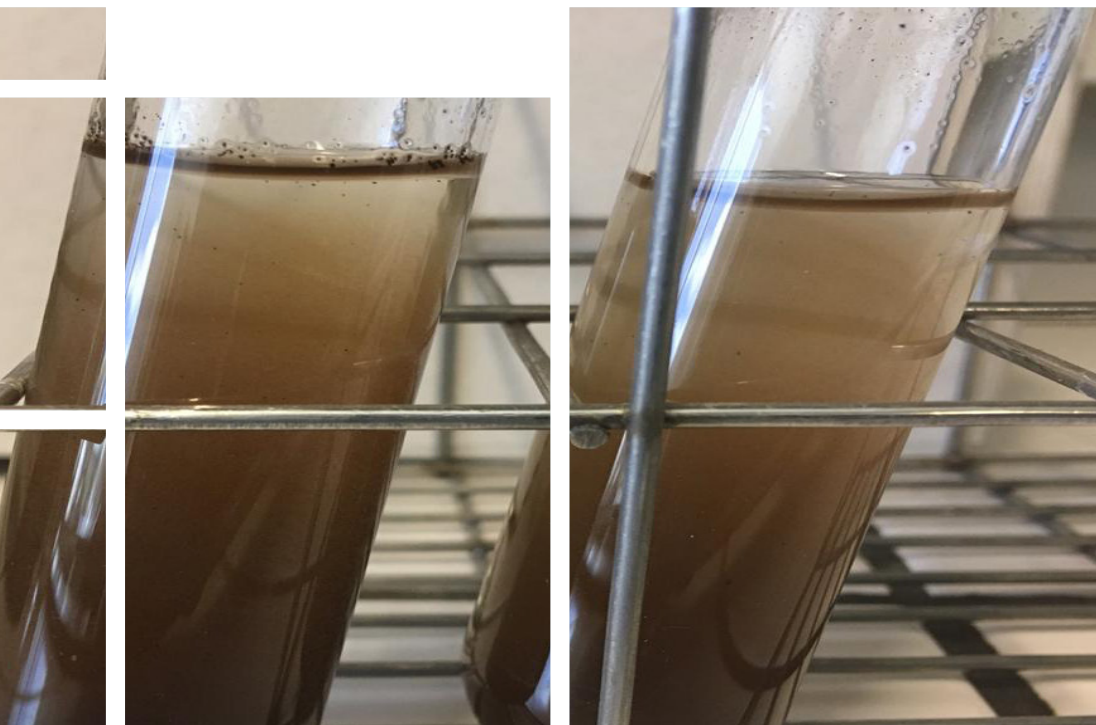


Degradação catalítica de lignina
kraft para determinação do potencial
antioxidante para fins industriais



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroenergia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
27**

**Degradação catalítica de lignina
kraft para determinação do potencial
antioxidante para fins industriais**

*Sílvio Vaz Jr.
Ana Elisa Barreto Matias
Bruno Leite Sampaio*

***Embrapa Agroenergia
Brasília, DF
2021***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na

Embrapa Agroenergia
Parque Estação Biológica (PqEB), s/nº
Ed. Embrapa Agroenergia
Caixa Postal 40315
CEP 70770-901, Brasília, DF
Fone: +55 (61) 3448-1581
Fax: +55 (61) 3448-1589
www.embrapa.br/agroenergia
www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agroenergia

Presidente
Patrícia Verardi Abdelnur

Secretária-Executiva
Lorena Costa Garcia Calsing

Membros
Adilson Kenji Kobayashi
André Pereira Leão
Dasciana de Sousa Rodrigues
Emerson Léo Schultz
Felipe Brandão de Paiva Carvalho
Thais Fabiana Chan Salum
Wesley Gabriel de Oliveira Leal

Supervisão editorial e revisão de texto
Luciane Chedid Melo Borges

Normalização bibliográfica
Iara Del Fiaco Rocha (CRB-1/2169)

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Maria Goreti Braga dos Santos

Foto da capa
Wesley Gabriel de Oliveira

1ª edição
Publicação digital (2021)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroenergia

Vaz Júnior, Sílvio.

Degradação catalítica de lignina kraft para determinação do potencial antioxidante para fins industriais / Sílvio Vaz Júnior, Ana Elisa Barreto Matias, Bruno Leite Sampaio. – Brasília, DF : Embrapa Agroenergia, 2021.

PDF (22 p.). – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agroenergia, ISSN 2177-0395 ; 27)

1. Biomassa. 2. Recurso energético. 3. Celulose. I. Matias, Ana Elisa Barreto. II. Sampaio, Bruno Leite. III. Título. IV. Série.

CDD 660.63

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	12
Conclusões.....	20
Agradecimentos.....	20
Referências	21

Degradação catalítica de lignina kraft para determinação do potencial antioxidante para fins industriais

Sílvio Vaz Jr.¹

Ana Elisa Barreto Matias²

Bruno Leite Sampaio³

Resumo – A biomassa lignocelulósica apresenta-se como uma fonte promissora de matéria-prima renovável que, por meio dos processos de conversão, leva à obtenção de produtos de alto valor agregado, como derivados fenólicos. O presente trabalho apresenta um processo de conversão catalítica da lignina Kraft a produtos com potencial aplicação como agentes antioxidantes. As reações de hidrogenólise foram realizadas utilizando como solventes orgânicos metanol, etanol, isopropanol ou isopropanol:ácido fórmico (1:1 v/v). Para cada solvente, quatro catalisadores de metais de transição foram testados (Pd/CaCO₃, Pd/C, Ru/C e In). Através das análises por UHPLC-ESI(+)-MS foram identificadas 21 substâncias nas frações isoladas, com composição predominantemente fenólica. Em função da eficiência das substâncias fenólicas como antioxidantes, a capacidade de eliminação do radical DPPH foi avaliada, verificando-se que 43,75% das amostras obtidas exibiram um elevado potencial antioxidante, superior à da lignina kraft e ao do antioxidante comercial BHT.

