

AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA DE OXIDAÇÃO ALCALINA COM NITROBENZENO PARA CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA LIGNINA DA MADEIRA E LIGNINA KRAFT DE EUCALIPTO

Paulo Roberto Tavares Miranda¹, Larisse Aparecida Ribas Batalha¹, Fernando José Borges Gomes¹, Roberto da Costa Carlos Lelis¹, Rosane Nora Castro¹, Vinicius Olivieri Rodrigues Gomes¹, Ana Helise Abreu Rodrigues da Silva¹, Júlia Pessanha Monteiro¹, Nilton Louvem da Silva Junior¹.

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Brasil

RESUMO

A lignina é um polímero tridimensional formado por unidades de fenil propano, guaiacila-G, siringila-S e p-hidroxifenil-H, ligados por ligações éter ou carbono-carbono. Sendo a presença e proporção das unidades G, S, H dependente dá origem do material lignocelulósico, no caso da lignina Kraft da matéria prima e das condições de polpação. Muitos trabalhos na literatura mostram como a relação dessas estruturas, H/G/S, influenciam na utilização da madeira para fabricação de polpa celulósica e bioenergia, e auxílio na caracterização da lignina Kraft e destinação desta para obtenção de novos produtos. O método mais utilizado para a caracterização da estrutura da lignina, é a oxidação alcalina com nitrobenzeno. Neste as unidades H, G e S são oxidadas a seus respectivos aldeídos e em pequena proporção nos seus respectivos ácidos, e então identificados por cromatografia gasosa ou líquida. As condições de tempo e temperatura na etapa de oxidação tem grande influência na capacidade de identificar as diferentes estruturas da lignina. Assim este trabalho teve como objetivo otimizar as condições de tempo e temperatura na oxidação alcalina com nitrobenzeno, visando alcançar um maior rendimento de oxidação e então melhor avaliação da composição química da lignina da madeira e lignina Kraft de eucalipto. Foram estudadas temperaturas de 170, 180 e 190 °C por vários tempos de residência. Os resultados encontrados demonstram que o rendimento de extração é dependente das condições usadas na etapa de oxidação. Os maiores rendimentos de extração para madeira e a lignina foi alcançada nas condições de 170°C por 2,5h, e 190°C por 2,5h, respectivamente. Como a lignina no processo de polpação Kraft pode ter sua estrutura modificada, foi realizada a análise o RMN 2D (ressonância magnética nuclear), técnica não destrutiva, para avaliar a presença das unidades H, G e S. O RMN 2D não mostrou a presença do p-hidroxifenila tal como a oxidação com nitrobenzeno. Porém pela técnica

de pirólise acoplada à cromatografia a gás/espectrometria de massas (PI-CG/EM) foi possível observar a presença da unidade H, o que indica que a pirólise pode degradar as unidades G e S da lignina e produzir a unidade H, mostrando que a técnica de pirólise deve ser usada com cautela uma vez que pode gerar resultados errôneas para a caracterização química da lignina.

Palavras-chave: lignina, nitrobenzeno, relação H/G/S, RMN 2D, PI-CG/EM

INTRODUÇÃO

A lignina destaca-se como um subproduto promissor para a indústria de celulose e papel, sendo o principal constituinte do licor preto. A lignina é, geralmente, classificada com base na quantidade relativa dos monômeros guaiacila (G), siringila (S) e p-hidroxifenila (H), que são derivados dos álcoois coníferílico, sinápílico e p-cumarílico, respectivamente. Na madeira de eucalipto, a lignina é predominantemente composta pelas unidades siringila e guaiacila (lignina S-G), enquanto nas coníferas, ela é formada principalmente por unidades guaiacila e p-hidroxifenila (lignina G-H) (Sarkanen *et al.*, 1971). Em gramíneas, a lignina resulta da polimerização dos três tipos de unidades monoméricas, formando a lignina H-G-S (DEL RÍO *et al.*, 1999).

O conteúdo e a estrutura química dos componentes da madeira, especialmente o teor de lignina e sua composição em termos de unidades fenilpropanóides, são parâmetros cruciais para a produção de polpa de celulose. Esses fatores influenciam diretamente a taxa de deslignificação, o consumo de reagentes químicos e o rendimento da polpa durante o processo de cozimento da madeira (RODRIGUES *et al.*, 1999).

