



INVESTIGAÇÃO DE UM NOVO MÉTODO DE DESLIGNIFICAÇÃO APLICADO NA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA – PALHA DE MILHO (PM)

Silva, L.R.⁽¹⁾; Tomé, A.G.⁽¹⁾; Aquino, G.S.⁽¹⁾; Amaral, F.A.^{(1)*};

⁽¹⁾ Laboratório de análise eletroquímica e tratamento de efluentes (LAETE), Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Av. João Naves de Ávila, 2121, CEP 38408-100.

[*fabioamaral@ufu.br](mailto:fabioamaral@ufu.br)

RESUMO

Este estudo investigou um novo pré-tratamento (PT) para palha de milho (PM), um material lignocelulósico, visando o fracionamento dos constituintes lignocelulósicos: holocelulose, hemicelulose e celulose. Inicialmente o PT envolveu a deslignificação, com 13 condições experimentais baseadas nas variáveis massa de NaOH, volume de etanol (70% INPM) e volume de H₂O₂ (50%). A caracterização da PM não tratada seguiu o procedimento TAPPI 235 om-00, para obter os teores de holocelulose e hemiceluloses, enquanto as amostras pré-tratadas foram analisadas quanto ao teor de lignina e massa molar viscosimétrica. A quantificação do teor de lignina determinou os melhores pontos de deslignificação, maximizando a remoção de lignina e preservando as hemiceluloses e celulose. Caracterizações adicionais foram feitas por análise termogravimétrica e Raios-X, confirmando a estabilidade da estrutura. Dados foram analisados com IBM SPSS Statistics 29.0 e Origin 2008. O PT *Oxiorganosolv* reduziu a lignina para 2% com mínima perda de celulose e hemicelulose.

Palavras-chave: Pré-tratamento, *Oxiorganosolv*, deslignificação, lignina

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, tem-se intensificado a preocupação com o meio ambiente e, conseqüentemente, o estímulo em pesquisas que visam valorizar o aproveitamento e/ou reaproveitamento de materiais biodegradáveis, como os provenientes da biomassa (SOUZA *et al.*, 2012), por exemplo. Considerando este viés, temos que o Brasil ocupa uma posição de destaque, visto a significativa detenção de materiais ricos em biomassa lignocelulósica, como é o caso da palha de milho, proveniente da produção de milho, onde, segundo a CONAB, foi estimado um processamento nas safras de 2023/24 de aproximadamente 299,27 milhões de toneladas (CONAB, 2023).

A palha de milho, um subproduto do milho, devido a sua riqueza em constituintes lignocelulósicos, pode ser inserido no contexto da economia circular, ou seja, detêm de um valor que a possibilita ser mantida em uso pelo maior tempo possível, garantindo, então, ciclos fechados e a sua reintegração ao sistema econômico. Ademais, uma abordagem embasada no contexto acima supracitado contribui para uma redução significativa de impactos ambientais promovendo a sustentabilidade.

Na literatura existem diversos métodos de deslignificação voltados para o pré-tratamento de materiais lignocelulósicos, que podem ser aplicados à PM, a fim de promover a remoção da lignina por meio da dissolução de fragmentos produzidos pela quebra das ligações químicas (Masarin, 2010, Zhang *et al.*, 2016, Santos *et al.*, 2016).

Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi a investigação de um novo método de deslignificação para a palha de milho (PM), visando o fracionamento dos constituintes lignocelulósicos: holocelulose, hemicelulose e celulose, a partir do estudo de condições experimentais baseadas nas variáveis massa de NaOH, volume de etanol (70% INPM) e volume de H₂O₂ (50%).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Deslignificação por meio de um delineamento estatístico

O método de deslignificação proposto para obtenção de holocelulose do material lignocelulósico foi a oxidação alcalina em meio alcóolico, *Oxiorganosolv*, utilizando peróxido de hidrogênio. De acordo com a metodologia proposta, a deslignificação é realizada utilizando solução de peróxido de hidrogênio, etanol e hidróxido de sódio

que realizará a degradação oxidativa da lignina. Para a realização, foram realizados os ensaios considerando as variáveis apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Planejamento para o processo de deslignificação da palha de milho.