Termos para indexação: química verde, catálise heterogênea, biomassa lignocelulósica.

¹ Químico, doutor em Química Analítica, pesquisador da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

² Química, doutora em Química Inorgânica, bolsista de pós-doutorado da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

³ Farmacêutico, doutor em Ciências Farmacêuticas, bolsista de pós-doutorado da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

Catalytic degradation of kraft lignin to determine the antioxidant potential for industrial purposes

Abstract – The lignocellulosic biomass presents itself as a promising source of renewable raw material that, through conversion processes, leads to obtaining products with high added value, such as phenolic derivatives. The present work presents a process for the catalytic conversion of Kraft lignin into products with potential application as industrial antioxidant agents. The hydrogenolysis reactions were performed using methanol, ethanol, isopropanol or isopropanol: formic acid (1: 1 v/v) as organic solvents. For each solvent, four transition metal catalysts were tested (Pd/CaCO₃, Pd/C, Ru/C and In). Through analyzes by UHPLC-ESI(+)- MS, 21 substances were identified in the isolated fractions, with a predominantly phenolic composition. Based on the efficiency of phenolic substances as antioxidants, the ability to eliminate the DPPH radical was evaluated, verifying that 43.75% of the samples obtained exhibited a high antioxidant potential, higher than that of kraft lignin and the commercial antioxidant BHT.

Index terms: green chemistry, heterogeneous catalysis, lignocellulosic biomass.

Introdução

Sua alta heterogeneidade e uma consequente grande complexidade química tornam a biomassa vegetal a matéria-prima para vários produtos finais, como energia, alimentos, produtos químicos e materiais, dos quais podemos destacar quatro tipos de biomassa vegetal de grande interesse econômico: oleaginosas, sacarídeas (ou açucaradas), amiláceas e lignocelulósicas.

A biomassa lignocelulósica é a mais abundante em comparação às demais, pois é formada por celulose, hemicelulose e lignina, que são os três componentes da parede celular e da estrutura morfológica das plantas - celulose e hemicelulose são polímeros polissacarídicos, e a lignina é uma macromolécula fenólica. A fração lignínica corresponde de 15% a 30% m/m (Kleinert; Barth, 2008; Kang et al., 2013). Essa lignina é largamente obtida como subproduto do branqueamento da madeira para a produção de celulose e papel, podendo-se destacar o processo kraft como o mais utilizado pela indústria. Seu principal uso é na geração de energia elétrica para a planta de produção.

A lignina é um polímero complexo e heterogêneo, com estrutura polifenólica que apresenta potenciais propriedades antioxidantes naturais (Li et al., 2018). Os três precursores das três unidades monoméricas – os monolignóis – são os álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico, que dão origem às subunidades fenilpropânicas p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S), interconectadas por ligações C-C e C-O (Kim et al., 2013; Li et al., 2018).

A composição química da lignina a torna uma excelente matéria-prima para a obtenção de diversos compostos químicos com aplicação industrial, como resinas fenólicas, biocombustíveis e produtos da química fina (Kloekhorst et al., 2015; Wu et al., 2019). A lignina possui alto potencial como matéria-prima de aditivos sustentáveis para combustíveis líquidos, devido à sua natureza aromática, uma vez que seus alquilfenóis podem ser usados como antioxidantes (Kleinert; Barth, 2008). Uma quantidade substancial de lignina é produzida como subproduto nas indústrias de etanol e papel e celulose; no entanto, essa lignina deve passar por processos de conversão antes de se transformar em compostos de maior interesse industrial e, consequentemente, maior valor agregado (Kumar et al., 2009).

Vários estudos foram conduzidos buscando-se aumentar o valor de mercado da lignina, e suas metodologias de conversão envolvem abordagens como a pirólise (Zhang et al., 2016; Figueiredo et al., 2018), a hidordesoxigenação (Kim et al., 2013; Kloekhorst et al., 2015), a oxidação (Tarabanko; Tarabanko, 2017; Vangeel et al., 2018) e a hidrogenólise (Zhao et al., 2018; Yang et al., 2019).

A reação de hidrogenólise tem se mostrado uma maneira eficaz de melhorar a aplicabilidade industrial da lignina, o que pode ser alcançado usando compostos doadores de hidrogênio ou gás hidrogênio combinado com catalisadores adequados, como óxidos e sais de metais, como os de transição, que atuam como catalisadores heterogêneos (Kleinert; Barth, 2008; Konnerth et al., 2015).