A velocidade de deslignificação é influenciada pela estrutura química da lignina, sendo diretamente proporcional à relação S/G (siringila/guaiacila). Uma maior relação S/G pode afetar significativamente as propriedades da madeira, bem

Autor correspondente: Paulo Roberto Tavares Miranda. Seropédica; CEP: 23894-170; Brasil. Fone: +55-21-992887670. paulomiranda@ufrj.br

como o rendimento do processo de polpação. As ligninas com uma alta proporção de unidades siringila tendem a deslignificar mais rapidamente devido à sua menor resistência à quebra química, comparadas às ligninas com uma maior proporção de unidades guaiacila. Portanto, a composição da lignina, em termos da relação S/G, desempenha um papel crucial na eficiência do processo de produção de polpa de celulose, afetando tanto o consumo de reagentes químicos quanto a qualidade final da polpa (COLLINS *et al.*, 1990; WALLIS *et al.*, 1996; DEL RÍO *et al.*, 1999; RODRIGUES *et al.*, 1999).

Diversos métodos químicos, físicos e citológicos têm sido empregados para a caracterização estrutural da lignina; contudo, os detalhes completos de sua composição molecular ainda não foram plenamente elucidados (Monties *et al.*, 1991). Um dos métodos de degradação, a oxidação alcalina de nitrobenzeno, foi introduzido por (Freudenburg *et al.*, 1940). Este método continua sendo o mais importante e amplamente utilizado para caracterizar a estrutura da lignina em materiais lignocelulósicos (LAPIERRE *et al.*, 2010). Durante a oxidação do nitrobenzeno, três unidades constitutivas da lignina - p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S) - são degradadas em aldeídos: p-hidroxibenzaldeído, vanilina e siringaldeído, juntamente com uma pequena quantidade de seus ácidos correspondentes: ácido p-hidroxibenzoico, ácido vanílico e ácido siringico, respectivamente. As proporções de siringaldeído/vanilina, relação S/G, e phidroxibenzaldeído/vanilina, relação H/G, têm sido há muito tempo reconhecidas como características importantes da lignina na biomassa (Chang *et al.*, 1971).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo otimizar as condições de tempo e temperatura na oxidação alcalina com nitrobenzeno, visando maximizar o rendimento de oxidação, e então melhorar a avaliação da composição química da lignina da madeira e lignina Kraft de eucalipto.

MÉTODOS

1. Obtenção de Lignina Kraft

As amostras - madeira e lignina Kraft de eucalipto - foram obtidas juntos a uma empresa brasileira do setor de Celulose & Papel.

2. Teor de lignina nas amostras

O teor de lignina total foi obtido pela soma da lignina insolúvel em ácido (TAPPI 222 om 88) e lignina solúvel ácido (TAPPI UM 250).

3. Oxidação alcalina com nitrobenzeno da lignina da madeira e lignina kraft de eucalipto

A oxidação alcalina do nitrobenzeno foi realizada em um reator aquecido eletronicamente e controlado por termostato até a temperatura desejada. Foram feitos ensaios com três temperatu-

ras diferentes, 170 °C, 180 °C e 190 °C, utilizando três tempos de residência, 1,5h, 2,5h e 4h. A análise de lignina Kraft foi realizada utilizando 50 mg, 5 ml de NaOH 2N e 0,5 ml de nitrobenzeno, e 200 mg livre de extrativos, 7 ml de NaOH 2N e 0,5 ml de nitrobenzeno para madeira livre de extrativos. Ao término da reação, o reator quente foi imediatamente resfriado com água fria e, em seguida, 1 ml de 5-iodovanilina (80 mg dissolvidos em 5 ml de 1,4-dioxano) foi adicionado como padrão interno. A mistura foi extraída três vezes com diclorometano e a fase orgânica foi descartada. A fase aquosa (solução alcalina) foi acidificada com HCl 2N até pH 2,5, e então extraída com diclorometano (3x). A fase orgânica foi coletada e seca com sulfato de sódio anidro, um ml da solução foi evaporado, o resíduo foi resuspendido com 0,5 ml de acetona, e injetado no cromatógrafo.

A) CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)

A cromatografia gasosa quantitativa foi realizada em um equipamento Perkin Elmer Clarus 680 equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna Elite-1 (30 m × 0,32 mm × 0,25 μm). A temperatura de injeção foi de 200°C, a

temperatura do detector foi de 270 °C e o fluxo de gás carreador foi de 2 ml de ar sintético/min. A coluna foi mantida por 3 min a 120 °C, elevada a 5 °C/min a 200 °C, seguida de 10 °C/min a 260 °C por 5 min. Os aldeídos: phidroxibenzaldeído, vanilina, siringaldeído foram utilizados como padrões.

