

**VANESSA LOPES SILVA**

**ESTUDOS DO EFEITO DOS ÁCIDOS HEXENURÔNICOS NA  
ESTABILIDADE DE ALVURA E NAS PROPRIEDADES DE POLPAS  
BRANQUEADAS, DO IMPACTO DE COMPLEXOS LIGNINA-  
CARBOIDRATOS NA POLPAÇÃO KRAFT E DE PRÉ-TRATAMENTOS DE  
BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2012**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S586e  
2014

Silva, Vanessa Lopes, 1981-  
Estudos do efeito dos ácidos hexenurônicos na  
estabilidade de alvura e nas propriedades de polpas  
branqueadas, do impacto de complexos de lignina-  
carboidratos na polpação kraft e de pré-tatamentos de  
biomassa lignocelulósica para produção de Etanol / Vanessa  
Lopes Silva. - Viçosa, MG, 2014.  
xi, 144f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador : Jorge Luiz Colodette.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Biocombustível - Produção. 2. Celulose - Produção.  
3. Papel - Produção. 4. Ácido hexenurônico. 5. Estabilidade  
de alvura. 6. Complexo lignina-carboidrato. 7. Hidrólise  
enzimática. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em  
Agroquímica. II. Título.

CDD 22 ed. 662.88

**VANESSA LOPES SILVA**

**ESTUDOS DO EFEITO DOS ÁCIDOS HEXENURÔNICOS NA ESTABILIDADE DE ALVURA E NAS PROPRIEDADES DE POLPAS BRANQUEADAS, DO IMPACTO DE COMPLEXOS LIGNINA-CARBOIDRATOS NA POLPAÇÃO KRAFT E DE PRÉ-TRATAMENTOS DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

APROVADA: 10 de agosto de 2012.

---

Maria Lúcia Bianchi

---

Efraim Lázaro Reis

---

Cláudio Ferreira Lima

---

Rubens Chaves de Oliveira  
(Coorientador)

---

Jorge Luiz Colodette  
(Orientador)

À Deus

Aos meus pais Aloir e Lúcia

Aos meus irmãos Luciano e Felipe

Ao meu marido Victor

Dedico

## AGRADECIMENTO

A Deus, por ter me dado forças para enfrentar os obstáculos da vida.

A toda a minha família, pelo apoio constante e incondicional, em especial aos meus pais Aloir e Lúcia e meu marido Victor, pela presença e carinho.

Ao Professor Jorge Luiz Colodette, orientador dedicado e crítico perspicaz, por sua valiosa colaboração no desenvolvimento do trabalho, no aperfeiçoamento da dissertação e, principalmente, por sua amizade e paciência.

Aos Professores Rubens Chaves de Oliveira, José Lívio Gomide e Cláudio Mudado, pela amizade, pela atenção e pelo estímulo permanente.

Ao Professor Hasan Jameel, pela colaboração durante o desenvolvimento das atividades e pela orientação em parte da tese.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e à North Carolina State University (NCSU- EUA), pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

Aos funcionários da Pós-graduação em Agroquímica da UFV, em especial ao Jorge, pelo apoio, pelo profissionalismo e pela amizade.

Aos funcionários e colegas da NCSU, EUA, em especial à Barbara, Linda, Ewellyn, Ricardo e Hou-Min Chang, pela compreensão e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão das bolsas de estudos no país e no exterior, respectivamente.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

Aos meus amigos e funcionários do Laboratório de Celulose e Papel (LCP) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Maurício, Oldair, Jaqueline, Sandra, Juliana, Dora e Cláudio, pela atenção, cooperação e amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

VANESSA LOPES SILVA, filha de Aloir Rodrigues da Silva e Lúcia Elena Lopes da Silva, nasceu em 04 de março de 1981, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Em março de 2000, iniciou o Curso de Química na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em julho de 2004. Durante a graduação trabalhou no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos.

Em agosto de 2004, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa-MG, em nível de Mestrado, tendo desenvolvido seus trabalhos no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos, submetendo-se à defesa da dissertação em agosto de 2006.

Em março de 2008, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, em nível de Doutorado, da Universidade Federal de Viçosa-MG, concluindo os requisitos necessários para obtenção do título de Doctor Scientiae em julho de 2012.

Durante os anos de 2010 e 2011, foi aluna do North Carolina State University (NCSU), nos Estados Unidos, num programa de doutorado sanduíche.

## CONTEÚDO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>VII</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>X</b>
<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1. Estudos sobre a reversão de alvura e efeitos do ácido hexenurônico.....	2
1.2. Efeito do ácido hexenurônico nas propriedades do papel .....	9
1.3. Efeito do complexo lignina-carboidrato na polpação de diferentes híbridos de eucalipto.....	11
1.4. Influência do tratamento da biomassa lignocelulósica no desempenho da hidrólise enzimática para produção de etanol .....	13
1.5. Objetivos do trabalho de tese.....	15
<b>2.MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
2.1. Materiais.....	16
2.2. Métodos .....	17
2.3. Métodos analíticos .....	21
2.4. Análises estatísticas.....	22
<b>3.RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>23</b>
3.1. Métodos de avaliação e causas da reversão de alvura de polpas de fibras curtas (Artigo I) .....	23
Caracterização da Polpa .....	23
Testes de Reversão de Alvura nas Polpas .....	25
Umidade relativa versus conteúdo de umidade na polpa.....	35
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>36</b>
3.2. Influência do pH e teor de HexA da polpa na sua estabilidade de alvura, refinabilidade e propriedades físico-mecânicas (ArtigoII).....	37
Preparação das polpas com variados teores de HexA.....	37
Refinabilidade das polpas branqueadas.....	40
Análise das propriedades físico-mecânicas das polpas branqueadas .....	42
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>46</b>
3.3. Efeito do complexo lignina-carboidrato de madeiras híbridas de eucalipto no processo de polpação Kraft (Artigo III) .....	47
Isolamento da lignina das madeiras de eucalipto.....	47
Quantificação do complexo lignina-carboidrato por RMN <sup>13</sup> C e HSQC (2D). ..	48
Efeito do complexo lignina-carboidrato na polpação kraft .....	53
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>55</b>
3.4. Influência do tratamento da biomassa lignocelulósica no desempenho da hidrólise enzimática para produção de etanol (Artigo IV).....	56
Efeito do estágio de peróxido de hidrogênio .....	58
Efeito do estágio de peróxido de hidrogênio com adição de Cu <sup>+2</sup> .....	60
Efeito do refino e do estágio de peróxido de hidrogênio com adição de Cu <sup>+2</sup> ....	61
Viabilidade econômica do processo.....	63

CONCLUSÕES .....	64
<b>4.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>65</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>79</b>
<b>APÊNDICE A (DADOS ARTIGO I) .....</b>	<b>80</b>
<b>APÊNDICE B (DADOS ARTIGO II) .....</b>	<b>84</b>
<b>APÊNDICE C (DADOS ARTIGO II) .....</b>	<b>90</b>
<b>APÊNDICE D (ARTIGOS I, II, III E IV).....</b>	<b>92</b>
<b>I. Factors affecting brightness reversion of hardwood kraft pulps</b>	
<b>II. Influence of hexenuronic acid and pH on refining and physical-mechanical properties of pulps produced by ECF and TCF processes</b>	
<b>III. Effect of lignin carbohydrates complexes of hardwoods hibrids on kraft pulping process</b>	
<b>IV. Effect of hydrogen peroxide, copper (II) and refining on enzymatic hydrolysis of hardwood and softwood</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- °SR – Grau Schopper-Riegler
- $\delta$  – Desvio químico em relação ao dimetilsulfóxido (em ppm)
- $\Delta\delta$  – Diferença de desvios químicos (em ppm)
- a.s. – Absolutamente seco
- ABS. – Absorbância
- ABTCP – Associação Brasileira Técnica de Celulose e Papel
- BRACELPA – Associação Brasileira de Celulose e Papel
- HEXA – Ácido hexenurônico
- ECF – Elementary Chlorine Free (livre de cloro elementar)
- ECF light – Livre de cloro elementar tratamento leve
- HSQC – Correlação espectroscópica heteronuclear
- OX – Organoclorados
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- HSQC – Correlação espectroscópica heteronuclear, bidimensional, em RMN
- HPLC – High Performance Liquid Chromatography
- IR – Índice de rasgo
- ISO – International Standardization Organization
- IT – Índice de tração
- MOE – Módulo de elasticidade
- MWL – Milled wood lignina (lignina de madeira moída)
- OX – Compostos orgânicos halogenados totais
- PFI – Tipo de moinho de refino
- pH – Potencial hidrogeniônico
- Pré-O – Pré-branqueamento ou deslignificação com oxigênio
- RMN de  $^{13}\text{C}$  – Ressonância magnética nuclear de carbono-13
- RMN de  $^1\text{H}$  – Ressonância magnética nuclear de próton
- TAPPI – Technical Association of Pulp and Paper Industry
- TCF – Totally Chlorine Free (totalmente livre de cloro)
- TEA – Energia de deformação
- UR – Umidade relativa
- $R^2$  – Coeficiente de correlação
- RPM – Rotações por minuto

## RESUMO

SILVA, Vanessa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2012. **Estudos do efeito dos ácidos hexenurônicos na estabilidade de alvura e nas propriedades de polpas branqueadas, do impacto de complexos lignina-carboidratos na polpação kraft e de pré-tratamentos de biomassa lignocelulósica para produção de etanol.** Orientador: Jorge Luiz Colodette. Orientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Rubens Chaves de Oliveira.

