilizada na hidrólise ácida.

<b>Faixa Granulométrica (µm)</b>	<b>Massa de NCCs (g)</b>	<b>Rendimento de NCCs (%)</b>
250-500	0,0417	2,26%
125-250	0,1966	11,65%
35-125	-*	-*

Fonte: Próprio Autor (2019) (\* ainda em análise)

Apesar de terem sido obtidas as suspensões de NCCs para os 7 experimentos do planejamento experimental, ainda não foi possível obter as variáveis resposta necessárias para avaliar a melhor condição de hidrólise, pois está condicionada ao término da liofilização das suspensões geradas.

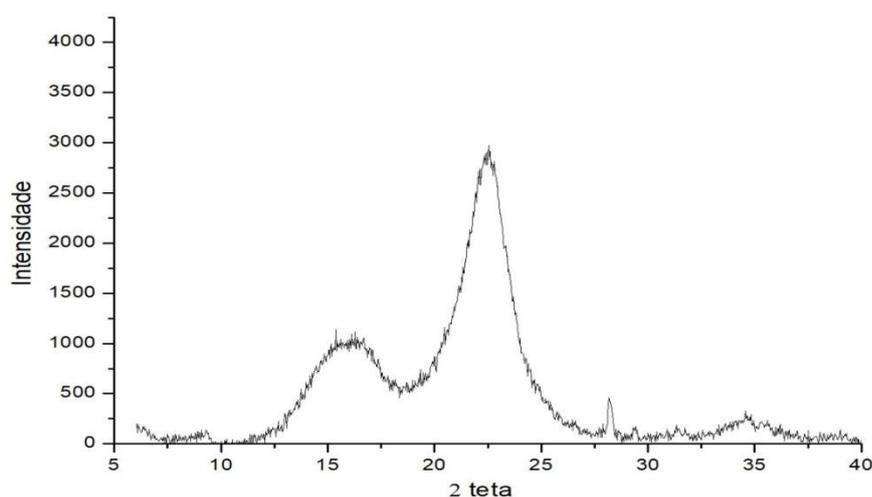
No entanto, é válido destacar que nos experimentos realizados no nível máximo de temperatura, que corresponde a 85°C, foi possível observar a degradação da fibra, que foi praticamente carbonizada durante a reação. Dessa maneira, pode-se inferir que esse valor de temperatura não é uma boa condição para a hidrólise ácida da fibra de açaí. Assim, a melhor condição de síntese avaliada até agora é a condição do experimento 2b (T=45°C, tempo= 120 min e granulometria de 125-250 µm)

Os NCCs produzidos foram analisados pela técnica de Difração de Raios X (DRX) com o objetivo de determinar o grau de cristalinidade, o difratograma está exposto na Figura 20.

O difratograma revelou picos de reflexão para os valores de  $2\theta = 15.8^\circ$ ,  $22.5^\circ$  e  $34.6^\circ$ . Esses valores estão de acordo com os resultados obtidos por Rosa et al. (2010) e são atribuídos a estrutura cristalina da celulose. Segundo Teixeira et al. (2010) esses picos são característicos da celulose do tipo I.

O grau de cristalinidade foi calculado pela razão da área cristalina, que corresponde aos picos do difratograma, pela área total, constituída pela parte amorfa e cristalina do material. O resultado demonstrou que a amostra de NCCs da fibra do açaí possui 45% de cristalinidade.

Figura 20- Difratograma dos NCCs obtidos pela hidrólise ácida da fibra do açaí a  $45^\circ\text{C}$  e 120 min



Fonte: Próprio Autor (2019)

### **5.5 Estimativa do gasto de água destilada durante o processo de extração dos derivados lignocelulósicos da fibra do açaí.**

Apesar de que métodos usados no tratamento da fibra de açaí se mostraram eficazes na extração dos componentes de maior valor agregado, lignina e de NCCs, foi possível notar o alto consumo de água destilada durante esse processo.

Com base nos volumes de água gastos para o tratamento de 1 g de fibra, observados durante as etapas do processo de obtenção dos NCCs, foi possível calcular o volume total de água destilada que seria utilizada no tratamento de 1 Kg do material lignocelulósico. Assim, verificou-se que o volume total a ser gasto no processo seria de aproximadamente 3,808 L,

sendo as etapas de diálise e branqueamento responsáveis pelos maiores volumes, 39,4 e 22,6% do volume total, respectivamente.

