

Extração e caracterização da lignina proveniente do pré-tratamento de biomassa para produção de etanol de 2ª geração

Extraction and characterization of lignin from the pre-treatment of biomass for 2nd generation ethanol production

Káren Bes¹ , Juliana Silva Lemões² ,
Cláudia Fernanda Lemons e Silva^{1*} , Sérgio Delmar dos Anjos e Silva³ 

RESUMO

A biomassa destaca-se como um dos poucos recursos disponíveis com potencial de desenvolvimento de biorrefinarias para a inclusão de rotas alternativas sustentáveis na produção de energia e produtos químicos. A lignina é um subproduto do pré-tratamento da biomassa na produção de etanol de segunda geração, basicamente composta de cadeias de carbono e que pode ter alto valor agregado. Contudo, tem sido tradicionalmente utilizada para geração de energia por queima direta. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a influência do pH na precipitação do licor negro, variando o pH de 1 a 7, bem como caracterizar os componentes da sua estrutura química para possíveis usos futuros. Após a obtenção da massa precipitada, procedeu-se às análises espectrofotométricas no infravermelho e no ultravioleta, além da quantificação de fenóis totais, nas frações sólidas e líquidas das ligninas provenientes dos diferentes pH. Os resultados demonstram que as maiores concentrações de lignina foram obtidas nos menores valores de pH. As análises instrumentais indicaram diferenças nos componentes de cada lignina, sugerindo que sua composição química é influenciada pela alteração do pH. Ainda, a concentração total de fenóis no sobrenadante das amostras foi menor em pH mais baixos, confirmando que há maiores concentrações desses na fração sólida das ligninas.

Palavras-chave: lignina; licor negro; biorrefinaria; etanol lignocelulósico.

ABSTRACT

Biomass appears to be one of the few resources available with the potential of developing bio refineries for the inclusion of sustainable alternative routes in the production of energy and chemicals. Lignin is a 2nd generation by-product of biomass pre-treatment on ethanol production, and consists of carbon chains, which can have a high added value. However, lignin is being considered just for energy generation. Therefore, the aim of this study was to investigate the influence of pH in the precipitation of black liquor through its acidification of in different pH values (1-7), and to characterize the components of its chemical structure for possible future use. After determining the precipitated mass, a spectrophotometric analysis was carried out on infrared and ultraviolet, along with the quantification of total phenolic compounds in the solid and liquid fractions of lignin derived from different pH ranges. The results showed that the higher lignin concentrations were obtained at lower pH values. The instrumental analysis indicated significant differences in each lignin's components, suggesting that its chemical composition is influenced by pH change. To conclude, the total concentration of phenolic compounds in the supernatant of the samples was lower at lower pH ranges, indicating that there are higher concentrations of these in lignin's solid fraction.

Keywords: lignin; black liquor; biorefinery; lignocellulosic ethanol.

INTRODUÇÃO

Uma vez que as reservas naturais de petróleo e gás natural são finitas — e em razão da crescente preocupação com o aquecimento global —, torna-se evidente a necessidade da inserção de rotas alternativas que utilizam recursos renováveis para a produção de energia, materiais e polímeros (DUTTA *et al.*, 2012). Diante desse cenário, a biomassa surge

como um recurso com alto potencial de desenvolvimento de cadeias produtivas energéticas e químicas sustentáveis (SANDUN *et al.*, 2006).

Além de serem produzidas em larga escala, as biomassas lignocelulósicas agroindustriais são matérias-primas de grande interesse industrial, visto que podem ser utilizadas na produção de diversos produtos pela indústria química, não somente o etanol (SILVA, 2010).

¹Universidade Federal de Pelotas - Pelotas (RS), Brasil.

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre (RS), Brasil.

³Embrapa Clima Temperado - Pelotas (RS), Brasil.

*Autor correspondente: lemonsclau@gmail.com

Recebido: 11/11/2015 - Aceito: 20/09/2017 - Reg. ABES: 156352

Ela é basicamente composta de cadeias poliméricas como a celulose, a hemicelulose e a lignina (LAURICHESSE; AVÉROUS, 2014), todas com grande potencial como matéria-prima para a produção de combustíveis, polímeros funcionais e insumos químicos (DUVAL; LAWOKO, 2014).