Um dos setores da economia brasileira que tem demonstrado crescimento na atualidade é a de produção de celulose e papel. Por outro lado, a demanda por energias renováveis alternativas tem levado ao desenvolvimento de pesquisas com celulose na área de biocombustíveis. Portanto, neste trabalho objetivou-se estudar os problemas e as características do processo de produção de celulose e papel, bem como, utilizar novas técnicas para o melhoramento do processo de produção do etanol celulósico. Sendo assim, o objetivo geral deste estudo foi: 1) estudo do amarelecimento (ou reversão de alvura) de polpas celulósicas; 2) influência no teor de ácidos hexenurônicos nas propriedades do papel; 3) influência dos complexos lignina-carboidratos na polpação kraft e 4) utilização de técnicas visando o melhoramento da hidrólise enzimática para a produção de etanol. Na primeira parte do trabalho (Item 3.1), foi realizada uma investigação química detalhada sobre as possíveis causas do amarelecimento da polpa kraft branqueadas de eucalipto. As folhas manuais foram submetidas à várias condições de temperatura, tempo, umidade e pH. Os resultados mostraram que a reversão de alvura está diretamente ligada com o conteúdo de ácidos hexenurônicos (HexA) na polpa. A reversão de alvura provocou uma diminuição significativa no valor da viscosidade da polpa e do HexA, causando, assim, diminuição do número kappa. As polpas branqueadas pelas tecnologias modernas de branqueamento TCF (totalmente livre de cloro) e ECF light (livre de cloro elementar) são polpas mais propensas à reversão de alvura que as branqueadas pela tecnologia ECF. Este trabalho determinou uma condição que melhora a estabilidade de alvura das polpas ricas em HexA pela sua secagem em pH 8,0. Na segunda parte do trabalho (Item 3.2), foi estudado o efeito dos HexA na refinabilidade e nas propriedades físico-mecânicas de polpas branqueadas. Foram feitos diferentes branqueamentos com o objetivo de obter polpas com variados teores de HexA. Verificou-se que o aumento do teor de HexA na polpa melhora a

hidrofilicidade e a retenção de água nas polpas, facilitando, assim, o processo de refino. O teor de HexA influencia positivamente as propriedades físico-mecânicas do papel. As propriedades como índice de tração, índice de rasgo, módulo de elasticidade (MOE) e energia de deformação (TEA) tiveram menores consumos de energia e melhora nas propriedades com o aumento do teor de HexA na polpa. Na terceira parte do trabalho (Item 3.3), foi aplicado o método de espectroscopia de RMN (Ressonância magnética nuclear) de  $^{13}\text{C}$  e HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence – Correlação espectroscópica heteronuclear, bidimensional, em RMN) para a determinação e quantificação de estruturas do complexo lignina-carboidratos (CLC), e determinado o efeito dos CLC na polpação kraft de híbridos de eucalipto. A utilização da combinação das técnicas espectroscópicas de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de HSQC-2D permitiu a identificação e quantificação das ligações éter benzílico, fenil glicosídica e  $\gamma$ -éster dos complexos lignina-carboidrato nas madeiras híbridas de eucalipto. As ligações fenil glicosídica e  $\gamma$ -éster são, respectivamente, as mais e menos significativas, do ponto de vista quantitativo. O teor de xilose na lignina isolada foi bem alto, sugerindo que as ligações do complexo lignina-carboidrato sejam realizadas preferencialmente com a xilose. O estudo não confirmou uma correlação entre os teores de complexos lignina-carboidratos e o rendimento da polpação kraft. No item 3.4 foi avaliado o efeito de pré-tratamentos com licor verde kraft e auto-hidrólise no desempenho da hidrólise enzimática dos cavacos de conífera (*Pinus taeda*) e folhosa (mistura entre *Populus ssp.* e *Acer ssp.*, principalmente). Também foi avaliado o efeito de pós-tratamentos químicos ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cu}^{+2}$ ) e mecânicos (refino) do material pré-tratado no desempenho da hidrólise enzimática. As polpas de *Populus ssp.* e *Acer ssp.* pré-tratadas por auto-hidrólise tiveram melhor desempenho na hidrólise enzimática (conversão em monômeros de açúcar), quando comparados à polpa de pinus pré-tratada com licor verde. A etapa de refino melhorou a conversão de açúcar em 9,4% para polpa de pinus pré-tratada com licor verde (PI-LV) e 13,3% para a polpa *Populus ssp.* e *Acer ssp.* pré-tratada por auto-hidrólise (PA-AH), quando comparado com a polpa referência. O uso de peróxido de hidrogênio e cobre (II), e também uma fase de refino reduziu o consumo de enzima em 45%. A adição de cobre (II) no processo teve pouco efeito para a polpa de PA-AH, entretanto, teve grande efeito da conversão de açúcares da polpa de PI-LV.

## ABSTRACT

SILVA, Vanessa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2012. **Studies on the effect of hexenuronic acids in brightness stability and properties of bleached pulps, impact of lignin-carbohydrate complexes in kraft pulping and pretreatment of lignocellulosic biomass to produce ethanol.** Adviser: Jorge Luiz Colodette. Co-Advisers: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa and Rubens Chaves de Oliveira.

One of the sectors of the Brazilian economy has shown growth in recent times is the production of pulp and paper. On the other hand, demand for renewable energy alternatives has led to the development of research and lignocellulosic biofuels. Therefore, this study aimed to study the problems and characteristics of the manufacturing process of pulp and paper, as well as new techniques used to improve the process for producing cellulosic. The aim of this study was: 1) study of yellowing (or brightness reversion) of pulps, 2) influence of HexA (hexenuronic acid) on the paper properties 3) influence of lignin-carbohydrate complexes on kraft pulping, and 4) influence of treatment to improve the enzymatic hydrolysis to produce ethanol.

In the first part of the work (Item 3.1), we performed a detailed chemical investigation on the possible causes yellowing of bleached eucalyptus kraft pulp. The handsheets were subjected to various conditions of temperature, time, humidity and pH. The results showed that the brightness reversion is directly correlated with the hexenuronic acids contents (HexA) in the pulp. The brightness reversion caused significant reduction in the amount of pulp viscosity, HexA and kappa number. Pulps bleached by modern technologies of ECF light (elementary chlorine free) and TCF (totally chlorine free) bleaching are more prone to brightness reversion than the bleached pulp produced by ECF technology. This work determined the condition which improves the brightness stability of the HexA-rich pulp by its drying at pH 8.0. In the second part of the work (Item 3.2), was studied the effect of HexA on refinability and physical-mechanical properties of bleached pulps. Different bleaching was made in order to obtain pulps with varied HexA content. It was found that increasing the HexA content in the pulp improves the hydrophilicity and water retention in the pulp, thus facilitating the refining process. HexA content influences positively the physical-mechanical properties of the paper. The properties such as tensile index, tear index, modulus of elasticity (MOE) and tensile energy absorption (TEA) had lower energy consumption and improvement in properties with increasing

of HexA content in the pulp. In the third part of the work (Item 3.3), was applied the  $^{13}\text{C}$  NMR and HSQC spectroscopy technique for the determination and quantification of the lignin-carbohydrate complex (CLC) structures, and was determined the effect of CLC on kraft pulping of hybrid eucalyptus. Application of  $^{13}\text{C}$  NMR and HSQC-2D (Heteronuclear Single Quantum Correlation) combination of spectroscopic techniques allowed the identification and quantification of the benzyl ether,  $\gamma$ - ester, and phenyl glucoside linkages of the lignin-carbohydrate complexes in eucalyptus hybrid wood. The glycosidic phenyl and  $\gamma$ -ester linkages are, respectively, the more and least significant to the quantitative point of view. The xylose content of the isolated lignin (MWL-milled wood lignin) was very high, suggesting that the lignin-carbohydrate complex linkages are preferably bonded to xylose. The study did not confirm a correlation between the lignin-carbohydrate complexes content and the kraft pulping yield. In item 3.4, the effects of green liquor and auto-hydrolysis pre-treatment on the enzymatic hydrolysis performance of softwood (*Pinus taeda*) and hardwood chips (mainly *Populus* spp. and *Acer* ssp.). Also was investigated the effects of chemical ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cu}^{+2}$ ) and mechanical (refining) post-treatments of pre-treated pulps on enzymatic hydrolysis performance. Hardwood pulps pre-treated by auto-hydrolysis showed better performance in enzymatic hydrolysis (conversion into sugar monomers) compared to the pine pre-treated pulp with green liquor. The refining stage improved sugar conversion up to 9.4% in pine pretreated pulp with green liquor (SW-GL) and 13.3% for the hardwood pre-treated pulp by auto-hydrolysis (HW-AH) compared with the reference pulp. The use of hydrogen peroxide, copper (II), and refining reduced enzyme consumption by 45%. The addition of copper (II) in the process had little effect on the HW-AH pulp, however, strongly affects the conversion of sugars SW-GL pulp.