Tabela 5- Estimativa do volume de água destilada gasto em cada etapa do processo de obtenção dos derivados lignocelulósicos da fibra do açaí (lignina e NCCs).

<b>Etapa</b>	<b>Volume de água destilada gasto por Kg de material tratado em cada etapa (L)</b>
Lavagem inicial	160
Extração dos organossolúveis	–
Deslignificação alcalina	480
Branqueamento	860
Hidrólise ácida	8
Lavagem e Centrifugação	800
Diálise	1500

Segundo Meng et al. (2015) a etapa de diálise pode ser substituída pela neutralização com NaOH, porém a interação com essa base forte pode diminuir as propriedades térmicas dos NCCs.

O alto consumo de água destilada pelo processo pode apresentar desvantagens como o aumento do custo de produção gerado pelo alto consumo de energia elétrica no uso do destilador, por isso, o estudo comparativo de métodos alternativos, como o pedido de patente BR 1120120139339 que promove um método de extração dos NCCs usando uma solução aquosa de persulfato inorgânico para retirada dos compostos lignina, hemicelulose e outros carboidratos em apenas uma etapa, se mostra pertinente.

## 6 CONCLUSÕES

O estudo realizado demonstrou que é possível obter nanocristais de celulose utilizando o método clássico da hidrólise ácida da fibra do açai (*Euterpe Olerácea*). Devido à composição química dessa biomassa lignocelulósica foi realizado um pré-tratamento de deslignificação alcalina e branqueamento que permitiu a extração da lignina como um derivado desse processo.

A técnica de RMN 2D revelou que a lignina obtida não apresenta as unidades estruturais superiores, Hidroxifenila (H), a Siringila (S) e a Guaiacila (G), mas se mostrou rica nas subestruturas precursoras destas unidades. A análise do infravermelho confirmou esses resultados, com picos de absorção característicos da estrutura do ácido p-cumárico, o que sugere que a aplicação desta lignina para a produção de *commodity chemicals* seja mais fácil e barata.

As informações das variáveis que mais influenciam na hidrólise ácida para a obtenção dos nanocristais, de acordo com o planejamento experimental proposto, ainda estão em análise. No entanto, das condições avaliadas até agora, aquelas apresentadas pelo experimento 2b (T=45°C, tempo= 120 min e granulometria de 125-250 µm) foram as mais satisfatórias.

O uso da biomassa lignocelulósica do fruto do açai para a obtenção de nanocristais de celulose só será justificado, e atrativo do ponto de vista econômico, se o produto gerado apresentar as propriedades requeridas para seu uso em diferentes áreas de como a área biomédica, na liberação de fármacos, na fabricação de compósitos, pois as etapas do processo de extração demandam muito tempo e um alto consumo de água destilada.

## REFERÊNCIAS

ALEMDAR, A., SAIN, M. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. **Composites Science and Technology** v.68, p. 557–565, 2008.

BRINCH, L. COTANA, F. FORTUNATI, E. KENNY, J. M. Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications. **Carbohydrate Polymer**. v. 94, p. 154-169, 2013.

BUFALINO, L., GUIMARÃES, A. A., SILVA, B. M. S., de SOUZA, R. L. F., de MELO, I. C. N. A., de OLIVEIRA, D. N. P. S., TRUGILHO, P. F. Properties of açai waste and improvement of its energetic attributes by separation of lignocellulosic fibers and seeds. **J. Renewable Sustainable Energy** v.10, p. 053-102, 2018.

CASTRO, C. D. P. C., TAVARES DIAS, C. G. B. T., FARIA, J. A. F. Production and Evaluation of Recycled Polymers from Açai Fibers. **Materials Research**. v. 13(2): p.159-163, 2010.

CNPEM – Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais. Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear IQ/UNICAMP. Disponível em: <<http://labrmn.iqm.unicamp.br/experimentos/>>. Acesso em: 27 Nov de 2019.