B) RMN 2D

Os espectros de RMN HSQC 2D foram registrados em um espectrômetro Bruker Avance 500 MHz equipado com Quad probe, o programa selecionado foi "hsqcdetgpsisp 2". Amostras de lignina foram dissolvidas em DMSO-d₆ na concentração de 100mg/ml. As condições para a análise HSQC foram as seguintes: a 25 °C, 2.048 pontos de dados em F2 e 512 pontos de dados em F1 com 32 varreduras. O processamento dos dados foi realizado utilizando o software Bruker Topspin-NMR. O pico de DMSO foi utilizado como ponto de referência de deslocamento químico interno ($\delta C/\delta H$ 39,5/2,5).

C) PI-CG-EM

A pirólise à temperatura de 550°C foi realizada em um pirolisador de micro forno conectado a um aparelho GC-MS (Shimadzu, model QP2020). Sendo a relação H/G/S obtida pela soma da área percentual de todos os picos derivados de cada monômero de interesse, indicados a seguir: Lignina p-hidroxifenila (H): fenol, o-creosol, p-creosol, m-creosol, 2,4-dimetilfenol, 2,6-dimetilfenol; Lignina guaiacila (G): guaiacol, 4-metilguaiacol, 4-etilguaiacol, 4-vinilguaiacol, eugenol, 4-propilguaiacol, vanilina, 4-propenilguaiacol, guaiacil-acetona, 3-metilguaiacol, 5-metilguaiacol, 4-acetilguaiacol; Lignina siringila (S): siringol, 4-metilsiringol, 4-vinilsiringol, 4-propenilsiringol, siringaldeído, homosinringaldeído, siringila-acetona, 2,3-dimetilfenol, 3,4-dimetoxifenol, e 4-acetilsiringol.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento total de extração pela oxidação alcalina com nitrobenzeno dos monômeros da lignina H, G, S foi encontrado pela relação da quantidade dos aldeídos obtidos na extração pela análise cromatográfica e a lignina total encontrada no material. Para as amostras analisadas foi encontrado um teor de lignina total de 29,5% e 95,0%, para madeira livre de extrativos e lignina Kraft de eucalipto, respectivamente.

Uma etapa de derivatização, como sililação, reduz a absorção do analito no cromatógrafo gasoso, melhorando a resposta no seu detector e possibilitando uma separação mais eficiente dos picos do cromatograma (Cruz *et al.*, 2004). No entanto tem a desvantagem de aumentar o tempo e o custo de análise. Devido a isso e a boas respostas dos compostos de interesse, os aldeídos: *p*-hidroxibenzaldeído, vanilina e siringaldeído, nas condições de análise sugeridas neste trabalho, optou-se pela não derivatização das amostras.

A influência da temperatura e do tempo de residência nos rendimentos de oxidação alcalina com nitrobenzeno, e na relação S/G das amostras são mostradas na Tabela 1. Para ambas as amostras não foi detectado o aldeído *p*hidroxibenzaldeído, derivado da lignina H. A concentração de ácido vanílico e ácido siringico foi muito baixa, portanto, não foi considerada na determinação do rendimento e na relação S/G. Esta determinada,

então pela relação entre os produtos de oxidação da lignina S, o siringaldeído, e a lignina G, a vanilina. O maior rendimento de extração para madeira foi alcançado na condição de 170 °C por 2,5h, mesma condição encontrada por Min *et al* (2015), e rendimento de extração próximo ao encontrado Katahira e Nakatsubo *et al.* (2001) para a madeira de *Eucalyptus globulus*. Já para a lignina Kraft o maior rendimento foi encontrado na condição de 190 °C por 2,5h.

A técnica de pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas tem sido utilizada para a determinação da relação S/G da lignina como demonstrado por Barbosa *et al.* (2008), Fernández-Rodríguez *et al.* (2020) e Silva *et al.* (2020). Uma vez que o rendimento de extração na oxidação com nitrobenzeno para a amostra de lignina foi baixo, aplicou-se a técnica de PI-CG/EM para avaliar a relação S/G. Nesta técnica a relação H/G/S é obtida em função da área percentual de todos os picos derivados de cada monômero. Encontrou-se uma área percentual de 1,33, 22,06 e 56,06 para a lignina H, lignina G e lignina S, respectivamente, levando-a uma relação S/G igual a 2,5; menor que a obtida pela oxidação com nitrobenzeno na condição ótima de extração (190 °C por 2,5h, S/G= 3,0). Esta diferença pode ser explicada pela transformação de S em G, S e G em H pela reação de desmetoxilação causada pela pirólise (Lopes *et al.*, 2011).

Tabela 1. Rendimentos de oxidação alcalina com nitrobenzeno e a relação S/G.