A despolimerização solvolítica envolve a conversão da lignina por solvólise e ação térmica (Wu et al., 2019). Estudos anteriores apontaram que aproximadamente 5-19% m/m de fenóis monoméricos podem ser obtidos a partir de ligninas por processos de despolimerização catalítica realizados sob temperatura amena, abaixo de 400 °C. Álcoois como metanol e etanol são comumente empregados como solventes para o craqueamento, ou rompimento, da estrutura da lignina em função da sua alta solubilidade no meio reacional e à sua capacidade de doar hidrogênio (Kim et al., 2013; Kloekhorst et al., 2015).

Zakzeski et al. (2012) demonstraram que a redução de lignina solubilizada na mistura etanol/água, com o uso de catalisadores de metais de transição suportados como Ru/C, Pd/C, Pt/Al₂O₃ e Ni/SiO₂, a 225 °C e 30 bar com gás hidrogênio, produziu até 6% m/m dos hidrocarbonetos aromáticos usando Pt/Al₂O₃. Wu et al. (2019) usaram diferentes soluções binárias como solvente, como água-metanol (WM), água-etanol (WE), água-dioxano (WD), metanol-dioxano (MD), etanol-dioxano (ED), etanol-dioxano-ácido fórmico, e observaram que a combinação de etanol, dioxano e ácido fórmico (10:10:2, v/v) produziu monômeros fenólicos com rendimento de até 22,4% m/m, mesmo em temperaturas abaixo de 300 °C e com tempo reacional de 2 horas.

Dessa forma, o presente trabalho avaliou o uso da lignina como matéria-prima renovável, por meio da conversão da lignina kraft em produtos químicos fenólicos por processos catalíticos. Durante a hidrogenólise da lignina, a influência dos principais parâmetros da reação (tipo de catalisador e tipo de

solvente) foi investigada a fim de se obterem produtos com potencial atividade antioxidante capazes de capturar radicais livres, os quais possam ser utilizados para fins industriais, como na estabilização do biodiesel.

Material e Métodos

Materiais

A lignina kraft utilizada como matéria-prima neste trabalho foi obtida de híbridos das espécies *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cedida pelo laboratório de papel e celulose da Universidade Federal de Viçosa (Brasil). Os catalisadores comerciais 10% Pd/CaCO₃, 10% Pd/C, 5% Ru/C e In (99,9%) foram obtidos da Sigma-Aldrich. Metanol, etanol e isopropanol foram fornecidos pela Vetec (Brasil). Ácido fórmico, paranisalaldeído sulfúrico, acetonitrila, n-hexano, acetato de etila, brometo de potássio, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil e clorofórmio foram também fornecidos pela Sigma-Aldrich. O paranisalaldeído sulfúrico utilizado foi da Merck. Todos os reagentes neste estudo eram de grau analítico e foram usados sem purificação prévia. Acetonitrila, ácido fórmico e metanol utilizados para as análises cromatográficas possuíam grau LC-MS e foram fornecidos pela Merck. Água grau HPLC (18MΩ cm) foi obtida utilizando um Sistema de Purificação Milli-Q (Millipore Co., Bedford, MA, USA).

Metodologia

As reações de hidrogenólise foram realizadas em um multirreator 5000 (Parr), sob agitação constante, utilizando um banho de resfriamento (modelo RE620S, Lauda) e solventes orgânicos com diferentes capacidades de doação de hidrogênio (metanol, etanol, isopropanol ou isopropanol:ácido fórmico, 1:1). Em cada experimento, 3,0 g de lignina (10% m/m) e 0,21 g de catalisador (7% m/m) foram adicionados a 30,0 mL do solvente. O reator foi purgado com hidrogênio e pressurizado a 15 bar, à temperatura ambiente. O reator foi, então, aquecido a 175 °C. Os experimentos foram realizados com lignina como substrato catalítico. Nesses testes, a amostra de lignina reagiu sozinha (branco) e com a adição de catalisador por um tempo de reação de 6

horas. Para cada solvente, quatro catalisadores foram testados (Pd/CaCO₃, Pd/C, Ru/C e In), conforme descrito na Tabela 1. As reações também foram testadas sob as mesmas condições; porém, sem a adição de catalisador, para os solventes metanol, etanol, isopropanol e isopropanol:ácido fórmico.

Tabela 1. Desenho experimental do craqueamento catalítico com catalisadores heterogêneos para cada um dos 16 experimentos.

Solvente					
Experimentos ^a		Metanol	Etanol	Isopropanol	Isopropanol: ácido fórmico (1:1)
Catalisador	Pd/CaCO ₃	1	5	9	13
	Pd/C	2	6	10	14
	Ru/C	3	7	11	15
	In	4	8	12	16
					Número do experimento

^aOs experimentos foram conduzidos à temperatura de 175 °C, sob pressão de 15 bar e tempo de reação de 6 horas.

Após a reação, o vaso do reator foi resfriado até a temperatura ambiente com água gelada. Posteriormente, a mistura foi extraída e seca em concentrador a vácuo (CentriVap®, Labconco) para remoção do extrato.

A lignina kraft, após craqueamento, foi analisada por espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando-se um espectrômetro Affinity-1 (Shimadzu), na faixa de 400-4000 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹, a 64 varreduras, usando pastilhas de KBr (Vetec) contendo 1% m/m da amostra finamente moída.