# 1. INTRODUÇÃO

Um dos setores da economia brasileira que tem demonstrado crescimento na atualidade é o de produção de celulose e papel. De acordo com a Associação Brasileira de Celulose e Papel – BRACELPA, o Brasil é, atualmente, o maior fabricante e exportador de fibra curta de eucalipto, o quarto maior produtor de celulose e o sétimo maior fabricante de papel do mundo. Nos últimos 10 anos, o Brasil investiu US\$ 12 bilhões para expandir a sua produção de celulose e papel. Em 2011, a indústria brasileira de celulose e papel exportou US\$ 7,2 bilhões (Fonte: BRACELPA, 2012).

As indústrias brasileiras de celulose e papel, em sua quase totalidade, utilizam processos de polpação química kraft. As razões pelas quais o processo kraft é muito utilizado são várias, podendo ser destacadas a alta qualidade da polpa, a eficiência na recuperação de reagentes químicos, a grande flexibilidade com relação às espécies de madeira e a alto-suficiência na produção de energia.

Os processos de polpação e branqueamento, apesar de similares na maioria das indústrias, frequentemente têm suas condições operacionais ajustadas em função da qualidade da madeira que entra no processo. A celulose produzida é utilizada principalmente para a produção de papel.

Entretanto, a atual necessidade por energias renováveis alternativas tem levado ao desenvolvimento de pesquisas com celulose na área de biocombustíveis. De acordo com Goldemberg (2007), os combustíveis fósseis estão com os dias contados, sendo o tempo estimado para a duração das reservas de petróleo, gás natural e carvão de 41, 64 e 155 anos, respectivamente. Devido a estes e outros fatores, grandes investimentos em pesquisa e desenvolvimento relacionados à produção de bioetanol vêm sendo feito com perspectivas de um futuro bem promissor.

Portanto, este trabalho visou estudar os problemas e as características do processo de produção de celulose e papel, bem como, procurou utilizar de novas técnicas para o melhoramento do processo de produção do etanol celulósico. Sendo assim, os objetivos deste estudo foram: 1) estudo do amarelecimento de polpas celulósicas; 2) influência do teor de ácidos hexenurônicos nas propriedades do papel;

3) influência dos complexos lignina-carboidratos na polpação kraft e 4) utilização de técnicas visando o melhoramento da hidrólise enzimática para a produção de etanol.

### **1.1. Estudos sobre a reversão de alvura e efeitos do ácido hexenurônico**

A estabilidade de alvura é um dos maiores desafios das empresas que produzem polpas de eucalipto branqueadas à alta alvura. As primeiras investigações sobre o tema ocorreram em 1958 e pautavam, no princípio, que a exposição da polpa ao calor, à luz e aos fatores ambientais causava sua destruição e subsequente amarelecimento. Com a evolução do estudo científico já se pode inferir que a instabilidade de alvura pode ser causada por: 1) tipo de madeira (SMIT, 1993; HEITNER, 1996; FORSSKÅHL, 2000; COLODETTE et al., 2003); 2) tipos de cozimento e de polpa (SMIT, 1993); 3) tipo de sequência de branqueamento e arranjo dos estágios (CHIRAT et al., 1997); 4) tipo e dosagem de reagente (SAVOIE e TESSIER, 2001); 5) lignina solúvel e insolúvel (GIANQIANG-HUANG et al., 2001; MATEO et al., 2001, 2003); 6) resinas (GULLICHSEN e SÖDERHJELM, 1984); 7) complexos lignina-carboidrato (COSTA e COLODETTE, 2001; GELLERSTEDT et al., 2003); 8) hemiceluloses e grupos urônicos (VOURINEN et al., 1999); 9) carboidratos oxidados (RAPSON e HAKIM, 1957; SJÖSTRÖM e ERIKSSON, 1968; GELLERSTEDT et al., 2003); e 10) metais (RAPSON e SPINNER, 1979; MCLELLAN et al., 1990; SMIT, 1993; GRANSTRÖM et al., 2001). Por outro lado, o tempo de exposição, pH e o teor seco da polpa têm efeito significativo na estabilidade de polpas causada pelo calor (FORSSKÅHL, 2000; GRANSTRÖM, 2001; FORSSSTRÖM et al., 2007; SEVASTYANOVA, et al, 2006).

Com tantos fatores a serem considerados, os estudos atuais dedicam-se a busca da minimização do problema com a melhor seleção da madeira, ajustes no processo de cozimento e branqueamento, controle da qualidade e das condições de estocagem e transporte do produto. A seleção da madeira e os ajustes no processo estão vinculados aos estudos profundos da química da madeira e do efeito dos agentes e das condições de cozimento e branqueamento sobre a celulose, hemicelulose e lignina. Estes estudos têm demandado tempo, investimento e pesquisa especializada, geralmente desenvolvida em institutos espalhados pelo mundo.

Os processos de polpação e branqueamento, apesar de similares na maioria das indústrias, têm continuamente suas condições operacionais ajustadas em função da qualidade da madeira que entra no processo. Tem sido evidenciado que tanto a proporção quanto as peculiaridades dos componentes químicos da madeira, carboidratos, aromáticos, etc., afetam diretamente a estabilidade da alvura (RAPSON e HAKIM, 1957; SJOSTROM e ERIKSSON, 1968; VOURINEN et al., 1999; SEVASTYANOVA, et al, 2006).

Algumas tecnologias foram desenvolvidas e estão sendo aplicadas aos processos de cozimento/branqueamento/secagem de polpas, a fim de minimizar o problema. No cozimento, a principal técnica é controlar o perfil de álcali e temperatura para se evitar o aumento do número kappa devido à formação dos ácidos hexenurônicos e da precipitação da lignina solúvel (SIXTA e RUTKOWSKA, 2007). Têm sido incluídas etapas adicionais de lavagem da polpa marrom e melhorias nos equipamentos de lavagem de polpa branqueada, a fim de evitar o acúmulo de compostos indesejáveis na polpa provenientes de estágios prévios de produção, em especial extrativos e seus derivados. A tecnologia de hidrólise ácida dos ácidos hexenurônicos, difundida durante a década de 1990, em estágios de branqueamento  $A_{HT}$  (Ácido à quente) ou  $D_{HT}$  (Dióxido de cloro à quente), tem sido reportada como sendo promissora também pela remoção de metais de transição danosos ao branqueamento com peróxido de hidrogênio e à estabilidade de alvura (EIRAS, 2005; WENNERSTROM, 2005). As modificações relatadas contribuíram com a gradual redução da carga de oxidantes, particularmente dióxido de cloro e peróxido de hidrogênio, diminuindo o consumo específico de oxidantes e o custo de branqueamento. A pesquisa ainda busca um consenso a respeito do tipo, do arranjo e da carga de oxidantes nos estágios de branqueamento e seus efeitos na estabilidade de alvura (WENNERSTROM, 2005; EIRAS et al., 2009). Com relação à secagem da polpa, as investigações são concentradas no teor de umidade e no pH final da polpa, os quais têm grande efeito sobre a estabilidade de alvura. Por outro lado, os testes de avaliação da reversão de alvura também estão sendo reavaliados e substituídos por outros que produzam a real condição da polpa branqueada em situação de transporte até o consumidor final (GRANSTROM et al., 2001).

Assim este trabalho propõe uma investigação detalhada da química de polpas branqueadas de eucalipto, submetidas à várias condições de temperatura, tempo, umidade e pH para a identificação das outras possíveis causas do

amarelecimento da polpa kraft de eucalipto, estes resultados são detalhados e discutidos no Item 3.1 desta tese.