COLLINS, C. H. **Fundamentos de Cromatografia**. Editora UNICAMP, São Paulo, 2010.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Relatório de análise mensal Açai (fruto) março de 2019** [relatório na internet]. Brasília-DF,. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/historico-mensal-de-acai/item/download>>. Acesso em: 28 ago. 2019.

CORTEZ, L. A. B, LORA, E. O. G, GÓMEZ, E. O. **Biomassa para energia**. Editora da Unicamp, 2008.

de CLAUDEMIRO, L. J. **Potencial de aproveitamento energético de fontes de biomassa na região Nordeste do Brasil**. 2013. 84 f. Tese (Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares)- Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2013.

del RIO, J. C., LINO, A. G., COLODETE, J. L., LIMA, C. F., GUTIERREZ, A., MARTINEZ, A. T., LU, F., RALPH, J., RENCORETE, J. Differences in chemical structure of lignins from sugarcane bagasse and straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 322-338, 2015.

de WILD, P. J. **Industrial Biorefineries and White Biotechnology**. Elsevier B.V., Netherlands, 2015.

DIRCEU, J. M. J. **Fibras de sisal: estudo de propriedades e modificações químicas visando aplicação em compósitos de matriz fenólica**. 2006. 267 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

FORATO, L. A., FILHO, R. B., OSIRO, D., BICUDO, T. de C., COLNAGO, L. A. **A Espectroscopia na região do Infravermelho e algumas aplicações**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2010.

GEHLEN, L. R. **Efeito da utilização de fibras lignocelulósicas (acaí e carauá) em compósitos com matriz de resina poliéster insaturado**. 2014. 104f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. **Chemical Reviews**, North Carolina, USA, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.

IBARRA, D., del RIO, J. C. GUTIÉRREZ, A., CHÁVEZ, M. I. IBARRA, D., ROMERO, J. CAMARERO, S., MARTÍNEZ, M. J., BARRERO, J. J., MARTÍNEZ, A. T. Lignin modification during Eucalyptus globulus kraft pulping followed by totally chlorine-free bleaching: a two dimensional nuclear magnetic resonance, Fourier Transform Infrared, and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry study. **Agricultural Food Chemistry**. v. 55, p. 3477-3490, 2007).

ISIKGOR, F. H.; BECER, C. R. Lignocellulosic Biomass: A Sustainable Platform for Production of Bio-Based Chemicals and Polymers. **Polymer Chemistry**, v 6, p 4497-4559, 2015.

JANOBI, M.; OLADI, R.; DAVOUDPOUR, Y.; OKSMAN, K.; DUFRESNE, A.; HAMZEH, Y.; DAVOODI, R. Different preparation methods and properties of

nanostructured cellulose from various natural resources and residues: a review. **Cellulose**, Karaj, Iran, v. 22, p. 935-969, 2015.

KALIA, S. DUFRESNE, A.CHERIAN, B. M. KAITH, B. S. AVÉROUS, L. NJUGUMA, J. Cellulose-based bio-and nanocomposites: a review. **Polymer Science**. p 1-35, 2011.

KARGARZADEH, H.; MARIANO, M.; GOPAKUMAR, AHMAD, I.; THOMAS, S.; DUFRESNE, A.; HUANG, J.; LIN, N. Advances in cellulose nanomaterials. **Cellulose**, Selangor, Malaysia, v. 25, p. 2151-2189, 2018.

KARGARZADEH, K., AHMAD, I. , ABDULLAH, I. , DUFRESNE, A. , ZAINUDIN, S. Y., SHELTAMI, R. M. Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers. **Cellulose**. V. 19, p. 855–866, 2012.

KHALIL, H. P. S. A. DAVOUDPOUR, Y. ISLAMA, M.N. MUSTAPHA, A. SUDESH, K. DUNGANI, R. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: a review. **Carbohydrate Polymer**. v. 99, p 649, 2014

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angew. Chem.**, Jena, Germany, v. 44, p. 3358–3393, 2005.

KUMAR, R., WYMAN, C. E. Effect of Additives on the Digestibility of Corn Stover Solids Following Pretreatment by Leading Technologies. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 102, n.. 6, 2009.

LU,P., HSIEH, Y. L. Preparation and properties of cellulose nanocrystals: Rods, spheres, Local variability of yield and physical and network. **Carbohydrate Polymers**. v. 82, p. 329–336, 2010.