A cromatografia de camada delgada (CCD) foi realizada para avaliar o perfil cromatográfico das amostras e determinar o solvente apropriado para procedimentos de separação, realizou-se CCD em duas diferentes misturas de solventes: clorofórmio:metanol e clorofórmio:metanol:ácido fórmico, empregando paranisalaldeído sulfúrico como revelador.

As amostras obtidas do craqueamento catalítico foram analisadas por cromatografia em fase líquida de alta performance utilizando-se um HPLC-RID/RAD, modelo 20A (Shimadzu) com uma coluna Zorbax C-18 (4,6 mm x 250 mm, 5 μ m de diâmetro de partícula, Agilent); utilizou-se uma solução aquosa de 20% v/v de acetonitrila como fase móvel. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna: 40 °C; volume de injeção: 6 μ L; fluxo da fase móvel: 0,6 mL min⁻¹.

A composição detalhada dos produtos foi determinada utilizando-se cromatografia líquida de ultra alta performance – equipamento UHPLC (Shimadzu) – acoplada a um espectrômetro de massas Q-TOF modelo maXis 4G (Bruker Daltonics), com fonte de ionização por *elektrospray* – ESI; coluna Shim Pack VP-ODS C18 (5 μ m de tamanho de partícula x 200 nm de tamanho de poro x, Shimadzu). As amostras foram dissolvidas e diluídas, com concentração de 2 mg mL⁻¹; volume de injeção: 0,3 μ L; fluxo de fase móvel 0,4 mL min. A curva gradiente da fase móvel foi conduzida com água deionizada e ácido fórmico 0,05% (fase A) e acetonitrila 75%, metanol 25% e ácido fórmico 0,1% (fase B). O programa estabelecido foi: 0 min: 25% fase B; 10 min: 50% fase B; 25 min: 60% fase B; 27 min: 100% fase B; 30 min: 100% fase B; 32 min: 55% fase B; 36 min: 25% fase B.

No espectrômetro de massas, foram utilizados os modos de ionização positivo (ESI(+)-MS) e negativo (ESI(-)-MS) com o uso do formiato de sódio a 1 mmol L⁻¹ para calibração. Os dados obtidos foram processados no *software Data Analysis 4.2* (Bruker Daltonics). As fórmulas moleculares dos compostos com massa/carga (m/z) de interesse foram obtidas utilizando-se o *software SmartFormula*, e a identificação dos íons foi realizada com auxílio dos bancos de dados KEGG e CheBI.

A atividade de eliminação de radicais livres foi conduzida com o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), usando o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) com modificações. Foram preparadas soluções metanólicas de todas as amostras na concentração de 1 mg mL⁻¹ para posteriores diluições. Cada alíquota das soluções metanólicas das amostras ou padrões (0,1 mL) foi adicionada a uma solução metanólica de DPPH (3,9 mL). A solução controle consistiu em metanol (0,1 mL) adicionado à solução de DPPH (3,9 mL). As amostras foram agitadas e incubadas no escuro por 30 min à temperatura

ambiente e, então, a absorbância foi medida a 517 nm em um espectrofotômetro Lambda 35 (Perkin Elmer).

A concentração de DPPH foi avaliada traçando a curva de calibração de DPPH ($r^2 = 0,995$) variando a concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A atividade antioxidante foi expressa como a porcentagem de atividade de eliminação de radicais e foi calculada a partir da seguinte equação:

$$\text{AA\%} = [(\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1) / \text{Abs}_0] \times 100 \quad (1)$$

Em que: Abs_0 é a absorbância do branco (controle) e Abs_1 a absorbância da substância analisada.

Resultados e Discussão

Para investigar a estrutura das frações de lignina, espectros de FTIR foram registrados. De forma representativa, apresentamos apenas as amostras em metanol (Figura 1). Todos os espectros de FTIR dos extratos obtidos apresentaram as bandas de impressão digital da lignina, com as absorções típicas. As variações encontradas correspondem aos grupos funcionais que constituem as amostras com diferentes catalisadores. Os resultados mostraram distinção nas intensidades das bandas de diferentes subprodutos da lignina. Isso sugere que alguns dos grupos funcionais foram afetados pelo tipo de catalisador empregado, o que já havia sido anteriormente observado (Aadil et al., 2014).

Para todas as amostras, as bandas em 3430 cm^{-1} foram atribuídas à vibração de alongamento OH dos grupos hidroxila. As bandas em 2945 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} podem ser atribuídas ao alongamento CH nos grupos $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2$ (Zhou et al., 2012; Li et al., 2018). A vibração de alongamento característica da carbonila foi observada em 1702 cm^{-1} , estando esta mais pronunciada para subprodutos de reações com o catalisador In em isopropanol.

Bandas correspondentes às vibrações do anel aromático do esqueleto fenil-propano aparecem em 1605 cm^{-1} , 1509 cm^{-1} e 1425 cm^{-1} (Sahoo et al., 2011; Zhang et al., 2011; Zhou et al., 2012). Essas bandas, combinadas com a vibração do anel aromático em 1460 cm^{-1} , foram atribuídas à vibração de deformação C-H dos grupos $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$ no anel aromático e foram observa-

das em todos os espectros, embora a intensidade das bandas seja diferente. A amostra 4 apresenta essas bandas mais intensas, sugerindo um maior grau de substituição nos anéis aromáticos, enquanto é possível observar uma redução nas intensidades das bandas aromáticas para as reações com os catalisadores Ru/C (7) e In (8) em etanol, segundo observações prévias da literatura científica (Faix, 1991; Zhou et al., 2012; Li et al., 2018).