#### Efeito dos constituintes da madeira na reversão de alvura

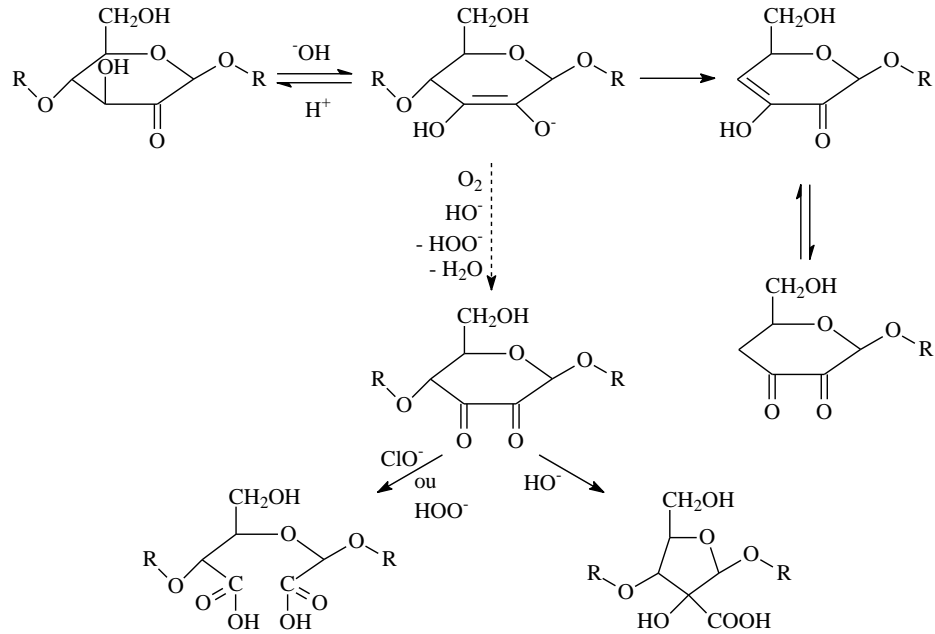
As fibras de madeira são compostas de polímeros orgânicos, incluindo, principalmente, a celulose, as hemicelulose e a lignina, que formam um material complexo e altamente ordenado com distintas propriedades estruturais e mecânicas (PARHAM, 1969).

A celulose é reconhecida como homopolímero composto de unidades de anidroglicose unidas por ligações glicosídicas do tipo  $\beta$ -1,4. Sua estrutura contém pequena quantidade de várias outras estruturas irregulares, principalmente grupos oxidados, dos tipos cetona e aldeído. Estes grupos estão presentes tanto na estrutura genuína e não tratada da celulose, como também e, em maior extensão, no material que passou por etapas do processo de produção de polpa, branqueamento e formação do papel, resultado das respectivas condições aplicadas nestes processos. Em contraste, as hemiceluloses são compostas por diferentes monossacarídeos como  $\beta$ -D-xilopirranose,  $\beta$ -D-manopirranose,  $\beta$ -D-glicopirranose,  $\alpha$ -L-arabinofuranose,  $\alpha$ -D-galactopirranose, ácido  $\alpha$ -D-glicopiranosilurônico e ácido  $\alpha$ -D-galactopiranosilurônico, sendo alguns deles acetilados.

Os carboidratos da polpa sofrem reações típicas de oxidação e de hidrólise em condições extremas de pH e temperatura, e na presença de reagentes de branqueamento. O grupo terminal aldeídico e os grupos hidroxilas das cadeias de carboidratos são atacados em meio oxidativo, formando carboxilas e carbonilas, respectivamente. Contudo, o efeito do grupo funcional específico, quer seja carbonila ou carboxila, na estabilidade de alvura ainda não é bem conhecido (CHIRAT et al., 1997). A Figura 1 apresenta algumas reações de oxidação que ocorrem na celulose quando submetida a um meio básico que induzem à formação de estruturas oxidadas, como cetonas e ácidos carboxílicos. A introdução de grupos cetonas na cadeia de celulose a deixa instável diante do álcali (CROON et al., 1966).

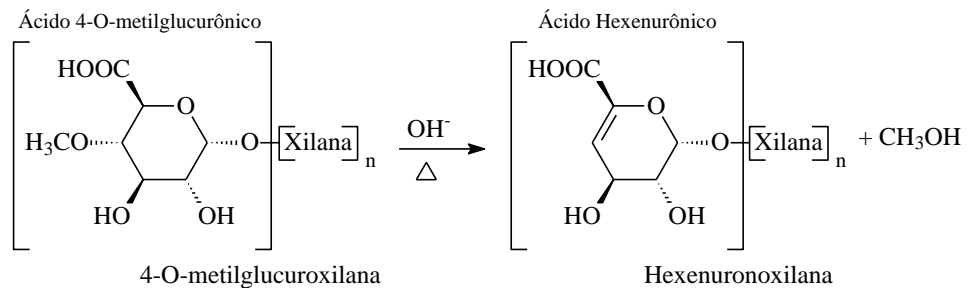
Tem sido observado que o ácido 4-O-metilglucurônico, presente nas hemiceluloses do tipo xilanas, quando convertido em ácido hexenurônico (HexA) no processo de polpação kraft (Figura 2), causa reversão de alvura, especialmente em polpas de folhosas, a qual contém teores mais elevados de xilanas (GRANSTROM et

al., 2001, VUORINEN et al., 2007, POTTHAST, et al., 2009) e que a remoção destes reduz substancialmente a reversão. Os ácidos hexenurônicos contêm grupos funcionais de enol-éter ou grupos de ácidos carboxílicos  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados que influenciam sua estabilidade e reatividade (JIANG et al., 2000).



Fonte: CROON et al.,1966

**Figura 1.** Reações dos agentes de branqueamento oxigênio, dióxido de cloro ou peróxido de hidrogênio com a celulose, formando os grupos oxidados carbonila e carboxila.

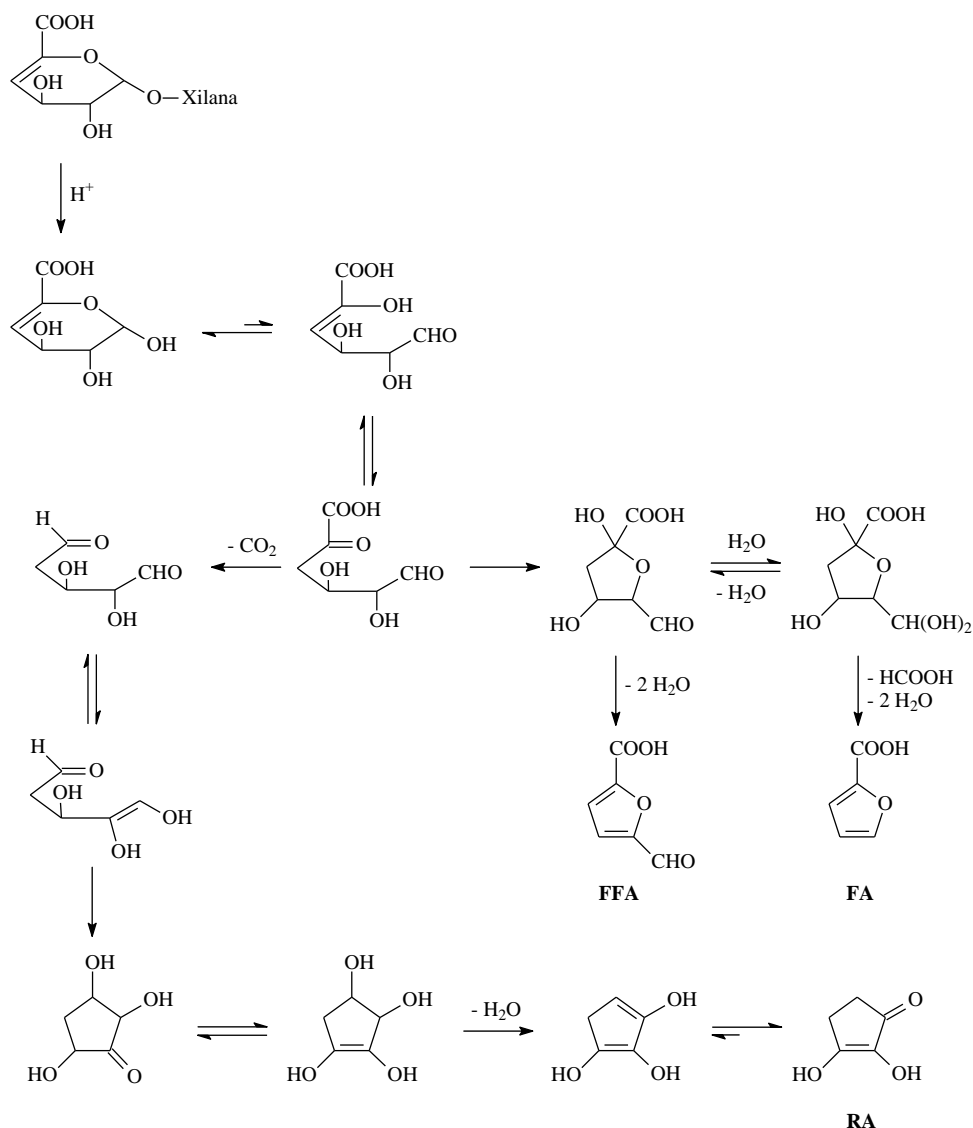


Fonte: JIANG et al. (2000)

**Figura 2.** Conversão de 4-O-metilglucuronoxilana em hexenuronoxilana (HexA's) durante a polpação Kraft.

Os ácidos hexenurônicos possuem sítios de ligação para íons metálicos (VOURINEN et al., 1996; HENRICSON, 1997), formando complexos e originando grupamentos cromóforos na polpa (DEVENYNS e CHAUVEHEID, 1997).