MAJEED K, JAWAID, M. HASSAN, A. ABU-BAKAR, A. ABDUL-KHALI, H. P.S. SALEMA, A. A. Potencial materials for food packaging from nanoclay/natural fibres filled hybrid composites. **Materials & Design**. v. 46, p 391-410, 2013.

MARTINS, M. A., PESSOA, J. D. C., GONÇALVES, P.S., SOUZA, F. I., MATTOSO, H. C. Thermal and mechanical properties of the açai fiber/natural rubber composites. **J Mater Sci** v. 43, p. 6531–6538, 2008.

MENEZES F. F.; FERNANDES R. H. D.; ROCHA G. J. D.; MACIEL FILHO R. M. Physicochemical characterization of residue from the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse in a cellulosic ethanol process at pilot scale. **Industrial Crops and Products**, 2016. 94, 463-470.

MENEZES, F. F. **Caracterização do resíduo da hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar e da lignina kraft lignoboost de eucalipto e de suas resinas fenólicas**. 2018. 161 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

MENG, H. N.; SIN, L. T.; TEE, T. T.; BEE, S. T.; HUI, D.; LOW, C. Y.; RAHMAT, A. R. Extraction of cellulose nanocrystals from plant sources for application as reinforcing agent in polymers. **Composites Part B**, v. 75, p. 176-200, 2015.

MERLINI, C.; AL-QURESHI, H. A.; SALMORIA, G. V.; BARRA, G. M. O., PIRES, E. N. Efeito do tratamento alcalino de fibras de juta no comportamento mecânico de compósitos de matriz epóxi. **Polímeros**, 2012. 22, 4, 339-344.

MESQUITA, A. L. **Estudos de processos de extração e caracterização de fibras do fruto do açaí (*euterpe oleracea* mart.) da amazônia para produção de ecopainel de partículas de média densidade**. 2013, 149 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal do Pará. Belém, 2013.

MISHRA, S., KHARKAR, P. S., PETHE, A. M. Biomass and waste materials as potential sources of nanocrystalline cellulose: Comparative review of preparation methods (2016 – Till date). **Carbohydrate Polymer**. v. 207, p. 418-427.

MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chem. Soc. Rev.**, Wisconsin, USA, v. 40, p. 3941–3994, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF CANADA. Chi Woon Leung, John H. T. Luong, Sabahudin Hrapovic, Edmond Lam, Yali Liu, Keith B. Male, Khaled Mahmoud, Denis Rho. **Processo para a produção de nanocristais de cellulose e materiais à base de cellulose**. BR n. 1120120139339, 11 de set. 2012.

OLIVEIRA, J. A. R. de. **Investigação das etapas para o processo de Produção de etanol de segunda geração a partir da Biomassa do caroço de açaí (*Euterpe Oleracea*)**. 2014. 228 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) -Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., VYVYAN, J.R. **Introdução à espectroscopia**. Cengage Learning, São Paulo, 2010.

PEREIRA, F. V., DE PAULA, E. L., DE MESQUITA, J. P. LUCAS, A. A. e MANO, V. Bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis por meio de evaporação de solvente, automontagem ou eletrofiliação. **Química Nova**, vol. 37, n. 7, 1209-1219, 2014.

PESSOA, J. D. C.; ARDUIN, M.; MARTINS, M. A.; URANO DE CARVALHO, E. Characterization of açaí (*E. oleracea*) fruits and its processing residues. **Brazilian Archives of Biology and Biotechnology**, v 53, n. 6, p. 1451- 1460, 2010

PINO, V.; AYALA, J. H.; GONZALEZ, V.; AFONSO, A. M. Determination of the alkyl- and methoxy-phenolic content in wood extractives by micellar solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, La Laguna, Spain, v. 73, p. 505–513, 2007.

QUINELATO, C. **Métodos de Extração da Lignina do Bagaço da Cana-de-Açúcar do Noroeste do Estado de São Paulo**. 2016. 95 f. Tese (Mestrado em Química). Universidade estadual paulista, São José do Rio Preto, 2016.