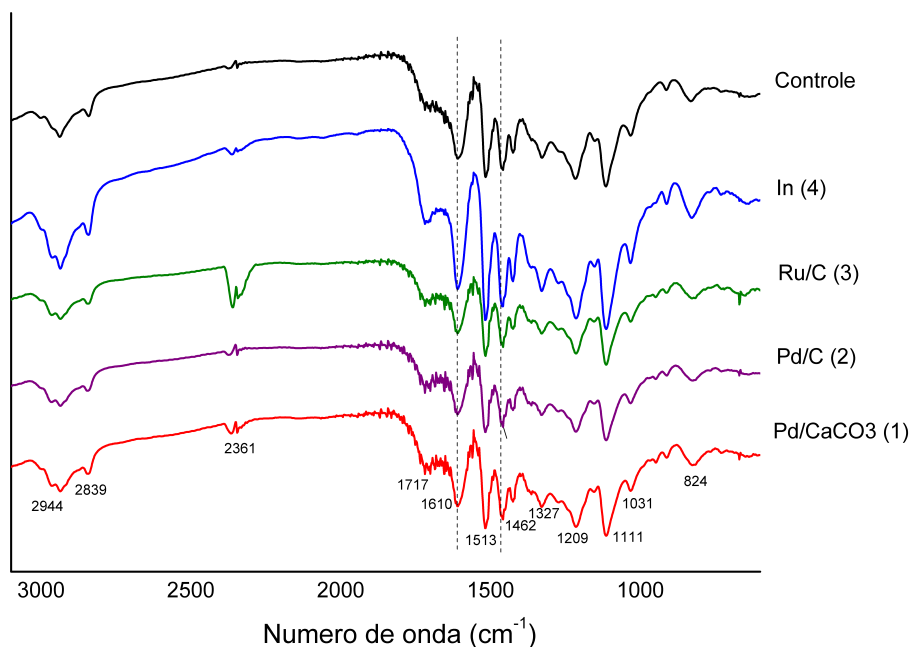


Figura 1. Espectros de FTIR da lignina não craqueada (controle) e dos extratos obtidos da lignina craqueada com diferentes catalisadores.

Em 1330 cm^{-1} , as bandas representaram o alongamento C-O da estrutura siringil (Zhou et al., 2012). As bandas para segmentos C-O-C aparecem em 1215 cm^{-1} . O alongamento C-H da deformação da unidade de fenilpropano é observado a 1115 cm^{-1} . Um sistema de bandas pequenas apresenta um máximo entre 1127 cm^{-1} e 1125 cm^{-1} , característica das ligninas GS (Faix, 1991). Existem pequenos picos em 908 cm^{-1} e 823 cm^{-1} que representam C-H fora do plano para a unidade G e na posição 2 e 6 da unidade S, respectivamente (Sahoo et al., 2011; Zhou et al., 2012).

As amostras separadas por cromatografia foram submetidas à análise de espectrometria de massas no modo positivo e negativo. No entanto, os resultados indicaram que a análise utilizando o modo ESI(+)-MS possui maior intensidade e capacidade de detecção de compostos fenólicos, de modo que esse foi o método escolhido no presente trabalho. Foi determinada a fórmula molecular dos compostos e foram identificadas as prováveis estruturas com auxílio dos bancos de dados KEGG e CheBI, algumas com mais de uma possibilidade estrutural, a partir dos dados obtidos para a razão m/z , correlação entre massa teórica e massa experimental (erro das massas medidas, ppm) e mSigma (relacionado ao perfil isotópico), apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Compostos identificados por UHPLC-ESI(+)-MS nas frações do craqueamento.

Massa real	Massa teórica	Fórmula	Tempo de retenção	M _S	Score	Amostra	Estrutura provável
181,0873	181,0859	C ₁₀ H ₁₃ O ₃	5,823	3,4	40,84	4, 7, 14	coniferyl alcohol; 3,4 hydroxyphenyl lactate; 3,4 dihydroxyphenyl propanoate
197,0810	197,0822	C ₁₀ H ₁₃ O ₄	3,081	20,7	100	1, 18	2,3-dihydroxy-p-cumaric acid; 5-hydroxy coniferyl alcohol;
211,0968	211,0965	C ₁₁ H ₁₅ O ₄	2,910	10,3	100	14, 15	synaphyl alcohol, 3,4 dimethoxyphenyl-propanoic acid; 3,4,5 trimethoxyacetophenone
231,1010	231,1016	C ₁₄ H ₁₅ O ₃	6,838	12,7	100	14, 15	2,6-dimethoxy-4-phenylphenol
237,1118	237,1121	C ₁₃ H ₁₇ O ₄	3,858	10,4	100	11, 14	3 -dimetilallyl-4-hidroxymandelic acid
271,0961	271,0965	C ₁₆ H ₁₅ O ₄	5,767	52,71	100	11	4-[(3-methylbut-2-en-1-yl)oxy]-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one
281,0842	281,0808	C ₁₇ H ₁₃ O ₄	3,708	86,7	100	5, 11	1-acetoxieugenol acetate; 3-methylflavone-8-carboxylic acid
299,0940	299,0914	3,587	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	12,9	100	11	3-[1-(furan-2-yl)-3-oxobutyl]-4-hydroxyc hromen-2-one
301,1080	301,1071	5,667	C ₁₇ H ₁₇ O ₅	360,2	0	2, 3	(2S, 3S) -3,5,7-trihydroxy-6,8-dimethylflavanone