Nesse sentido, um sistema similar a uma refinaria de petróleo é proposto e conceituado como biorrefinaria. Segundo Sandun *et al.* (2006), o principal objetivo de uma biorrefinaria é transformar tais materiais biológicos abundantes em produtos úteis usando uma combinação de tecnologias e processos. Ainda, o conceito de biorrefinaria baseia-se na transformação economicamente viável para atingir a utilização completa dos componentes de biomassa lignocelulósica, empregando o máximo possível de tecnologias verdes (TOLEDANO; SERRANO; LABIDI, 2013).

A lignina é o segundo polímero natural mais abundante da Terra, representando cerca de 30% de todo o carbono orgânico não fóssil, atrás apenas da celulose (LAURICHESSE; AVÉROUS, 2014). Ela constitui uma fração de 10–25% da biomassa lignocelulósica e é definida como material amorfo e polifenólico derivado da polimerização desidrogenativa de três estruturas fenilpropanoides: álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool p-cumarílico, que dão origem a um vasto número de grupos funcionais e ligações, levando à formação de um polímero complexo e tridimensional (SANTOS; COLODETTE; QUEIROZ, 2013; WATKINS *et al.*, 2015).

Devido à sua complexidade e variedade estrutural nos diversos tipos de planta, a lignina é considerada basicamente um resíduo da produção de celulose, papel e etanol e utilizada largamente na combustão para produção de energia (SOUSA-AGUIAR *et al.*, 2014). Dessa forma, o grande desafio consiste na exploração e no desenvolvimento de usos nobres dos subprodutos do etanol de segunda geração, como a lignina. A valorização desses produtos é um fator-chave que garantirá a viabilidade econômica e a expansão em grande escala do bioetanol de segunda geração, bem como a implantação de biorrefinarias.

Na Embrapa Clima Temperado são desenvolvidos projetos para a produção de etanol de segunda geração com biomassas de arundo e arroz. Como resíduo do desenvolvimento desses projetos, na etapa de pré-tratamento da biomassa é gerado o licor negro, que, por sua vez, é rico em lignina e considerado com grande potencial de uso como matéria-prima para diferentes produtos com alto valor agregado. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do pH na precipitação do licor negro, bem como caracterizar a biomassa precipitada e o sobrenadante do processo de extração.

METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado na Central Analítica da Embrapa Clima Temperado, sediada em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. O licor negro utilizado para a precipitação da lignina é proveniente do processo de

pré-tratamento alcalino para hidrólise enzimática, com a finalidade de obtenção de etanol de segunda geração. As biomassas utilizadas nesse processo foram a planta inteira de arundo (*Arundo donax* L.) e a palha do arroz, submetidas a diferentes condições dos parâmetros “temperatura”, “tempo” e “concentração de hidróxido de sódio”. As etapas de pré-tratamento das biomassas foram realizadas separadamente, porém os resíduos de licor negro foram misturados para acondicionamento até a realização dos ensaios. Esse resíduo é gerado em quantidade considerável no laboratório, aproximadamente 10 litros de licor negro por quilograma das biomassas de arundo e palha de arroz, em conjunto. A Figura 1 exemplifica as etapas de desenvolvimento da pesquisa.

Obtenção da lignina

Um volume de 30 mL do licor negro foi tratado com diferentes volumes de ácido sulfúrico (50% v.v⁻¹) para ajuste de diferentes valores de pH (1–7). Após a adição do ácido, o licor negro foi centrifugado a 15.000 rpm por 10 min em centrífuga de alta velocidade modelo Sorvall RC-5B. Por fim, o precipitado foi separado do sobrenadante e seco a 40°C até massa constante, em estufa De Leo TLK48 (MUSSATTO; FERNANDES; ROBERTO, 2007; ZHU, 2013; WATKINS *et al.*, 2015).

A massa de lignina precipitada, em gramas, foi obtida a partir da sua pesagem em balança analítica Marte AY-220, após secagem. Em seguida, as massas obtidas foram comparadas ao pH utilizado para a precipitação.