Amostra	NaOH (g)	C ₂ H ₅ OH(mL)	H ₂ O ₂ (mL)
C1	0.4	10.0	2.50
C2	0.4	10.0	5.00
C3	0.4	20.0	2.50
C4	0.4	20.0	5.00
C5	0.6	6.6	3.75
C6	0.6	15.0	1.65
C7	0.6	15.0	5.85
C8	0.6	15.0	3.75
C9	0.6	23.4	3.75
C10	0.8	10.0	2.50
C11	0.8	10.0	5.00
C12	0.8	20.0	2.50
C13	0.8	20.0	5.00

Primeiramente foi solubilizado o hidróxido de sódio em etanol. Posteriormente, foi adicionado de 16,5 a 60 mL de peróxido de hidrogênio (50% v/v) junto com a palha de milho triturada e deixado em temperatura de 20 a 70 °C para reação durante o período de 30 min. Em seguida, o material sólido que representa a holocelulose foi lavado com 200 mL de água destilada e ao sólido foi adicionado 75 mL de solução de hidróxido sódio 17,5% (m/v), o qual foi deixado reagir em um período de 10 min e posteriormente filtrado. O resíduo sólido que corresponde a fração de celulose foi lavado e neutralizado e o líquido obtido da filtração que corresponde as hemiceluloses solubilizadas foi precipitada utilizando etanol (96%).

2.2 Obtenção do teor de lignina

Com relação a obtenção e quantificação de lignina presente na palha de milho foi utilizado o método de Klason, isto é, para 01 grama de celulose foi adicionado 15 mL de ácido sulfúrico 75% (m/m), em seguida, a dissolução da solução seguida de um repouso por 02 horas, após isto, foi acrescentado 560 mL de água destilada, seguida de um refluxo com agitação durante 4 horas e a uma temperatura de 150°C. Como produto, obteve-se uma solução com polissacarídeos hidrolisados, que foi filtrada a vácuo e o material retido no filtro (lignina) foi seca a estufa a 100°C por 12h. Para o experimento utilizou-se o procedimento padrão TAPPI 222 om-98 (VIEIRA *et al.*, 2007).

Para a determinação do teor de lignina insolúvel presente após o processo de deslignificação realizou-se a diferença entre o peso do filtro com o resíduo após a filtração e o peso do filtro antes da filtração, conforme a equação sugerida por RIBEIRO *et al.*, 2017.

2.3 Obtenção da massa molar viscosimétrica

O viscosímetro de Cannon Fenske é utilizado para analisar o tempo que um líquido leva para escoar por gravidade através de um tubo capilar de raio e comprimento conhecidos, de um receptáculo superior de volume definido para um segundo receptáculo de volume inferior (ALMEIDA *et al.*, 1995). Para realizar o teste, aproximadamente 0,12 g de celulose foram dissolvidos em 8,0 mL de etileno diamina cúprica em agitação, e a mistura foi transferida para o bulbo do viscosímetro. O viscosímetro foi então imerso em uma cuba de vidro com água a 25 °C, e a mistura foi deixada em repouso por 5 minutos para equilibrar a temperatura da mistura com a água. Com o auxílio de uma pipeta de borracha e um cronômetro, foi analisado o tempo de escoamento da mistura entre as marcas capilar superior e inferior no viscosímetro.

Para os cálculos das viscosidades relativas (η_r), foram utilizados o tempo gasto pelo escoamento da mistura do solvente com a celulose (t) e o tempo da mistura do solvente sem a celulose (t₀). A partir dos valores obtidos na viscosidade relativa, é possível calcular a viscosidade específica (η_{sp}). A viscosidade intrínseca [η] é determinada através da viscosidade específica, da concentração da mistura (C) e de uma constante (b), conforme representado na Equação de Huggins (Knaus e Bauer-Heim, 2003). Utilizando a viscosidade intrínseca e duas constantes (K = 0,75 e a = 1/0,905) relativas ao polímero, temperatura e solvente, é possível determinar a massa molecular (M_v) pela Equação de Mark-Kuhn-Houwink-Sakurada (Knaus e Bauer-Heim, 2003).

2.3 Caracterização por análise termogravimétrica e por Raios-X

A análise termogravimétrica foi realizada em equipamento Shimadzu DTG-60H, aquecendo até 600 °C, com velocidade de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio a 50 cm³ min⁻¹. A caracterização estrutural foi realizada por difração de raios X (DRX) utilizando um difratômetro Shimadzu (Modelo 6000, radiação K α , λ = 1,5406 Å) com tensão de 40 kV, corrente de 30 mA, a 2 θ min⁻¹ de 5°

a 40°.