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Massa real	Massa teórica	Fórmula	Tempo de retenção	M _D	Score	Amostra	Estrutura provável
331,1195	331,1176	5,595	C ₁₈ H ₁₉ O ₆	577,1	100	1, 2, 3, 4	methyl 2,5-dihydroxy-4 - [(1S) -1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) prop-2-en-1-yl] benzoate
357,1313	357,1313 (356,126)	C ₂₀ H ₂₁ O ₆	5,328	6	100	4	3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)allyl 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)acrylate
359,1452	359,1489	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	3,858	69,1	100	11	(10S)-1-hydroxy-3-(hydroxymethyl)-10-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]-8-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-10H-anthracen-9-one
361,1652	361,1646	C ₂₀ H ₂₅ O ₆	5,52	19	100	12	3-Benzofuranmethanol, 2,3-dihidro-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxy-1-propenyl)-7-methoxy- dehidrodilconiferol
373,1296	373,1293	C ₂₀ H ₂₁ O ₇	4,371	18	100	10	2-[2-[2-(3,4-dimethoxyphenyl)acetyl]-4,5-dimethoxyphenyl]acetate
384,1453	384,1442	C ₂₁ H ₂₂ NO ₆	3,165	7	78,75	11	1-[2-[(6-oxo-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-3-yl)oxy]acetyl]piperidine-4-carboxylate
401,1608	401,1595	C ₂₂ H ₂₅ O ₇	4,163	6,9	100	1, 2, 3, 4	2-[[[3-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-yl)-4-oxo-6-propan-2-yl-4a,5,6,7,8,8a-hexahydrochromen-7-yl]oxy]acetate

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Massa real	Massa teórica	Fórmula	Tempo de retenção	M ₀	Score	Amostra	Estrutura provável
405,1521	405,1544	C ₂₁ H ₂₅ O ₈	4,869	6,7	45,59	9	Mallatophenone
419,1707	419,1700	C ₂₂ H ₂₇ O ₈	4,163	9,4	100	1, 3	4-[6-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[3,4-c]furan-3-yl]-2,6-dimethoxyphenol
451,1436	451,1398	C ₂₅ H ₂₃ O ₈	C ₂₅ H ₂₃ O ₈	21,3	20,19	2, 4	5-[(E)-2-[(2R,3R)-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl]ethenyl]benzene-1,3-diol
271,0961	271,0965	C ₁₆ H ₁₅ O ₄	5,767	52,71	100	11	4-[(3-methylbut-2-en-1-yl)oxy]-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one

Apartir do material obtido nas reações de hidrogenólise, foram identificados 21 compostos das frações isoladas por meio do método UHPLC-ESI(+)-MS, demonstrando que o método empregado foi eficiente para separar e detectar compostos tipicamente hidrofílicos.

A Tabela 2 revela as fórmulas moleculares dos compostos mais característicos, isolados dos íons específicos obtidos. Os íons correspondem a uma série de derivados fenólicos e oligômeros relacionados às subunidades hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S), obtidos a partir do craqueamento da lignina, conforme o que é exposto na literatura (Banoub et al., 2007; Prothmann et al., 2018).

O resultado da sobreposição dos cromatogramas demonstrou diferenças apreciáveis entre as 20 amostras obtidas, incluindo os brancos. Para as reações em que não foi utilizado catalisador, foi identificado apenas o composto $C_{14}H_{17}O_5$, cujas possibilidades estruturais são álcool trans-coniferílico diacetato ou 1-acetoxieugenol acetato. Os produtos estão distribuídos mais amplamente nas reações em metanol e na presença de catalisador Ru/C. Esse resultado é consistente com estudos anteriores, que relataram que as reações em isopropanol e etanol são menos eficazes do que em metanol (Song et al., 2013).

O tipo de solvente empregado foi o efeito que pareceu exercer maior influência na composição dos produtos formados. Os derivados fenólicos de massa molar menor foram obtidos, principalmente, para as reações em isopropanol:ácido fórmico. O ácido fórmico atua como doador de hidrogênio, uma vez que pode se decompor completamente em hidrogênio e dióxido de carbono sob aquecimento, fornecendo hidrogênios reativos, que favorecem as reações de hidrogenólise (Kleinert; Barth, 2008).

Sabe-se que a eficiência das substâncias fenólicas como antioxidantes depende, em grande parte, de sua estrutura química, orientação reativa e do número de grupos hidroxila ligados ao anel aromático (Paganga et al., 1996). A atividade de eliminação do DPPH dos produtos da hidrogenólise da lignina é apresentada na Figura 3.