Análise no infravermelho

As análises no infravermelho (IR) foram realizadas com o objetivo de identificar os grupos funcionais nas macromoléculas da lignina

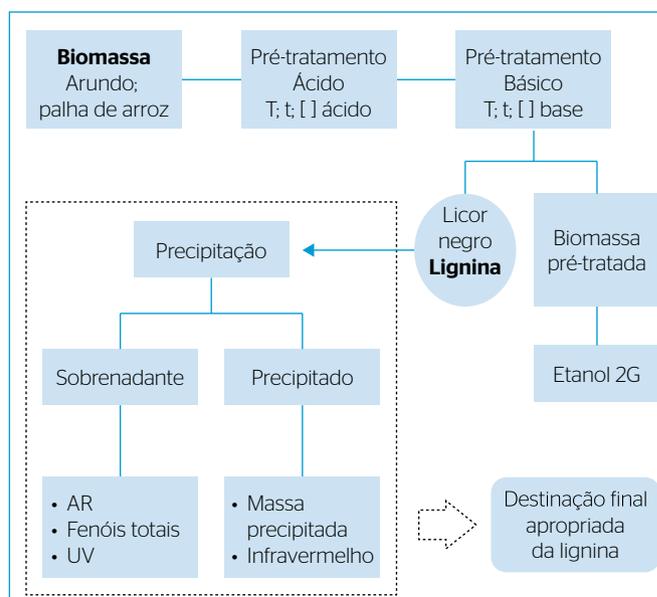


Figura 1 – Fluxograma do desenvolvimento do estudo.

(AZADFAR *et al.*, 2015). Aproximadamente 5 mg das amostras de lignina precipitadas em pH 2, pH 5 e pH 7 foram utilizados para a análise, em duplicata. Os espectros no IR foram obtidos pelo equipamento IRPrestige-21, da marca Shimadzu. A análise foi feita em transmitância, na faixa de 400–4.000 cm^{-1} , utilizando 40 *scans*.

Análise de fenóis

A concentração de compostos fenólicos totais no sobrenadante foi determinada pelo método Folin-Ciocalteu adaptado de Swain e Hillis (1959), com o objetivo de avaliar a influência do pH na quantidade final de fenóis no sobrenadante (FUKUSHIMA; HATFIELD, 2003).

Inicialmente foi pipetado 0,250 mL da amostra, diluído em 4 mL de água ultrapura. Depois, os tubos de ensaio foram homogeneizados pelo Agitador de Soluções AP59 e uma amostra padrão (branco) contendo 0,250 mL de metanol foi preparada. Em seguida foi adicionado 0,250 mL do reagente Folin-Ciocalteu (0,25N), e a solução foi agitada e deixada para reagir por 3 minutos. Por fim, foi adicionado 0,5 mL de carbonato de sódio (1N Na_2CO_3). Após ser agitada, a solução foi deixada para reagir por 2 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro térmico Genesys 10 UV, no comprimento de onda 725 nm. A concentração de compostos fenólicos totais foi calculada com base em curva padrão usando ácido clorogênico em sete diferentes concentrações.

Análises no ultravioleta

Foi realizada uma varredura no espectrofotômetro UV-160 Shimadzu, entre os comprimentos de onda 200 nm e 400 nm do sobrenadante.

Avaliação dos resultados

Os dados foram analisados pelo *software* Statistical Analysis System (SAS), no qual a significância estatística foi confirmada pelo teste F e o teste de comparação de médias foi realizado pelo modelo Duncan's Multiple Range.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Influência do pH na eficiência de remoção da lignina

Com o objetivo de obter a máxima eficiência na precipitação da lignina do licor negro, as dosagens de ácido sulfúrico variaram em ampla faixa. Inicialmente, o licor negro foi caracterizado com pH inicial próximo a 14 e, após a utilização do método proposto, obtiveram-se aproximadamente 12,3 g.l^{-1} de lignina em pH 1 e 11,07 g.l^{-1} em pH 2. Não houve diferença estatística entre os valores obtidos nesses pH, portanto, pode-se optar pelo uso do pH 2, garantindo eficiência no processo, já que são utilizados 67% a menos de ácido sulfúrico (50% v.v⁻¹) (Figura 2).