2.4 Análise dos dados com IBM SPSS Statistics 29.0 e Origin 2008

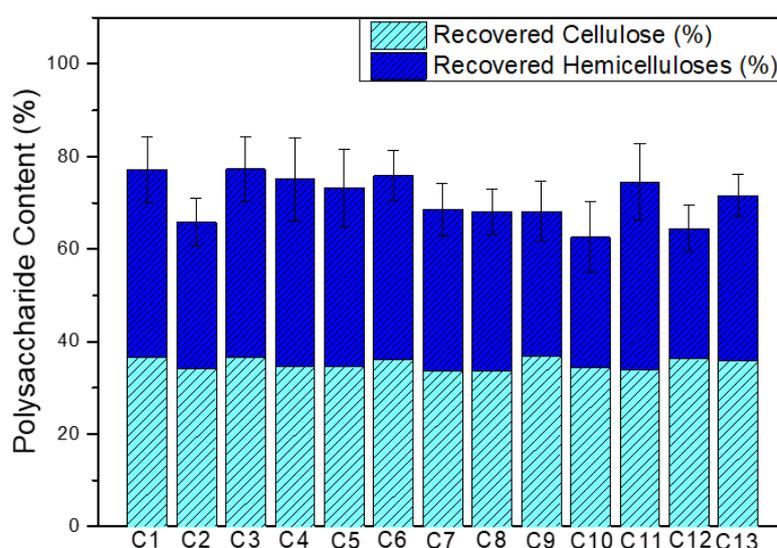
A análise dos dados foi realizada por meio do software IBM SPSS Statistics 29.0. Os experimentos pré-tratamento e hidrólise enzimática foram realizados em triplicata e os resultados relatados como média e desvio padrão. A correlação entre a variável dependente da resposta (peso molecular viscosimétrico médio, teor de lignina remanescente e temperatura) – e o sistema reacional – independente (NaOH, $C\bar{M}_v$, H_2SO_4 e H_2O_2) – foi avaliada por meio da correlação do método de Pearson. As diferenças nos dados obtidos com a hidrólise enzimática foram determinadas por meio da análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5%. O ajuste dos dados foi feito com o software Origin 2008.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Proporções da Holocelulose

Os dados obtidos das frações de celulose e hemiceluloses presentes na Palha de Milho (PM) após o processo de deslignificação foram comparados e apresentados na Figura 1.

Figura 1: Rendimento da extração de polissacarídeos da palha de milho por extração oxidativa com peróxido de hidrogênio em meio alcoólico básico.



A composição química da PM não tratada é importante como parâmetro inicial para avaliar o efeito do pré-tratamento. A composição da PM não tratada era de 19,0% \pm 2,0 lignina Klason. Os constituintes lignocelulósicos foram determinados pelo método do clorito ácido, que revelou 33,9% \pm 2,0 de celulose e 39,8% \pm 1,2 de hemiceluloses.

3.2 Teor de lignina e Massa Molar viscosimétrica

Uma das vantagens do presente método proposto de fracionamento e recuperação de celulose e hemiceluloses é a realização do processo de deslignificação, geralmente a etapa mais drástica, sem a necessidade de equipamentos específicos para controle de agitação, temperatura e pressão, uma vez que é processada sem a necessidade de energia, ao contrário de outros estudos (Luo et al, 2022; Zhang e Wu, 2022, Fang et al., 2018). A palha de milho foi analisada sob uma ampla faixa de teor de glicerol (40–100% em peso) em diferentes temperaturas de pré-tratamento (100–220 °C) no trabalho de Luo et al. 2022. Zhang e Wu investigaram o pré-tratamento de peróxido alcalino assistido por moinho de bolas. Fang et al. 2018 usaram palha de milho foi tratada com condições ideais de pré-tratamento combinado: 2% de NaOH a 80 °C tratado 2 h combinado com pH 9 inicial na concentração de ozônio de 78 mg/mL tratado 25 min. A este respeito, a variação de temperatura mostrada na Tabela 2 de 48 a 76 °C pode ser atribuída à interação de solventes que causa o aquecimento do sistema. Essa condição ocorre principalmente na presença de etanol e H₂O₂ (Tabela 3), devido ao desenvolvimento de reações exotérmicas.