Amostra	Temp., °C	Tempo, h	Rendimento, %	Relação S/G
Madeira de eucalipto	170	1,5	46,3	3,2
		2,5	50,8	3,4
		4	48,7	3,3
	180	1,5	40,2	3,6
		2,5	44,0	3,4
		4	45,2	3,5
	190	1,5	47,3	3,5
		2,5	48,9	3,6
		4	43,6	3,5
Lignina Kraft de eucalipto	170	1,5	10,2	3,0
		2,5	13,1	2,4
		4	12,5	2,8
	180	1,5	9,9	3,0
		2,5	10,9	3,0
		4	10,4	2,9
	190	1,5	10,9	2,9
		2,5	13,3	3,0
		4	11,2	2,7

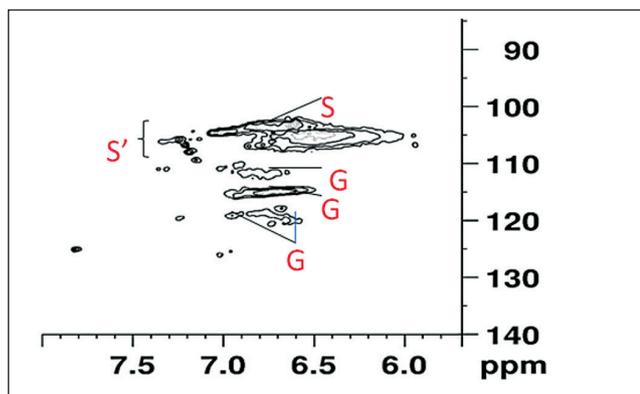


Figura 1. Região aromática no espectro RMN 2D HSQC

Visto a diferença apresentada pelas técnicas de oxidação com nitrobenzeno e a PI-CG/MS em relação a presença de monômeros derivados da lignina H, empregou-se a técnica de ressonância magnética nuclear bidimensional (RMN 2D) de Coerência Heteronuclear de Simples Quantum (^{13}C - ^1H HSQC), técnica muito utilizada para elucidação da estrutura de ligninas (Fernandez-Costas *et al.*, 2014; Crestini *et al.*, 2017). A presença da estrutura derivada da lignina H, phidroxifenil, confirmada nos deslocamentos químicos (δ) do carbono e hidrogênio, $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 130,5/7,4 e 128,9/7,1, não foi observado para a lignina Kraft caracterizada como poder ser observado na figura 2. As unidades de lignina S foram identificadas em $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 104,6/7,06

e 103,4/6,62, em unidades S oxidadas $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 109,4/7,15; 108,0/7,19; 106,9/7,21; 105,8/7,24; 104,7/7,01. As unidades G mostraram correlações de diferentes C-H nos deslocamentos químicos, $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 120,1/6,65; 119,2/6,65; 115,2/6,76; 111,9/6,74 respectivamente.

CONCLUSÕES

Os resultados encontrados demonstram que o rendimento de extração é dependente das condições usadas na etapa de oxidação. Os maiores rendimentos de extração para madeira e a lignina foi alcançada nas condições de 170 °C por 2,5h, e 190 °C por 2,5h, respectivamente.

A presença da unidade H na amostra de lignina Kraft foi observado pela técnica de PI-CG/EM, porém não foi observada com a oxidação com nitrobenzeno, confirmada pela técnica não destrutiva RMN 2D. Isso indica que a pirólise pode degradar as unidades G e S da lignina e produzir a unidade H, mostrando que a técnica de pirólise deve ser usada com cautela uma vez que pode gerar resultados errôneas para a caracterização química da lignina.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

REFERÊNCIAS

- Barbosa, I. C. A.; Silvério, F. O.; Maltha, C. R. A.; Fidêncio, P. H.; Cruz, M. P.; Piló-veloso, D. e Milanez, A. F. Effect of storage time on the composition and content of wood extractives in eucalyptus cultivated in brazil. *Bioresour. Technol.* 99, p. 4878-4886, 2008.
- Chang, H-M. e Allan, G. G. Oxidation. *In: lignins: occurrence, formation, structure and reaction*. Sarkanen, K.V.; Ludwig, G.H., Eds.; Wiley interscience: Nova York, 1971, p. 433-485.
- Collins, D. J.; Pilotti, C. A. e Wallis, A. F. A. Correlation of chemical composition and kraft pulping properties of some papua new guinea reforestation woods, 1990.
- Crestini, C.; Lange, H.; Sette, M. e Argyropoulos, D. S. On the structure of softwood kraft lignin. *Green chem.*, 2017, 19, p. 4104.
- Cruz, M. P. Caracterização de extrativos e de "pitch" envolvidos na fabricação de polpa de celulose de eucalyptus sp. 2004. 103f. Tese (mestrado em agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa (UFV), 2004.
- Del Río, J. C. *et al.* Determining the influence of eucalypt lignin composition in paper pulp yield using py-gc/MS. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, v. 74, n. 1-2, p. 110-115, 2005. Agarwal, S. B., Genco, J. M., Cole, B. J. W. and miller, W. Kinetics of oxygen delignification. *J. Pulp and paper sci.*, v. 25, n.10, 1999, p. 361-366.
- Dence, C.W. e Lin, S.Y. Características estruturais gerais da lignina. *In: lin, S.Y., Dence, C.W. (Orgs.), Métodos em química da lignina*. Springer, Berlim, heidelberg, 1992, p. 3-6.