Mussato, Fernandes e Roberto (2007) alcançaram em seus estudos 81,43% de remoção em pH 2,31, obtendo massa de 16,4 g.l^{-1} . Essa variação entre os resultados pode ser explicada tanto pelas diferenças nas características das biomassas utilizadas (DUVAL; LAWOKO, 2014), quanto pelas diferenças nas condições do processo de obtenção de ligninas, que variaram em temperatura, tempo e concentração dos reagentes (LAURICHESSE; AVÉROUS, 2014).

A Figura 2 apresenta a influência do pH na precipitação de lignina, constatando-se que somente os pH 5 e 6 são estatisticamente diferentes dos demais, em intervalo de 95% de confiança. Ainda, a partir do pH 6 há uma drástica mudança na concentração de lignina, com o pH influenciando fortemente na fração precipitada de lignina, proporcionando aumento de 4,45 g.l^{-1} para 8,78 g.l^{-1} , ou seja, acréscimo de aproximadamente 96%. Concordando com os resultados obtidos, Garcia *et al.* (2009) apontam crescimento de 11,62 para 41,16% de precipitados quando o pH decai de 6,5 para 4,55, na extração de lignina da planta *Miscanthus sinensis*.

De acordo com Fengel e Wegener (1989), a lignina é altamente solúvel em meio alcalino e sua solubilidade no licor negro diminui drasticamente quando há redução de pH, evidenciando que em pH menor há maior precipitação de lignina. Neste estudo, não foram verificadas diferenças significativas para a maioria dos valores de pH, apenas para os pH 5 e 6, revelando tendência à redução da precipitação na faixa de pH ligeiramente ácida e indicando que em pH mais baixo a eficiência da precipitação é maior.

Contudo, na precipitação em pH 7 foram obtidos resultados semelhantes aos dos pH inferiores. Uma vez que, nesta análise, somente a massa precipitada foi quantificada, pode-se ponderar que outros compostos residuais do processo de geração do etanol 2G se precipitaram na forma sólida em pH 7. Essa consideração é comprovada nas análises instrumentais posteriores, que identificam concentrações maiores de compostos fenólicos e carbônicos, típicos de ligninas, naquelas precipitadas em pH menores.

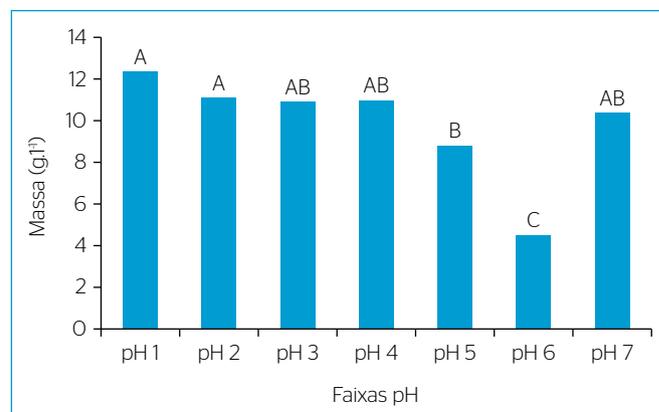


Figura 2 – Gráfico da influência do pH na precipitação de lignina.

Como consequência da remoção da lignina, nota-se a clarificação das amostras. A Figura 3 apresenta a variação da coloração do sobrenadante da lignina em diferentes pH, verificando-se que a lignina proveniente do licor negro, denominada Bruta, é marrom-escura e que a coloração é visivelmente alterada quando há redução dos valores de pH. A literatura indica que a cor escura no licor negro é derivada dos grupos funcionais cromóforos, incluindo quininas e grupos carbônicos, ácidos carboxílicos, radicais hidroperoxila, grupos fenólicos, entre outros, gerados durante a degradação da lignina e que são solúveis em meio alcalino. (FENGEL; WEGENER, 1989; CLARK; LUQUE; MATHARU, 2012; MUSSATTO; FERNANDES; ROBERTO, 2007).

Assim, é importante destacar que a partir do pH 4 houve maior remoção da cor do licor negro, antes com pH próximo a 14. Verificou-se que, à medida que o pH se acidificou de 4 para 1, a coloração se tornou mais clara, comprovando a forte influência da remoção da lignina na coloração do licor. Garcia *et al.* (2009) e Mussato, Fernandes e Roberto (2007) obtiveram resultados similares em seus estudos, nos quais a remoção da cor do licor negro proveniente da espécie *Miscanthus sinensis* e do bagaço de malte ocorreu principalmente em faixas de pH menores que 5.