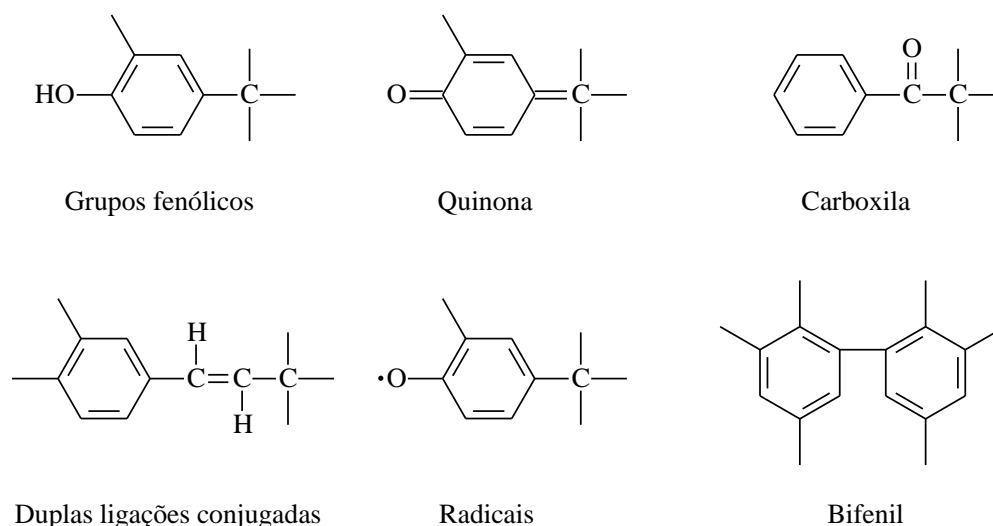
Os HexA podem ser degradados pela maioria dos agentes eletrofílicos de branqueamento, como cloro, dióxido de cloro, ozônio e perácidos, porém não reagem com o oxigênio e o peróxido de hidrogênio em meio alcalino (BUCHERT et al., 1995; SILTALA et al., 1998). Em meio ácido, os HexA são hidrolisados mais rápido que qualquer estrutura de carboidrato e são convertidos em ácido 2-furancarboxílico, ácido fórmico, 5-formil-2-furancarboxílico e em ácido redúctico (2,3-diidroxiciclopent-2-enona) (SEVASTYANOVA, 2005) (Figura 3).



**Figura 3.** Rotas reacionais para a formação do ácido 2-furancarboxílico (FA), ácido fórmico, 5-formil-2-furancarboxílico (FFA) e ácido redúctico (2,3-diidroxiciclopent-2-enona) (RA).

De acordo com os trabalhos realizados por Sevastyanova (2005), o ácido redúctico é o principal composto responsável pelo amarelecimento da polpa. Este ácido também apresentou forte tendência em reagir com íons de  $Fe^{+2}$ , o que provocou uma queda brusca da alvura em testes de reversão de alvura.

A lignina é reconhecida por ser uma substância composta de unidades aromáticas de fenilpropano. Sabe-se que o amarelecimento do papel pode ser gerado pela lignina residual ou por seus derivados, podendo ser atribuído a estruturas quinóides (BITTENCOURT et al., 2002) e demais grupos cromóforos presentes na estrutura da lignina. Alguns destes grupos podem ser vistos na Figura 4 (FENGEL e WENEGER, 1989).



**Figura 4.** Grupos cromóforos presentes nas estruturas de lignina

A maioria dos reagentes de branqueamento é conhecida por produzir compostos cromóforos derivados da lignina, principalmente quinonas. Sabe-se que o estágio de oxigênio culmina na formação de p-quinona ou o-quinona, esta última é também produzida em estágios de dióxido de cloro (MATEO et al., 2001).

Além das reações entre lignina e reagentes de polpação e branqueamento, podem ocorrer ainda reações entre lignina-lignina, lignina-carboidrato, o que pode resultar num aumento do teor de derivados de lignina e lignina residual na polpa. A existência de ligações covalentes entre a lignina residual e os ácidos hexenurônicos, por exemplo, foi proposta como responsável pela baixa branqueabilidade de certas polpas (JIANG et al., 2000).

Um alto conteúdo de lignina residual no final do branqueamento resulta em maior reversão de alvura. Aparentemente, compostos tipo vanilina, resultantes da degradação térmica, são parcialmente responsáveis por este agravamento (TRAN, 2002, JÄÄSKELÄINEN et al, 2009).

O teste de reversão ao calor também induz à formação de radicais fenólicos e envolve a reação direta entre os fenóis e o oxigênio. Estruturas do tipo catecóis e hidroquinonas estão dentre as mais reativas e são convertidas à correspondente quinona pela ação do oxigênio. Tem sido demonstrado que hidroquinonas e catecóis constituem compostos leucocromóforos potencialmente coloridos e responsáveis pela reversão de alvura (GELLERSTEDT e SEVASTYANOVA, 2003).

#### Efeito do branqueamento na reversão de alvura

Além destes componentes químicos da polpa estarem envolvidos com a instabilidade de alvura, também é fator relevante, o tipo de branqueamento e respectivas sequências nele utilizadas. Atualmente, novas legislações ambientais têm sido criadas com o intuito de reduzir a poluição industrial, com isso, foram desenvolvidos vários processos que utilizam menos poluentes nas empresas de celulose e papel. As polpas têm sido branqueadas com sequências livres de cloro elementar - ECF (elemental chlorine free) ou totalmente livre de cloro - TCF (totally chlorine free). Mas polpas branqueadas por estas sequências estão sujeitas a reversão de alvura (FORSSTRÖM et al., 2009). A substituição ao cloro utilizado no processo implementou-se o uso industrial do dióxido de cloro. O uso de dióxido em alta temperatura ( $> 90^{\circ}\text{C}$ ) como primeiro estágio, reduz os teores de HexA em polpas branqueadas, se comparado ao dióxido convencional que é realizado em temperaturas entre  $50\text{-}60^{\circ}\text{C}$  (WENNERSTROM, 2005) e por isso pode contribuir para uma menor reversão. Outro exemplo é o estágio de peróxido de hidrogênio ao final do branqueamento que tem a habilidade de reagir com várias estruturas da lignina que contém carbonilas, aumentando a alvura e promovendo maior estabilidade da polpa por eliminação de cromóforos na estrutura da lignina (LACHENAL, 1996).

Outras publicações (EIRAS e COLODETTE, 2005; BJORKLUND et al., 2005) indicaram que polpas branqueadas com sequências tendo uma etapa final de peroxidação tendem a mostrar uma reversão mais baixa do que aquelas branqueadas

com uma etapa final de dioxidação. Porém, uns destes estudos (BJORKLUND et al., 2005) afirmam que o benefício do peróxido está limitado a testes de reversão térmica conduzidos sob condições secas, com tal benefício desaparecendo quando o teste é feito abaixo de 10% de teor de umidade. Portanto, a metodologia de medição da reversão se torna um assunto importante, além da escolha apropriada dos estágios de branqueamento e a própria localização dos mesmos na sequência contribuem para uma melhor estabilidade de alvura da polpa branqueada.

Para estimar a estabilidade de alvura de polpas industriais, experimentos de amarelecimento acelerado são geralmente conduzidos em laboratório. Além da temperatura, outros importantes fatores externos que influenciam o amarelecimento de polpas químicas branqueadas são a umidade e a acidez da polpa (GRANSTROM et al., 2001). Isto significa que as condições experimentais podem ter uma forte influência sobre o resultado final.

O método padrão da Tappi (UM 200), a estabilidade de alvura das polpas é avaliada mantendo a polpa em uma estufa a 105 °C por 4 horas. Sob tais condições, as reações químicas que requerem água não irão ocorrer e, conseqüentemente, a simulação de reversão de alvura para polpa estocada será ineficiente (GRANSTROM et al. 2001).

A degradação da celulose é muito sensível à umidade, com isso, é desejável que o envelhecimento acelerado em laboratório, a fim de ser representativo das condições naturais, deva ter o mesmo teor de umidade como um envelhecimento natural no ambiente.