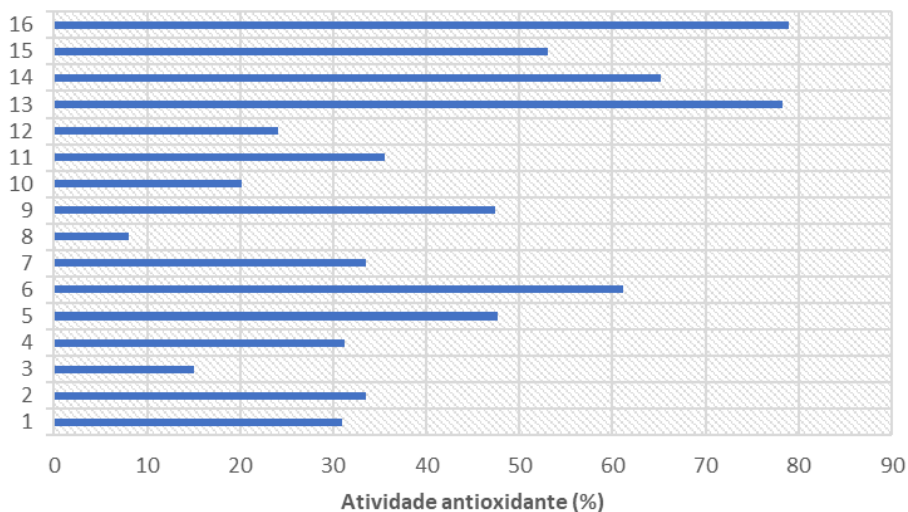


Figura 3. Porcentagem de redução de DPPH das 16 amostras apresentadas na Tabela 1. Cada amostra está expressa em atividade antioxidante (% AA) para a concentração de 100 mg L⁻¹.

Com base nos resultados obtidos, podemos dizer que, como regra geral, as amostras 16 (índio em isopropanol-ácido fórmico; 78,88%), 13 (Pd/CaCO₃ em isopropanol-ácido fórmico; 78,20%), 14 (Pd/C em isopropanol-ácido fórmico; 65,17%), 6 (Pd/C em etanol; 61,12%) e 15 (Ru/C em isopropanol-ácido fórmico; 53,03%) foram as mais efetivas na redução do DPPH. As amostras 13 a 16 foram obtidas de reações empregando isopropanol:ácido fórmico, o que revela que reações de hidrogenólise de lignina nesse solvente favorecem a produção de compostos que podem atuar como antioxidantes. Esses dados são corroborados pelas análises de UHPLC-ESI(+)-MS, que demonstraram que espécies fenólicas com menor massa molar foram obtidas nesse solvente.

Observou-se que a capacidade de eliminação do DPPH das amostras apresentou um elevado potencial da atividade antioxidante. Mais importante ainda foi que a atividade antioxidante das amostras 5, 6, 9, 13, 14, 15 e 16 se mostrou superior à do antioxidante comercial BHT – comumente utilizado para fins industriais –, cuja porcentagem de redução de DPPH foi apresentada por Magalhães et al. (2018) como 40,15% na concentração de 100 mg L⁻¹, seguindo metodologia semelhante. Foi relatado que a capacidade de eliminação do DPPH dos grupos lignina e hidroxila fenólica tem uma correlação positiva (Zhang et al., 2015), o que pode justificar a elevada atividade antioxidante dos produtos de lignina encontrados no presente trabalho.

Conclusões

A lignina Kraft foi degradada por meio de rotas de hidrogenólise usando catalisadores de metais nobres. Após a catálise, o peso molecular médio foi reduzido e novos compostos fenólicos foram produzidos. A análise do UHPLC-MS revelou que os produtos apresentam natureza fenólica. As amostras obtidas em isopropanol:ácido fórmico mostraram-se mais ativas contra o radical DPPH e superiores à lignina kraft e ao antioxidante comercial BHT. O melhor resultado foi obtido com o emprego do catalisador Índio em isopropanol:ácido fórmico (1:1 v/v). Uma caracterização mais detalhada das propriedades dos extratos de lignina obtidos levará ao desenvolvimento de um ou mais compostos antioxidantes para aplicação industrial.

Acreditamos que os resultados obtidos no estudo serão úteis para desenvolver estratégias eficazes para a valorização da lignina.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio financeiro da Capes (Projeto Capes-Embrapa Biorrefinaria de Lignina) e ao Laboratório de Celulose e Papel da Universidade Federal de Viçosa pelo fornecimento da lignina kraft.