Evidencia-se, assim, que a remoção da lignina deve ocorrer preferencialmente entre os pH 1 e 4, intervalo no qual há maior possibilidade de precipitação dos grupos fenólicos e carbônicos, principais componentes com valor econômico no mercado.

Influência do pH na composição das ligninas obtidas

As ligninas são substâncias tridimensionais, constituídas por unidades de estrutura de origem fenilpropanoídica, diferenciando-se entre si pela composição e pela natureza das ligações intermonoméricas adquiridas durante o processo de polimerização (FU *et al.*, 2015). Por meio da espectroscopia por IR, a composição química da parede celular da lignina pode ser elucidada de forma eficiente, de modo qualitativo (AZADFAR *et al.*, 2015).

Nos espectros mostrados na Figura 4, analisaram-se as vibrações referentes a três ligninas distintas. A primeira, a segunda e a terceira linha são correspondentes às ligninas advindas da precipitação em pH 2, pH 5 e pH 7, respectivamente. Por meio da análise gráfica, foram

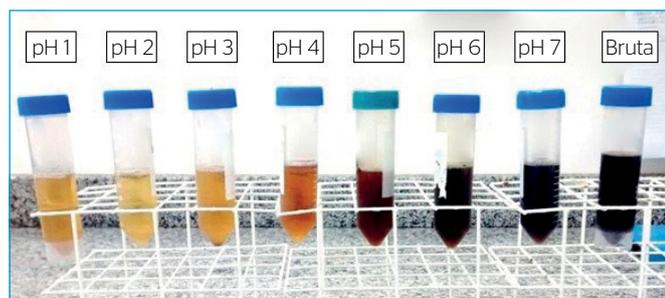


Figura 3 - Coloração do sobrenadante da lignina em diferentes valores de pH.

observadas as bandas características de ligninas: em 3.400 cm^{-1} , bandas de hidroxilas (OH); em 1.610 cm^{-1} , ligações duplas de carbono em anel aromático; em 1.510 cm^{-1} , vibração característica de aromáticos; em 2.900 cm^{-1} , ligações simples de carbono e hidrogênio alifáticas; e em 1.710 cm^{-1} , ligações duplas de carbono e oxigênio (LABAT, 2008; WATKINS *et al.*, 2015). A análise no IR revela ainda a existência de relação direta entre a absorvância de cada sinal e o teor de metoxila das ligninas correspondentes, principalmente dos álcoois cumarílico, coniferílico e sinapílico, basicamente em relação à variação dos sinais entre 1.320 e 820 cm^{-1} (ABREU, 1997).

Com a análise da Figura 4, pode-se observar que ambas as ligninas possuem as unidades guaiacila (G) e siringila (S) entre os comprimentos 1.320 e 820 cm^{-1} , que podem apresentar proporções diferentes de acordo com a origem da biomassa (AZADFAR *et al.*, 2015). Ainda, segundo Santos, Colodette e Queiroz (2013), as ligninas de gramíneas compreendem G-S-H, porém existem ligninas de espécies de gimnospermas e de gramíneas que apresentam abundância de G e S.

Torna-se evidente que as ligninas provenientes de pH 2 e pH 5 são distintas em comparação à lignina advinda da precipitação em pH 7 (Figura 4). Além disso, a intensidade do sinal no comprimento de onda 1.100 cm^{-1} , responsável pela deformação no plano C-H aromático e interligada às unidades S, é claramente distinta entre os pH. Em pH 5, essa banda aparece mais acentuada do que em pH 7 e pH 2.

Consequentemente, os resultados dos espectros no IR confirmam que os compostos e as ligações químicas da lignina são afetados diretamente pelo pH, o que estabelece diferenças em suas estruturas.