## **1.2. Efeito do ácido hexenurônico nas propriedades do papel**

Os ácidos hexenurônicos (HexA) são formados pela eliminação do metanol a partir do grupo de ácido 4-O-metilglicurônico (MeGlcA) no processo de produção da celulose (Figura 2) (GELLERSTEDT e LI, 1996). No entanto, durante o processo de branqueamento o teor de HexA é reduzido através da inserção de estágios ácidos, com ozônio (EIRAS et al, 2008.); dióxido de cloro (EIRAS et al, 2009.); ácido peracético (BARROS et al., 2010), etc.

Embora o ácido hexenurônico possa ser removido a partir da polpa, não é uma opção viável porque diminui o rendimento da polpa. Por outro lado, a proteção de ácido hexenurônico pode manter as polpas com maior teor de hemicelulose, o que

leva a exigência de menos energia durante a refinação (JIANG et al., 2000; HANNA et al., 1998). As polpas de celuloses contendo maiores teores de hemiceluloses são aptas a produzir papéis com maiores resistências, melhores ligações entre fibras, melhor lisura superficial, porém com menores valores de volume específico aparente e porosidade.

Os grupos carboxilas contidos no HexA desempenham um papel importante em modificações de fibra de madeira para o processamento de produtos de alta qualidade. Isogai et al. (1997) relataram que os grupos carboxílicos são responsáveis pela retenção de vários aditivos em suspensão de fibras. Os ácidos também são responsáveis pela melhora da ligação interfibras durante a prensagem e secagem e, conseqüentemente, as propriedades mecânicas de folhas de papel secas (BARZYK et al., 1997).

Os ácidos hexenurônicos são compostos bastante hidrofílicos. A presença deles na polpa auxilia a habilidade das mesmas em atrair e em reter água na parede celular. Esse fenômeno melhora o inchamento das fibras, enfraquece as ligações entre as microfibrilas na parede celular e colabora para um refino mais fácil da polpa. Quando o refino é facilitado existem muitas melhorias na máquina e no papel, como: drenagem, economias de vapor na secagem, economia de energia, estabilidade dimensional, porosidade, etc.

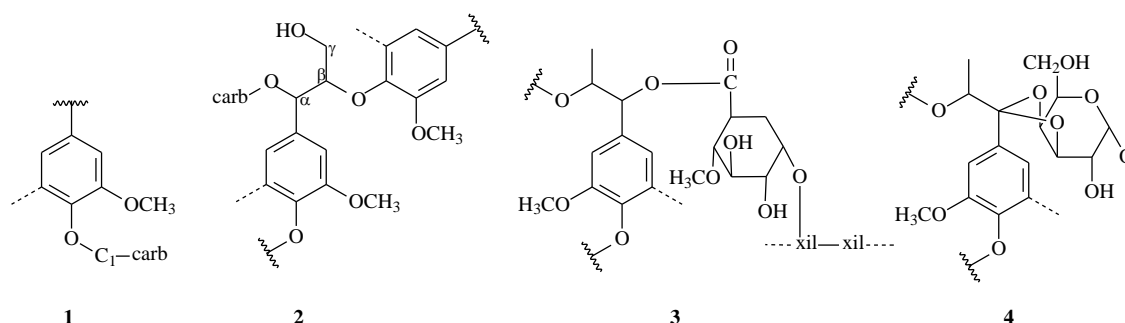
Um trabalho recente demonstrou que o teor de ácido hexenurônico na polpa representa um fator significativo de reversão de alvura (SEVASTYANOVA e GELLERSTEDT, 2006) e sob condições ácidas estas estruturas incolores são hidrolisados, dando origem a estruturas tais como ácido redúctico e 5-formil-2-furaldeído que causam amarelecimento térmico. A estabilidade de alvura de polpa contendo quantidades elevadas de HexA pode ser melhorada, se a polpa for secada em pH 8,0 (FORSSTRÖM et al., 2009, SILVA et al., 2011).

Sendo assim, foi investigada uma maneira de manter o conteúdo de ácidos hexenurônicos na polpa, porém sem ter grande reversão de alvura na polpa. A influência destes ácidos na refinabilidade e nas propriedades físico-mecânicas das polpas branqueadas, também foram analisados e discutidos no Item 3.2.

### 1.3. Efeito do complexo lignina-carboidrato na polpação de diferentes híbridos de eucalipto

Lawako (2005) mostrou que a lignina está ligada através de ligações covalentes a todos os principais polissacarídeos na parede celular da madeira, a saber: a arabinoglicoronoxilana, galactoglicomanana, glicomanana e celulose. Ele também concluiu que o polímero de lignina possuiu ligações cruzadas com diversos polissacarídeos formando um complexo de lignina-carboidratos na madeira. Esses complexos de lignina-carboidratos (CLC) são formados tanto in vivo na planta como também durante a polpação kraft (LETUMIER et al. 2003).

A ligação covalente entre a lignina e o carboidrato foi sugerida como a causa mais provável para a lignina residual resistir a deslignificação durante a polpação kraft e branqueamento. Muitas experiências com os complexos lignina-carboidrato foram realizadas e concluiu-se que tais ligações covalentes existem (FREUDENBERG, 1965; KATO et al., 1983; YAKU et al., 1976). A partir desses experimentos, foram propostos os principais tipos de ligações nativas entre lignina e carboidratos: éter benzílico (FREUDENBERG e GRION, 1959; ERIKSSON e LINDGREN, 1977; KOSIKOVA et al., 1979; YAKU et al., 1981; KOSHIJIMA et al., 1984; WATANABE, 1989), éster benzílico (FREUDENBERG e HARKIN, 1960; YAKU et al., 1976; ERIKSSON et al., 1980; OBST et al., 1982; LUNDQUIST et al., 1983; WATANABE e KOSHIJIMA, 1988), fenil glicosídica (SMELTORIOUS, 1974; KOSIKOVA et al., 1972; YAKU et al., 1976; JOSELEAU e KESRAOUI, 1986; KONDO et al., 1990 FENGEL e WEGENER, 1989; KOSHIJIMA e WATANABE, 2003) e ligações acetal (XIE et al 2000) (Figura 5).



**Figura 5.** Principais ligações entre lignina-carboidratos: **1:** fenil glicosídica, **2:** éter benzílico, **3:** éster benzílico e **4:** acetal.

A análise das estruturas de lignina é importante para a otimização dos processos de polpação kraft. O processo kraft é atualmente o caminho químico dominante na produção de celulose. Cozimento kraft consiste no tratamento de madeira com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na<sub>2</sub>S), à temperatura elevada (160-170 °C). Isso resulta em deslignificação da madeira através da degradação da lignina e sua dissolução no licor de polpação.

Informação sobre as estruturas das ligninas é de importância primordial para uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes da deslignificação kraft. Estudos mostraram que os CLC influenciam muitas propriedades químicas da madeira (KOSHIJIMA e WATANABE, 2003; LAWOKO et al., 2005).

Vantagens e desvantagens dos diferentes métodos analíticos para análise CLC foram revisados recentemente (KOSHIJIMA e WATANABE 2003;. BALAKSHIN et al, 2007 e 2011). Balakshin et al. (2011) desenvolveram um método para quantificação de CLC por duas abordagens diferentes: (1) a integração dos espectros 2D assumindo montantes totais das estruturas detectadas como 100% (IBARRA et al 2007; RALPH et al 2006); (2) combinação de HSQC (Correlação espectroscópica heteronuclear, bidimensional, em RMN) e RMN de <sup>13</sup>C (Ressonância magnética nuclear) ( ZHANG e GELLERSTEDT 2007). O método 1 avalia apenas proporções relativas dos vários sinais, por exemplo, a porcentagem de várias estruturas de lignina alifáticos oxigenados, assumindo que a soma das porções identificadas como 100%. No entanto, este método é incapaz de fornecer os valores absolutos. A abordagem quantitativa (2) combinando a utilização de RMN de <sup>13</sup>C e HSQC, sugerido por Zhang e Gellerstedt (2007) utiliza uma ressonância apropriada no espectro de RMN de <sup>13</sup>C como uma referência interna para converter os valores de integração relativos obtidos a partir do espectro 2D correspondente para valores absolutos (por exemplo, por uma unidade monomérica de lignina). Esta última abordagem foi verificada em lignina de madeira moída (MWL) e celulose onde mostraram resultados muito confiáveis (ZHANG e GELLERSTEDT, 2007).