Tabela 2: Quantificação da lignina presente na celulose após o processo e deslignificação.

	NaOH: C ₂ H ₅ OH: H ₂ O ₂ (m/v/v)	Temperatura (°C)	\bar{M}_v (g/mol)	Lignina Residual (%)
C1	0.4:10:2.5	66.5 \pm 2.1	52744	6.60 \pm 0.7

C2	0.4:10:5	69 ± 1.4	49886	7.45 ± 0.6
C3	0.4:20:2.5	48 ± 1.0	55877	9.93 ± 2.5
C4	0.4:20:5	58 ± 1.0	58685	9.63 ± 1.8
C5	0.6:6,6:3.75	75 ± 1.4	62812	9.75 ± 1.1
C6	0.6:15:1.65	52.5 ± 0.7	62181	1.99 ± 1.1
C7	0.6:15:5.85	68 ± 1.0	72763	6.82 ± 1.1
C8	0.6:15:3.75	68 ± 1.0	75074	3.11 ± 0.8
C9	0.6:23.4:3.75	51.5 ± 0.7	70099	4.28 ± 1.0
C10	0.8:10:2.5	68 ± 1.0	38304	7.64 ± 0.6
C11	0.8:10:5	69 ± 1.4	65495	2.76 ± 1.0
C12	0.8:20:2.5	53 ± 1.4	75371	13.57 ± 0.6
C13	0.8:20:5	62 ± 1.0	76329	12.63 ± 1.1
PM não tratada	-	-	-	19.00 ± 1.7

Tabela 3. Coeficiente de correlação de Pearson

	Lignin	NaOH	C ₂ H ₅ OH	H ₂ O ₂	\bar{M}_v	Temperatura
Lignina	1	-.519**	-.432*	-.447*	.069	-.120
NaOH		1	.440*	.440*	.361	.124
Etanol			1	.380*	.466*	-.823**
H ₂ O ₂				1	.287	.439*
\bar{M}_v					1	-.156
Temperatura						1

Nota: ** indica correlação extremamente significativa entre os parâmetros (p<0,01),

* indica correlação significativa entre os parâmetros (p<0,05).

Foram determinados para avaliar a degradação da cadeia polimérica durante o pré-tratamento *Oxiorganosolv*. Observou-se que o reagente etanol foi associado à degradação da cadeia polimérica e, conseqüentemente, à variação de (Tabela 3), com ampla variação de 39500 a 76817 g $\bar{M}_v \bar{M}_v$ mol⁻¹. Souza et al. (2015) obtiveram celulose extraída da palha de milho com 107870 g \bar{M}_v mol⁻¹ e relataram que este é um dos parâmetros que influenciam propriedades como solubilidade e boa estabilidade durante o manuseio. Guan et al. (2021) realizaram a determinação da massa molecular viscosimétrica em celulose extraída de PM por pré-tratamento com sais de

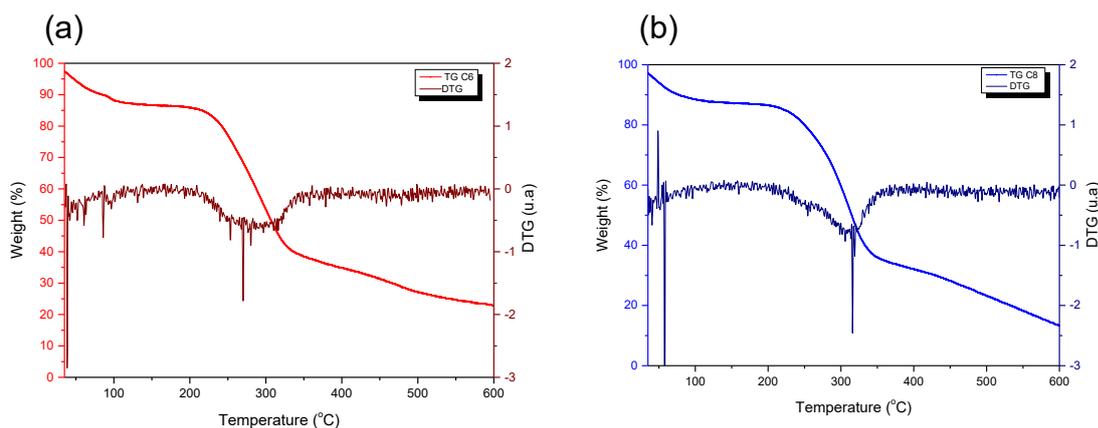
Brometo de Lítio (LiBr) para posterior hidrólise ácida de PM e obtiveram 9,3% de rendimento de celulose.