Por sua natureza aromática, a lignina absorve fortemente na região do ultravioleta (UV), sendo os espectros de diferentes preparações de

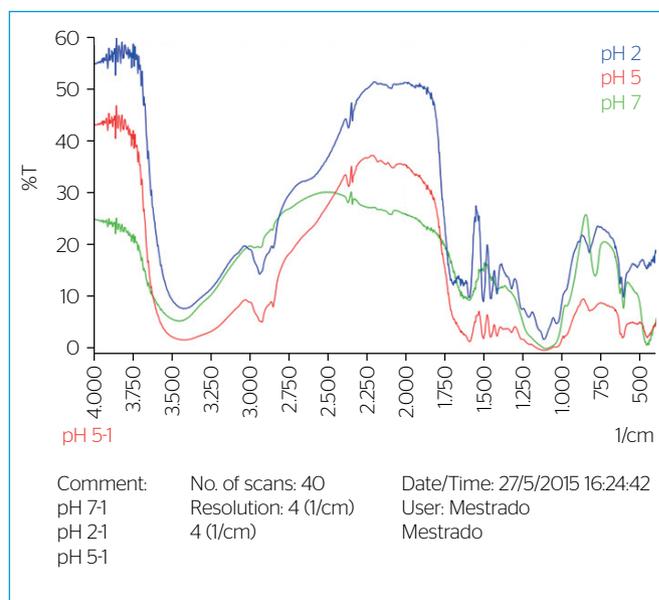


Figura 4 - Gráfico dos espectros no infravermelho sobrepostos das ligninas precipitadas em diferentes valores de pH.

pH geralmente bastante semelhantes. Ainda, a absorção em 280 nm é geralmente utilizada para avaliar a concentração de ligninas em solução (LUPOI *et al.*, 2015).

Os espectros no UV de todas as amostras de lignina apresentam, além da banda de extinção de alcanos por volta de 207 nm, uma banda ao redor de 280 nm (Figura 5), típica de estruturas aromáticas fenólicas presentes na lignina, que possuem substituintes metoxila, além de uma cadeia carbônica em posição *para* ao grupo OH fenólico. Essa banda também pode estar relacionada a estruturas do tipo α -carbonil fenólicas (LABAT, 2008). Nota-se ainda, na Figura 5, que o sinal é mais intenso nas bandas de pH 5, pH 6 e pH 7, comprovando que, com o aumento da adição de ácido sulfúrico, a lignina passa do estado solúvel para a fração sólida, uma vez que a análise foi realizada no sobrenadante.

Após a identificação pelo UV, quantificaram-se os fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu (Figura 6). Determinou-se a quantidade

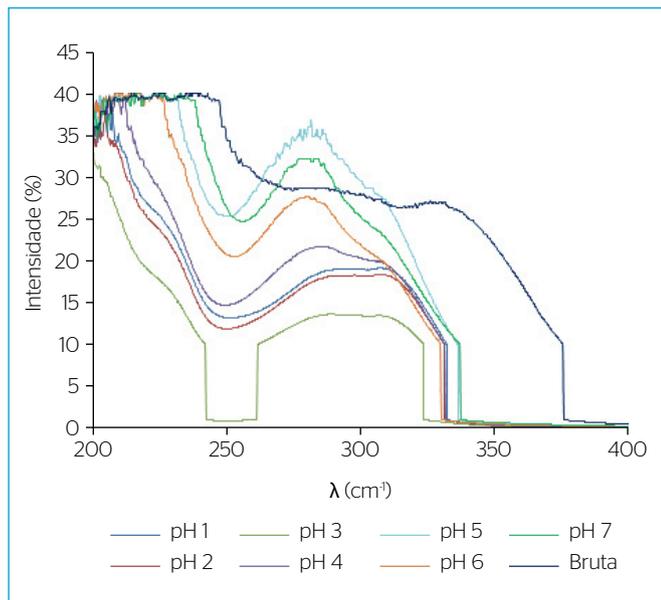


Figura 5 - Gráfico dos espectros da varredura no ultravioleta do sobrenadante da lignina em diferentes valores de pH.