Referências

- AADIL, K. R.; BARAPATRE, A.; SAHU, S.; JHA, H.; TIWARY, B. N. Free radical scavenging activity and reducing power of *Acacia nilotica* wood lignin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 220-227, 2014.
- BANOUB, J. H.; BENJELLOUN-MLAYAH, B.; ZIARELLI, F.; JOLY, N.; DELMAS, M. Elucidation of the complex molecular structure of wheat straw lignin polymer by atmospheric pressure photoionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, n. 17, p. 2867-2888, 2007.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- FAIX, B. O. Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy. **Holzforschung**, v. 45, p. 21-28, 1991. Supplement.
- FIGUEIREDO, P.; LINTINEN, K.; HIRVONEN, J. T.; KOSTIAINEN, M. A.; SANTOS, H. A. Properties and chemical modifications of lignin: towards lignin-based nanomaterials for biomedical applications. **Progress in Materials Science**, v. 93, p. 233-269, 2018.
- KANG, S.; LI, X.; FAN, J.; CHANG, J. Hydrothermal conversion of lignin: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 546-558, 2013.
- KIM, J.; OH, S.; HWANG, H.; CHO, T.-S.; CHOI, I.-G.; CHOI, J. W. Effects of various reaction parameters on solvolytical depolymerization of lignin in sub- and supercritical ethanol. **Chemosphere**, v. 93, n. 9, p. 1755-1764, 2013.
- KLEINERT, M.; BARTH, T. Phenols from lignin. **Chemical Engineering and Technology**, v. 31, n. 5, p. 736-745, 2008.
- KLOEKHORST, A.; SHEN, Y.; YIE, Y.; FANG, M.; HEERES, H. J. Catalytic hydrodeoxygenation and hydrocracking of Alcell® lignin in alcohol/formic acid mixtures using a Ru/C catalyst. **Biomass and Bioenergy**, v. 80, p. 147-161, 2015.
- KONNERTH, H.; ZHANG, J.; MA, D.; PRECHTL, M. H. G.; YAN, N. Base promoted hydrogenolysis of lignin model compounds and organosolv lignin over metal catalysts in water. **Chemical Engineering Science**, v. 123, p. 155-163, 2015.
- KUMAR, M. N. S.; MOHANTY, A.; ERICKSON, L.; MISRA, M. Lignin and its applications with polymers. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 3, n. 1, p. 1-24, 2009.
- LI, Z.; ZHANG, J.; QIN, L.; GE, Y. Enhancing antioxidant performance of lignin by enzymatic treatment with laccase. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 2, p. 2591-2595, 2018.
- MAGALHÃES, W. L. E.; MATOS, M. DE; LOURENÇON, T. V. **Metodologia científica: determinação da capacidade antioxidante de lignina pela captura do radical livre DPPH**. Colombo: Embrapa Florestas, 2018. 8 p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 417). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1097607/1/CT4171550finalcomhyperlink.pdf>>. Acesso em: 5 fev. 2021.
- PAGANGA, G.; AL-HASHIM, H.; KHODR, H.; SCOTT, B. C.; ARUOMA, O. I.; HIDER, R. C.; HALLIWELL, B.; RICE-EVANS, C. A. Mechanisms of antioxidant activities of quercetin and catechin. **Redox Report**, v. 2, n. 6, p. 359-364, 1996.
- PROTHMANN, J.; SPÉGEL, P.; SANDAHL, M.; TURNER, C. Identification of lignin oligomers in Kraft lignin using ultra-high-performance liquid chromatography/high-resolution multiple-stage

tandem mass spectrometry (UHPLC/HRMSⁿ). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 29, p. 7803-7814, 2018.

SAHOO, S.; SEYDIBEYOGLU, M. Ö.; MOHANTY, A. K.; MISRA, M. Characterization of industrial lignins for their utilization in future value added applications. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 10, p. 4230-4237, 2011.

SONG, Q.; WANG, F.; CAI, J.; WANG, Y.; ZHANG, J.; YU, W.; XU, J. Lignin depolymerization (LDP) in alcohol over nickel-based catalysts via a fragmentation-hydrogenolysis process. **Energy and Environmental Science**, v. 6, n. 3, p. 994-1007, 2013.

TARABANKO, V. E.; TARABANKO, N. Catalytic oxidation of lignins into the aromatic aldehydes: general process trends and development prospects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 11, p. 2421, 2017.

VANGEEL, T.; SCHUTYSER, W.; RENDERS, T.; SELS, B. F. Perspective on lignin oxidation: advances, challenges, and future directions. **Topics in Current Chemistry**, v. 376, n. 4, p. 1-16, 2018.

WU, Z.; ZHAO, X.; ZHANG, J.; LI, X.; ZHANG, Y.; WANG, F. Ethanol/1,4-dioxane/formic acid as synergistic solvents for the conversion of lignin into high-value added phenolic monomers. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 187-194, 2019.

YANG, W.; LI, X.; DU, X.; DENG, Y.; DAI, H. Effective low-temperature hydrogenolysis of lignin using carbon-supported ruthenium and formic acid as reducing agent. **Catalysis Communications**, v. 126, p. 30-34, 2019.

ZAKZESKI, J.; JONGERIUS, A. L.; BRUIJNINCX, P. C. A.; WECKHUYSEN, B. M. Catalytic lignin valorization process for the production of aromatic chemicals and hydrogen. **ChemSusChem**, v. 5, n. 8, p. 1602-1609, 2012.

ZHANG, H.; WANG, Y.; SHAO, S.; XIAO, R. Catalytic conversion of lignin pyrolysis model compound- guaiacol and its kinetic model including coke formation. **Scientific Reports**, v. 6, n. 37513, p. 1-10, 2016.

ZHANG, S.; ZHANG, Y.; LIU, L.; FANG, G. Antioxidant activity of organosolv lignin degraded using SO₄²⁻/ZrO₂ as catalyst. **BioResources**, v. 10, n. 4, p. 6819-6829, 2015.

ZHANG, Y.; HE, X.; ZHANG, J.; FENG, P. CuI cluster-based organic frameworks with unusual 4- and 5-connected topologies. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 1, p. 29-32, 2011.

ZHAO, L.; OUYANG, X.; MA, G.; QIAN, Y.; QIU, X.; RUAN, T. Improving antioxidant activity of lignin by hydrogenolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 228-235, 2018.

ZHOU, S.; LIU, L.; WANG, B.; XU, F.; SUN, R. Microwave-enhanced extraction of lignin from birch in formic acid : Structural characterization and antioxidant activity study. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 1799-1806, 2012.