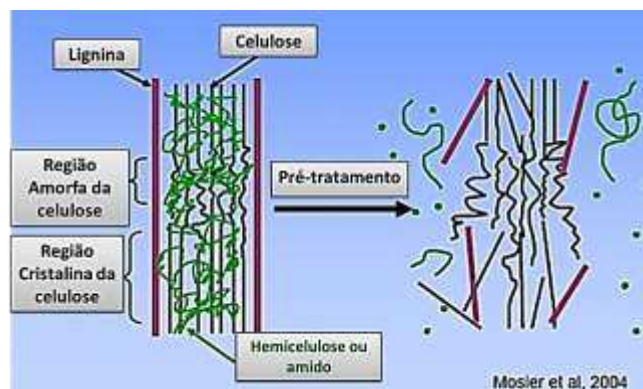
No presente trabalho, aplicou-se a combinação entre as técnicas de RMN de <sup>13</sup>C e HSQC para a análise de complexos lignina-carboidratos nas preparações de MWL em madeira de eucalipto. O efeito dos CLC na polpação kraft também foi avaliado e discutido no Item 3.3.

#### **1.4. Influência do tratamento da biomassa lignocelulósica no desempenho da hidrólise enzimática para produção de etanol**

A atual necessidade por energias renováveis alternativas tem levado ao desenvolvimento de várias tecnologias. O uso de biomassa na produção de biocombustíveis é uma interessante solução devido ser um dos mais abundantes recursos de material orgânico no nosso planeta. Novos avanços científicos tornaram a produção de etanol celulósico realidade, mas ainda é preciso um esforço concentrado de pesquisa para torná-la economicamente viável em escala industrial. Atualmente, a produção de biocombustíveis provenientes de material lignocelulósico é dificultada pelo alto custo da enzima que é utilizada na hidrólise enzimática. Assim, para tornar os biocombustíveis celulósicos mais competitivos, melhoramentos na degradação enzimática da celulose são cruciais (HIMMEL et al., 2007; LYND et al., 2008). No Item 3.4 deste trabalho foram discutidas formas alternativas para reduzir a carga enzimática utilizada, tentando, assim, viabilizar o processo de produção de etanol celulósico.

Recentemente uma empresa de biotecnologia anunciou o desenvolvimento de uma nova enzima que, com a aplicação das tecnologias atuais de hidrólise, permite a produção de etanol celulósico a preços competitivos em relação ao etanol produzido na Europa. No entanto, o processo ainda é muito caro em relação aos custos de produção de etanol no Brasil.

O processo de produção de etanol celulósico que vem sendo utilizado inicia-se com o pré-tratamento de cavacos, o qual visa remover a lignina, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade da celulose, de maneira a torná-la susceptível a degradação pelas enzimas no estágio posterior, que é a hidrólise enzimática ou sacarificação (Figura 6) (MOSIER et al., 2004 e EGGEMAN e ELANDER, 2005).



**Figura 6.** Pré- tratamento da biomassa

Existem vários métodos de pré-tratamento: físico (“steam explosion”) (CARA et al., 2006) , químico (álcalis, ácidos, solventes, gases, outros) (HAGE et al., 2010; KIM et al., 2001; SAHA e COTTA, 2006; ZHAO et al., 2009; ROLLIN et al., 2010) e biológico (enzima ou fungos) (BAK et al., 2010; HALL et al., 2011). Santos et al. (2011) publicaram um trabalho comparando vários tipos de pré-tratamentos e seus efeitos na hidrólise enzimática e no teor de lignina na polpa residual. Eles descobriram que dependendo do tipo de pré-tratamento empregado, pode-se obter uma grande variedade no nível de deslignificação da biomassa, sendo que o pré-tratamento utilizando licor verde (mistura dos compostos  $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Na}_2\text{S}$ ) foi o mais eficiente para a remoção de lignina, quando comparado aos pré-tratamentos de auto-hidrólise, hidrólise ácida e ozônio. Chen e Dixon (2007) concluíram que quanto menor o teor de lignina no material lignocelulósico, melhor será a taxa de conversão de açúcar na hidrólise enzimática.

O estágio de hidrólise da celulose realizada por meio enzimático, apesar de ser considerado de grande potencialidade, por proporcionar maiores rendimentos e ser realizado a pressão ambiente e temperaturas moderadas ( $50^\circ\text{-}60^\circ\text{C}$ ), sem a formação de subprodutos indesejáveis, sendo ainda possível utilizar técnicas avançadas de biotecnologia para sua otimização, enfrenta vários gargalos tecnológicos, o principal deles sendo o ainda elevado custo das enzimas (KLEIN-MARCUSCHAMER et al., 2012)

Vários fatores são responsáveis pela hidrólise lenta e pelos baixos rendimentos e podem estar diretamente relacionados às propriedades da celulose (natureza insolúvel, cristalinidade, área superficial, porosidade, grau de polimerização) (XIMENES et al., 2010; HALL et al., 2010) e características

enzimáticas (inibição, desativação, interferência, bloqueio, adsorção, processabilidade) (BANSAL et al., 2009; ZHANG e LYND, 2004).

Na etapa de fermentação, o hidrolisado sofre a ação das leveduras, com a transformação dos açúcares em etanol, CO<sub>2</sub> e outros sub-produtos em menores quantidades. O hidrolisado de hemiceluloses, rico em pentoses, também pode ser convertido em etanol, empregando microrganismos capazes de realizar esta transformação, ou manipulados geneticamente com esta finalidade (DIEN et al., 2000).

Os biocombustíveis figuram entre os principais objetos de estudos em todo mundo devido ao esgotamento dos recursos naturais, e pelos problemas ambientais. Velasco (2009) estima que a produção de biocombustíveis convencionais e celulósicos, terão um crescimento exponencial até 2022. Fatores que impulsionam este crescimento são o desenvolvimento de novas tecnologias e o ressurgimento da alcoolquímica no cenário mundial. O desenvolvimento do etanol celulósico proporcionará a otimização da área de plantio e países como o Brasil se beneficiarão deste progresso.

Por estes motivos, no Item 3.4 estudou-se sobre o aprimoramento dos estágios de pré-tratamento para assim, reduzir a demanda de enzima a ser utilizada no processo e viabilizar a produção de etanol em escala industrial. Para isto, a utilização de tratamentos e/ou estágios que auxiliassem na desagregação das fibras celulósicas e na remoção de lignina dos materiais lignocelulósicos foram utilizadas.

## **1.5. Objetivos do trabalho de tese**

A tese possui quatro objetivos principais, sendo eles: 1) Estudar os efeitos dos ácidos hexenurônicos na estabilidade de alvura de polpas kraft de eucalipto de diferentes origens, i.e., coletadas de diferentes indústrias e branqueadas por diferentes processos; 2) Estudar os efeitos de ácidos hexenurônicos na refinabilidade e nas propriedades físico-mecânicas de polpas branqueadas; 3) Caracterizar e quantificar os complexos lignina carboidrato nas madeiras de eucalipto e avaliar o efeito destes complexos na polpação kraft; 4) Avaliar os efeitos de diferentes tipos de pré-tratamentos da biomassa lignocelulósica na hidrólise enzimática.

## 2.MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Materiais

#### Polpas branqueadas (Artigo I)

Os experimentos de reversão de alvura foram realizados utilizando dez tipos de polpas kraft industriais branqueadas proveniente de várias empresas de celulose, sendo que cada polpa foi branqueada por um processo diferente. As polpas foram produzidas a partir de eucalipto, bétula e acácia.

#### Polpa pré-deslignificada (Artigo II)

Uma polpa kraft industrial de eucalipto pré-deslignificada com oxigênio foi branqueada por sequências do tipo ECF e TCF para produzir polpas com variado teor de ácido hexenurônico.

#### Madeiras de eucalipto (Artigo III)

*E. grandis* e os híbridos *E. grandis* X *E. globulus* (GxGL); *E. urophylla* X *E. camaldulensis* (UxC) e *E.dunni* x *E. grandis* X *E. urophylla* (DG x U) foram utilizados no Artigo III. Os toretes de cada árvore foram transformados em cavacos por meio de um picador de laboratório dotado de 2 peneiras classificadoras com aberturas de 39x39 mm e 6x6 mm. Os cavacos foram re-classificados em peneira com abertura de 16x16 mm e foi, também, realizada, uma classificação manual para eliminar pedaços de casca, cavacos com defeitos de corte e madeira com nós. Depois de selecionados, os cavacos foram secos ao ar e armazenados em sacos de polietileno para uniformização e conservação do teor de umidade. Os cavacos foram intensamente misturados em misturador rotativo e submetidos à polpação kraft.

Outra parte dos cavacos foi moída e suas respectivas serragens (40 a 60 mesh) foram extraídas em Soxhlet durante 24 h com benzeno-etanol 2:1 (v / v) (TAPPI T264 om-88), secos, e utilizado para a caracterização da madeira e preparações de MWL.

Cavacos de madeira (Artigo IV)

Os cavacos de *Pinus taeda* e uma mistura de cavacos de folhosas (principalmente *Populus spp.* e *Acer spp.*) foram obtidos de empresas dos Estados Unidos e utilizados no Artigo IV.