Douyong min, zhouyang xiang, jie liu, hasan jameel, vincent chiang, yongcan jin & hou-min chang improved protocol for alkaline nitrobenzene oxidation of woody and non-woody biomass, *journal of wood chemistry and technology*, 35, v. 1, 2015, p. 52-61, DOI: 10.1080/02773813.2014.902965.

Fernandez-Costas C.; Gouveia, M. A. e Moldes, S. Structural characterization of kraft lignins from different spent cooking liquors by 1D and 2D nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biomass and bioenergy*, 63, 2014, p. 156-166.

Fernández-Rodríguez, J.; Erdocia, X.; Hernández-Ramos, F.; Gordobil, O.; Alriols, M. G. e Labidi, J. Direct lignin depolymerization process from sulfur-free black liquors. *Fuel processing technology*, v. 197, 2020, p. 106-201.

Freudenberg, K.; Lautsch, W. e Engler, K. Die bildung von vanillin aus fichtenlignin. *Berichte der deutschen chemischen gesellschaft (A and B series)*, v. 73, n. 3, 1940, p. 167-171.

IBÁ, 2023. Indústria brasileira de árvores. Relatório IBÁ 2023. Disponível em: <https://iba.Org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorioanual-iba2023-r.Pdf>. Acesso em: dez. 2022.

Katahira, R. e Nakatsubo, F. Determination of nitrobenzene oxidation products by GC and ¹H-NMR spectroscopy using 5iodovanillin as a new internal standard. *Journal of wood science*, v. 47, 2001, p. 378-382.

Lapierre, C. Determining lignin structure by chemical degradations. *Lignin and lignans: advances in chemistry*, 2010, p. 11-48.

Lopes, F. J. F.; Silvério, F. O.; Baffa, D. C. F.; Loureiro, M. E. e Barbosa, M. H. P. Determination of sugarcane bagasse lignin S/G/H ratio by pyrolysis GC/MS, *journal of wood chemistry and technology*, 31, v. 4, 2011, p. 309-323, DOI: 10.1080/02773813.2010.550379.

Monties, B. Recent advances in structural and biosynthetic variability of lignins. Proc 6th int symp of wood and paper chemistry, Melbourne, Australia, APPITA, 1991, p. 113-123.

Rodrigues, J. *et al.* Determination of tree to tree variation in syringyl/guaiacyl ratio of eucalyptus globulus wood lignin by analytical pyrolysis. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, v. 48, n. 2, 1999, p. 121-128.

Sarkanen, K. V. e Hergert, H. L. Em lignins-occurrence, formation, structure and reaction; sarkanen, K. V.; Ludwig, C. H., Eds.; John Wiley: Nova York, 1971, cap. 2.

Silva, S. H. F.; Gordobil, O. e Labidi, J. Organic acids as a greener alternative for the precipitation of hardwood kraft lignins from the industrial black liquor. *International journal of biological macromolecules*, v. 142, p. 583-591, 2020.

TAPPI (associação técnica da indústria de papel e celulose) método padrão T 222 – 88 – lignina insolúvel em ácido em madeira e celulose. Atlanta: método padrão TAPPI, 2002.

TAPPI (associação técnica da indústria de papel e celulose) método padrão UM 250: lignina solúvel em ácido em madeira e celulose. Atlanta: método padrão TAPPI, 1991.

TAPPI (technical association of pulp and paper industry) método padrão T 211 – 93 – cinzas em madeira, celulose, papel e cartão: combustão a 525 °C. Atlanta: método padrão TAPPI, 2002.

TAPPI, t. 222 om-02: acid-insoluble lignin in wood and pulp. 2002–2003 TAPPI test methods, 2002.