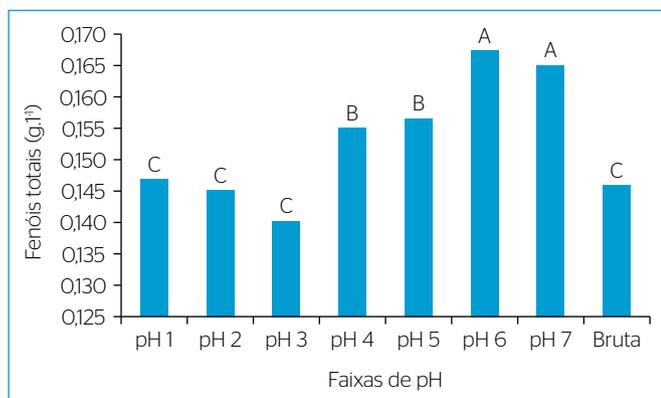


Figura 6 - Concentração de fenóis totais nos sobrenadantes em diferentes valores de pH.

de fenóis totais após a precipitação da lignina em diferentes pH. Inicialmente, pode-se verificar que no sobrenadante das ligninas em pH 7 e pH 6 há maior quantidade de fenóis totais (aproximadamente 0,165 g.l⁻¹) do que em pH menores.

Esses resultados indicam que, com a acidificação dos sobrenadantes, os fenóis totais precipitam-se e concentram-se na fração sólida da lignina, enquanto, em meio alcalino, permanecem solúveis. Logo, essa análise é correlacionada com as análises realizadas no UV. As bandas mais intensas, em 280 nm, que representam compostos fenólicos, foram identificadas em pH 5, pH 6 e pH 7, ou seja, na fração líquida das amostras, comprovando a eficiência de caracterização dos métodos propostos.

Os resultados obtidos por Mussato, Fernandes e Roberto (2010) revelam que, em relação à precipitação dos ácidos fenólicos, todos os compostos foram removidos em alguma proporção, sugerindo que os compostos derivados da lignina são afetados de diferentes formas pela alteração do pH do licor. Entretanto, no presente estudo não foram avaliados ácidos fenólicos específicos, apenas os totais, confirmando, pela soma desses, que as maiores precipitações ocorrem em pH ácidos.

Ainda, o estudo das estruturas fenólicas da lignina é importante pelo grande potencial desse polímero para ser usado como adesivo em substituição ao fenol (AMEN-CHEN; PAKDEL; ROY, 2001). Contudo, a lignina bruta proveniente do licor negro mantém concentrações de fenóis totais estatisticamente iguais às de pH mais ácidos. Esse resultado está possivelmente associado ao pH próximo a 14. Estudos avançados, porém, são necessários para avaliar os mecanismos de precipitação dos fenóis em meios alcalinos e ácidos.

CONCLUSÕES

A definição das melhores condições de precipitação e o conhecimento dos componentes precipitados são de grande interesse para o aproveitamento da lignina, visando à valorização desse resíduo com potencial para utilização na indústria química, tornando-se um coproduto de alto valor agregado no processo de produção do etanol de segunda geração.

O pH exerce grande influência na precipitação da lignina, e em pH mais ácidos a precipitação é facilitada.

Após a caracterização inicial da lignina, recomendam-se estudos aprofundados para delinear o uso apropriado das frações obtidas. Ainda, análises de cromatografia ou ressonância magnética nuclear (RMN) podem ser realizadas para definir os grupos fenólicos presentes nas diferentes ligninas.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Embrapa Clima Temperado.