3.3. Caracterização por Análise Termogravimétrica e por Raios-x

A análise termogravimétrica proporciona uma variação instantânea da massa da amostra em função da temperatura. Portanto, a investigação da tolerância térmica das amostras após o pré-tratamento é necessária, visto que a celulose serve como precursora de açúcares monoméricos na hidrólise enzimática.

As curvas de decomposição térmica da celulose PM após pré tratamento são apresentadas na Figura 2 do material suplementar e podem ser divididas em três etapas. A primeira perda de massa ocorreu por volta de 100 °C, o que pode ser atribuído à perda de água. Seguiu-se a segunda etapa, correspondente à decomposição do material celulósico. A terceira etapa ocorreu por volta de 335°C e acima, onde ocorre a carbonização dos produtos degradados em cinzas. Dados de termogravimetria derivada (DTG) mostram que a temperatura de degradação ocorreu em aproximadamente 280 oC para C6 e 310 oC para C8. De acordo com Baksi et al. (2019), quando a biomassa é submetida a etapas de pré-tratamento, ela pode sofrer despolimerização das cadeias de celulose de sua matriz, o que pode ser identificado pela diminuição da temperatura de degradação do material.

Figura 2: Curvas de decomposição térmica da celulose PM após pré-tratamento



Os difratogramas de DRX das amostras PM C6 e C8 não tratadas (Figura 3, material suplementar) apresentaram picos centrados em $2\theta = 15,8-16,5^\circ$, $21,6-22,6^\circ$ e $24,5^\circ$, respectivamente. Segundo Ventura-Cruz et al. (2020), esses valores podem ser atribuídos aos planos cristalográficos (110), (200) e (004), respectivamente. Todos esses planos são característicos da celulose tipo I, que é a celulose natural. Os

ângulos de difração consistentes ao longo do processo de extração sugeriram que a estrutura da celulose permanece inalteradas.

4. Conclusões

O pré-tratamento *Oxiorganosolv* de PM promoveu o rompimento da ligação lignina-celulose sem perdas significativas na quantidade de celulose e hemiceluloses, atingindo nível mínimo de lignina de 2%. A vantagem mais importante da metodologia proposta foi ser realizada à temperatura ambiente apenas com a temperatura monitorada e não utilizar qualquer tipo de aquecimento ou reator.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo auxílio de participação coletiva em eventos pelo Edital 13/2023 processo (PCE-00336- 24) e bolsas concedidas. A Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.; SILVA, J. P. M.; SIQUEIRA, A.; FREJLICH, J. Medida de Viscosidade pelo Método de Cannon Fenske: Um Experimento Didático. Revista Brasileira de Ensino de Física, v. 17, n. 4, p. 279, 1995.

Baksi, S., Sarkar, U., Saha, S., Ball, A.K., Kuniyal, J.C., Wentzel, A., Birgen, C., Preisig, H.A., Wittgens, B., Markussen, S., 2019. Studies on delignification and inhibitory enzyme kinetics of alkaline peroxide pre-treated pine and deodar saw dust. Chem. Eng. Process. 143, 107607. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.107607>

CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO ADMINISTRADOR SUMAC. Brasil deve produzir 299,27 milhões de toneladas de grãos na safra 2023/2024. Brasília-DF: , 2024. (Nota técnica). Disponível em:

<<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5615-brasil-deve-produzir-299-27-milhoes-de-toneladas-de-graos-na-safra-2023-2024>>.