RALPH, J., LANDUCCI, L. L. NMR of Lignins in: Heiter, C., DIMMEL, D. R., SCHMIDT, J. A., Lignin and Lignans: Advances in Chemistry. Taylor and Francis, Boca Raton, p. 137-244, 2010.

ROSA, M. F. MEDEIROS, E. S. MALMONGE, J.A. GREGORSKI, K. S. WOOD, D. F. MATTOSO, L. H. C. GLENN, G. ORTS, W. J. e IMAM, S. H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. **Carbohydrate Polymers** pages 83-92, 2010.

SALIBA, E. O. S., RODRIGUEZ, N. M., de MORAIS, S. A. L., VELOSO, D. P. Ligninas – métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.5, p.917-928, 2001.

SEDAP - Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e da Pesca. **Panorama Agrícola do Pará 2010 / 2017**. Disponível em: <<http://www.sedap.pa.gov.br/file/1210/download>>. Acesso em: 16 de dezembro, 2019.

SILVA, J. P. F.; PAREYN, F. G. C.; SOARES, D. G. Manejo Florestal Sustentável da Caatinga: Adequação Ambiental e Produção de Energia Agroecológica em Projetos de Assentamento e Propriedades Coletivas do Plano Nacional de Reforma Agrária. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 977-980, 2009.

SILVA, P.L ; LIMA, D.M; ZAQUEO, R.P.; CANOBRE, S.C; AMARAL, F.A. Síntese e caracterização de compósitos de polipirrol (ppy)/ nanotubos de carbono (ntc) para aplicação como capacitores eletroquímicos. **Congresso Brasileiro de Química**. São Luís, 2011.

SUN, R. C.; SUN, X. F. Identification and quantitation of lipophilic extractives from wheat straw. **Industrial Crops and Products**, Guangzhou, China, v. 14, p. 51-64, 2001.

TEIXEIRA, E. de M., de OLIVEIRA, C. R., MATTOSO, L. H. C., CORRÊA, A. C., PALADIN, P. D. Nanofibras de Algodão Obtidas sob Diferentes Condições de Hidrólise Ácida. **Polímeros**, v. 20, n. 4, p. 264-268, 2010.

TURSI, A. A review on biomass: importance, chemistry, classification, and conversion. **Biofuel Research Journal**. v.22, p 962-979, 2019.

VASSILEV, S. V., BAXTER, D. ANDERSEN, L. K, VASSILEVA, C. G. MORGAN, T. J. An overview of the organic and inorganic phase composition of biomass. **Fuel** v.94, p., 1–33, 2012.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Embrapa Clima Temperado. Documentos, 316, 2010.

XIE, H.; DU, H.; YANG, X.; SI, C. Recent Strategies in Preparation of Cellulose Nanocrystals and Cellulose Nanofibrils Derived from Raw Cellulose Materials. **International Journal of Polymer Science**, Tianjin, China, v. 2018, p. 25, 2018.

XU, X.; LIU, F.; JIANG, L.; ZHU, J. Y.; HAAGENSON, D.; WIESENBORN, D. P. Cellulose Nanocrystals vs. Cellulose Nanofibrils: A Comparative Study on Their

Microstructures and Effects as Polymer Reinforcing Agents. **ACS Applied Materials & Interfaces**, North Dakota, USA, v. 5, p. 2999–3009, 2013.

YUYAMA<sup>1</sup>, L. K. O., AGUIAR, J. P. L. FILHO, D. F. S., YUYAMA, K., M. J., FÁVARO, D. I. T., VASCONCELLOS, M. B. A., PIMENTEL, S. A. CARUSO, M. S. F. Caracterização físico-química do suco de açaí de Euterpe precatoria Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta Amazonica**, v. 41(4), p. 545 – 552, 2011.

ZHANG, X.; NGUYEN, D.; PAICE, M. G.; TSANG, A.; RENAUD, S. Degradation of wood extractives in thermo-mechanical pulp by soybean lipoxygenase. **Enzyme and Microbial Technology**, Quebec, Canada, v. 40, p. 866–873, 2007.

ZHOU, C. H. XIA, X. LIN, C. X. TONGA, D.S. BELTRAMINIB, J. Catalytic conversion of lignocellulosic biomass to fine chemicals and fuels. **Chem. Soc. Rev.** v 40, p 5588–5617, 2011.