REFERÊNCIAS

- ABREU, H.S. (1997) Estimativa por Infravermelho da Concentração da Unidade Estrutural B-O-4 em Ligninas de Angiospermas Tropicais. *Química Nova*, v. 20, n. 6, p. 592-598. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421997000600005>
- AMEN-CHEN, C.; PAKDEL, H.; ROY, C. (2001) Production of monomeric phenols by thermochemical conversion of biomass: a review. *Bioresource Technology*, v. 79, n. 3, p. 277-299.
- AZADFAR, M.; GAO, A.; BULE, M.; CHEN, S. (2015) Structural characterization of lignin: A potential source of antioxidants guaiacol and 4-vinylguaiacol. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 75, p. 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.12.049>
- CLARK, J.; LUQUE, R.; MATHARU, A. (2012) Green Chemistry, Biofuels, and Biorefinery. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, v. 3, n. 1, p. 183-207. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-062011-081014>
- DUTTA, S.; DE, S.; ALAM, I.; ABU-OMAR, M.M.; SAHA, B. (2012) Direct conversion of cellulose and lignocellulosic biomass into chemicals and biofuel with metal chloride catalysts. *Journal of Catalysis*, v. 288, p. 8-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcat.2011.12.017>
- DUVAL, A.; LAWOKO, M. (2014) A review on lignin-based polymeric, micro- and nano-structured materials. *Reactive and Functional Polymers*, v. 85, p. 78-96. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.017>
- FENGEL, D.; WEGENER, G. (1989) *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. Berlin: John Wiley and Sons.
- FU, L.; MCCALLUM, S.; MIAO, J.; HART, C.; TUDRYN, G.J.; ZHANG, F.; LINHARDT, R.J. (2015) Rapid and accurate determination of the lignin content of lignocellulosic biomass by solid-state NMR. *Fuel*, v. 141, p. 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.10.039>
- FUKUSHIMA, R.; HATFIELD, R. (2003) Composição fenólica de ligninas dioxano determinadas pela reação oxidativa com o nitrobenzeno. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 3, p. 373-378. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2003000300006>
- GARCIA, A.; TOLEDANO, A.; SERRANO, L.; EGÜÉS, I.; ALRIOIS, M.G.; MARIN, F.; LABIDI, J. (2009) Characterization of lignins obtained by selective precipitation. *Separation and Purification Technology*, v. 68, n. 2, p. 193-198. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2009.05.001>
- LABAT, G.A.A. (2008) *Estudo cinético da oxidação de ligninas obtidas da palha e do bagaço de cana e aplicações de lignina de bagaço em resinas à base de materiais naturais*. 96 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2008.
- LAURICHESSE, S.; AVÉROUS, L. (2014) Chemical modification of lignins: towards biobased polymers. *Progress in Polymer Science*, v. 39, n. 7, p. 1266-1290. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.11.004>
- LUPOI, J.; SINGH, S.; PARTHASARATHI, R.; SIMMONS, B.; HENRY, R. (2015) Recent innovations in analytical methods for the qualitative and quantitative assessment of lignin. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 49, p. 871-906. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.091>
- MUSSATTO, S.; FERNANDES, M.; ROBERTO, I. (2007) Lignin recovery from brewer's spent grain black liquor. *Carbohydrate Polymers*, v. 70, n. 2, p. 218-223. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.03.021>
- MUSSATTO, S.; FERNANDES, M.; ROBERTO, I. (2010) Influência do pH na precipitação da lignina obtida por polpação soda do bagaço de malte. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 6., 2010, Universidade do Vale do Paraíba. *Anais...*
- SANDUN, F.; ADHIKARI, S.; CHANDRAPAL, C.; MURALI, N. (2006) Biorefineries: Current Status, Challenges, And Future Direction. *Energy Fuels*, v. 20, n. 4, p. 1727-1737. <https://doi.org/10.1021/ef060097w>
- SANTOS, F.; COLODETTE, J.; QUEIROZ, H. de. (2013) *Bioenergia e Biorefinaria: Cana-de-açúcar e Espécies Florestais*. Os Editores. 551 p.
- SILVA, N.L.C. (2010) *Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose*. 109 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- SOUSA-AGUIAR, E.F.; APPEL, L.G.; ZONETTI, P.C.; FRAGA, A.C. (2014) Some important catalytic challenges in the bioethanol integrated biorefinery. *Catalysis Today*, v. 234, p. 13-23. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.cattod.2014.02.016>
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. (1959) The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.: the quantitative analysis of phenolic constituent. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 10, n. 1, p. 63-68. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
- TOLEDANO, A.; SERRANO, L.; LABIDI, J. (2013) Extraction and revalorization of olive tree (*Olea europea*) pruning lignin. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 44, n. 4, p. 552-559. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2013.01.009>
- WATKINS, D.; NURUDDIN, M.; HOSUR, M.; TCHERBI-NARTEH, A.; JEELANI, S. (2015) Extraction and characterization of lignin from different biomass resources. *Journal of Materials Research and Technology*, v. 4, n. 1, p. 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2014.10.009>
- ZHU, W. (2013) *Equilibrium of lignin precipitation: the effects of pH, temperature, ion strength and wood origins*. Dissertação (Forest Products and Chemical Engineering) - Department of Chemical and Biological Engineering, Chalmers University Of Technology, Suécia.