Fang, S., Wang, W., Tong, S., Zhang, C., Liu, P., 2018. Evaluation of the Effects of Isolated Lignin on Cellulose Enzymatic Hydrolysis of Corn straw Pretreatment by NaOH Combined with Ozone. *Molecules*. 23, 1495. <https://doi.org/10.3390/molecules23061495>

Guan, M., Liu, Q., Xin, H., Jiang, E., Ma, Q., 2021. Enhanced glucose production from cellulose and corn 2 stover hydrolysis by molten salt hydrates pretreatment. *Fuel Process. Technol.* 215, 106739. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2021.106739>

Luo, H., Gao, L., Xie, F., Shi, Y., Zhou, T., Guo, Y., Yang, R., Bilal, M., 2022. A new L-cysteine-assisted glycerol organosolv pretreatment for improved enzymatic hydrolysis of corn straw. *Bioresour. Technol.* 363, 127975. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127975>

MASARIN, F. Estudo da degradação de lignina iniciada por metabólicos extracelulares extraídos de cultivos de *Ceriporiopsis subvermispora*. **Tese (Teses de Doutorado - Conversão de biomassa) - Universidade Federal de São Paulo**, 2010. <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97131/tde-27092012-111546/en.php>>

RIBEIRO, E. A. M. Lignocelulósicos nos processos de purificação de biodiesel por via úmida utilizando flocculantes renováveis e processo de separação com membranas e celulose regenerada. 2017. 147 f. **Tese (Doutorado em Biocombustíveis) – Universidade Federal de Uberlândia**, Uberlândia, 2017. <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2017.105>.

SANTOS, R.; MELLO, J. A.; CARASCHI, J. C.; VENTORIM, G.; PEREIRA, F. A. Polpação kraft e kraft/aa da madeira pré-hidrolisada de híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *grandis*. **Ciência Florestal**, v. 26, p. 1281-1290, 2016.

Souza, E.E., Vale, R.S., Vieira, J.G., Ribeiro, S.D., Rodrigues Filho, G., Marques, F.A., Assunção, R.M.N., Meireles, C.S., Barud, H.S., 2015. Preparação e caracterização de membranas de celulose regenerada a partir da celulose extraída de resíduos agroindustriais para aplicação em processos de separação. *Quím. Nova*. 38, 202–208. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140299>

SOUZA, F.R. B. Síntese e caracterização de hemiceluloses catiônicas, a partir do reaproveitamento da palha de milho. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de Uberlândia, 2012. < <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/17364> >

Ventura-Cruz, S., Flores-Alano, N., Tecante, A., 2020. Preparation of microcrystalline cellulose from residual Rose stems (*Rosa* spp.) by successive delignification with alkaline hydrogen peroxide. *Int. J. Biol. Macromol.* 155, 324–329. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.222>

VIEIRA, R. G. P.; RODRIGUES FILHO, G.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; MEIRELES, C. S.; VIEIRA, J. G.; DE OLIVEIRA, G. S. Synthesis and characterization of methylcellulose from sugar cane bagasse cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 182-189. 2007 < <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150163>. >

KNAUS, S.; BAUER-HEIM, B. Synthesis and properties of anionic cellulose ethers: influence of functional groups and molecular weight on flowability of concrete. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, n. 4, p. 383-394, 2003.

Zhang, H., Wu, J., 2022. Statistical optimization of aqueous ammonia pretreatment and enzymatic saccharification of corn straw for enhancing sugars production. *Environ. Technol. Innov.* 26, 102238. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102238>

ZHANG, K.; PEI, Z.; WANG, D. Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and biochemicals: a review. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 199, p. 21-33, 2016. Elsevier BV. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.102>. >

ABSTRACT

This study investigated a new pre-treatment (PT) for corn straw (PM), a lignocellulosic material, involving the fractionation of lignocellulosic constituents: holocellulose, hemicellulose and cellulose. Initially, PT involved delignification, with 13 experimental conditions based on variations in NaOH mass, ethanol volume (70% INPM) and H₂O₂ volume (50%). The characterization of PM not subjected to the TAPPI 235 om-00 procedure, to obtain holocellulose and hemicellulose contents, while pre-treated samples were demonstrated regarding lignin content and viscosimetric molar mass. Quantification of lignin content determined the best delignification points, maximizing lignin removal and preserving hemicelluloses and cellulose. Additional characterizations were carried out by thermogravimetric analysis and X-rays, confirming the stability of the structure. Data were analyzed with IBM SPSS Statistics 29.0 and Origin 2008. PT Oxi-Oxyorganosolv prevented lignin to 2% with minimal loss of cellulose and hemicellulose.

Keywords: Pre-treatment, *Oxiorganosolv*, delignification, lignin