## 2.2. Métodos

Testes de reversão de alvura (Artigo I)

As polpas foram cuidadosamente lavadas com água destilada (4 litros de água para 25 gramas de polpa) antes da formação da folha em dois níveis de pH (4,5 e 8,0). O valor de pH da suspensão de celulose foi ajustado com uma solução de ácido sulfúrico (0,01mol/L) e uma solução hidróxido de sódio (0,01mol/L) a 0,3% de consistência antes da formação da folha. As folhas manuais foram formadas de acordo com a norma Tappi T218 sp-97 e colocadas em uma sala climatizada ( $50 \pm 2\%$  de umidade relativa e  $23 \pm 1$  °C) por 12 horas até a folha ficar com o teor de umidade entre 10-11%. Depois foram realizados os testes de envelhecimento de acordo às condições I-VI descrito abaixo.

A extensão da reversão, avaliação da perda de alvura e o número de cor posterior (NCP) (Giertz, 1945) foram determinados através dos seguintes condições de envelhecimento:

Condição (I) 105 °C por 4h e ~ 0% umidade relativa do ar (UR),

Condição (II) 70 °C por 64h e 10% de teor de umidade da polpa,

Condição (III) 45 °C por 720, 1080 e 1440 h e 50% UR,

Condição (IV) 30 °C por 720, 1080 e 1440 h e 50% UR,

Condição (V) 45 °C por 720, 1080 e 1440 h e 90% UR,

Condição (VI) 30 °C por 720, 1080 e 1440 h e 90% UR.

O envelhecimento das folhas manuais de acordo com a condição I foi realizado colocando as folhas em uma estufa e o envelhecimento de acordo com a condição II foi feito colocando as folhas em um saco plástico selado em banho-maria. As condições III-VI foram obtidas colocando as folhas em uma câmara climática que permitiu o controle da temperatura ( $\pm 1$  °C) e da umidade relativa ( $\% \pm 1$ ). A câmara climática foi também utilizada para a determinação do teor de umidade (Norma Tappi T 412 om-94) das folhas manuais em função da temperatura (30, 45 e 60 °C) e umidade relativa (30, 50 e 90%).

### Análise de carboidratos em MWL (Artigo III)

A composição de carboidratos das preparações MWL foi determinada por hidrólise dos polissacarídeos pelo método Saeman seguido pela quantificação dos açúcares resultantes por meio de cromatografia de troca iônica de acordo com Wallis et al. (1996). As amostras foram hidrolisadas com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (72%) à 30 °C com agitação ocasional durante 1 h. A mistura foi então diluída com água deionizada para se obter a concentração de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 3%, que em seguida, foi transferida para um frasco, selado e aquecido a 120 °C durante 1,5 h numa autoclave. A suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi analisado por Cromatografia Iônica (IC-3000 Dionex) com um detector amperométrico pulsado (HPAE-PAD). A separação de açúcares foi conseguida utilizando uma coluna de proteção Carbo-Pac PA1 e uma coluna analítica conectadas em série. A água foi utilizada como eluente a uma taxa de 1,0 mL/min e a temperatura da coluna foi mantida a 18°C.

### Branqueamentos das polpas (Artigo II)

As condições gerais do branqueamento são mostradas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Condições gerais de branqueamento utilizadas

Condições de branqueamento	Primeiro Estágio*			Segundo estágio* (EP)	Terceiro Estágio*		Quarto estágio* P
	D	D <sub>HT</sub>	Q		D	Q	
Consistência, %	10,5	10,5	11	11,5	11,2	11	10,2
Tempo, min	120	120	60	60/240	125	60	120
Temperatura, °C	60/70	95	70	80/95	80/95	70	80/95
Fator Kappa	0,05/0,12/0,18	0,24	-	-	-	-	-
pH final	3/4	3	6	11	5,5	6	10
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/ta.s.	-	-	-	1-25	-	-	0,5-25
ClO <sub>2</sub> , kg/ta.s.	2-7	9,4	-	-	0,5-4	-	-
EDTA, kg/ta.s.	-	-	2	-	-	2	-
MgSO <sub>4</sub> , kg/ta.s.	-	-	-	1	-	-	1
NaOH, kg/ta.s.	0-1	2,5	-	4-16	0-0,6	-	1,8-11
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/ta.s.	0-1,5	0	0,5	-	0-2,2	2,1	-

\*D= estágio de dióxido de cloro, D<sub>HT</sub>= estágio de dióxido de cloro à quente, Q= estágio de quebração, (EP)= estágio de extração alcalina com peróxido de hidrogênio, P= estágio de peróxido de hidrogênio

### Refino das polpas celulósicas (Artigo II)

As polpas branqueadas foram refinadas em moinho laboratorial PFI, conforme norma TAPPI 248 wd- 97, com diferentes níveis de revoluções: 0, 1000, 1500, 2000 e 3000 para as polpas refinadas em pH 4,5 e: 0, 1000, 2000, 3000 e 4000

para as polpas refinadas em pH 8,0. Dessas amostras foram formadas folhas manuais com gramatura de aproximadamente 60 g/m<sup>2</sup>, em uma formadora tipo Tappi, fabricada pela REGMED.

### Polpação kraft (Artigo III)

Os cozimentos kraft foram realizados em digestor rotativo, com 4 reatores individuais de 2 litros cada um, aquecido eletricamente e dotado de termômetro e manômetro. Foram realizados 4 cozimentos para cada amostra, utilizando diferentes cargas de álcali efetivo, expressas como NaOH, para estabelecer a curva de deslignificação da amostra. Estas cargas de álcali foram selecionadas após realização de cozimentos exploratórios, objetivando obtenção de número kappa próximo a 17 na parte mediana da curva. Os outros parâmetros utilizados para a polpação kraft foram os seguintes, mantidos constantes para todos os cozimentos:

- Cavacos = 250 gramas a.s.
- Sulfidez = 30%
- Relação Licor/Madeira = 4/1
- Temperatura máxima = 165°C
- Tempo até temperatura máxima = 70 minutos
- Tempo à temperatura máxima = 60 minutos

### Preparações MWL (Artigo III)

A lignina de madeira moída (MWL) foi isolada de acordo com o método clássico (BJORKMAN, 1956). Um moinho planetário de bolas (Pulverisette 7, Fritsch, Alemanha) foi usado no experimento. A serragem sem extrativos (2 g) foi submetida à moagem em 600 rpm utilizando recipiente de ZrO<sub>2</sub> e 14 bolas ZrO<sub>2</sub>. A madeira moída obtida foi extraída com dioxano/água (96% v/v) e o solvente foi então evaporado sob vácuo a 35 °C. Para remover vestígios de dioxano, algumas gotas de água foram adicionadas à matéria sólida e evaporou-se novamente. Este procedimento foi repetido três vezes. Finalmente, a MWL foi seca em estufa a vácuo a 35 °C e submetida a análises de RMN.

### Análise por RMN (Artigo III)

Todos os espectros de RMN foram adquiridos a 25 ° C em DMSO-d<sub>6</sub> usando um Shigemi microtubo de RMN. Os espectros quantitativos de RMN de <sup>13</sup>C foram adquiridos num espectrômetro Bruker AVANCE 300 MHz equipado com uma sonda QNP de 5 mm (Capanema et al. 2004). A concentração da amostra foi de cerca de 25%. O Acetilacetato de crômio (III) (0,01 mol L<sup>-1</sup>) foi adicionado ao tubo de RMN antes da aquisição quantitativa de RMN de <sup>13</sup>C para diminuir o tempo de relaxamento dos núcleos. Os parâmetros de aquisição foram realizados de acordo com Capanema et al. (2004).

Os espectros de RMN de HSQC 2D foram adquiridos com a concentração da amostra de 10%, num espectrômetro Bruker AVANCE 300 MHz equipado com sonda de BBI. Os parâmetros de aquisição utilizados foram baseados em Balakshin et al. (2011)

### Pré-tratamento com licor verde e auto-hidrólise (Artigo IV)

O pré-tratamento foi realizado em um disgestor M&K de 7 litros com 700 gramas cavacos secos. Os cavacos foram cozidos com o licor verde a 20% de carga de álcali (20% ATT como Na<sub>2</sub>O na madeira, 25% de sulfidez) para o fator H de 600, a uma temperatura máxima de 170 °C, com relação de licor:madeira de 4. Depois da polpação as amostras foram lavadas. Os cavacos foram desintegrados usando um refinador de 0,005 polegada de abertura e então selecionados utilizando uma peneira de 0,008 polegada. Os rejeitos foram refinados com um disco de 0,001 polegadas e, em seguida, adicionado de volta com os selecionados. A polpa foi centrifugada e afofada.

A auto-hidrólise foi realizada com água a 170 ° C durante 60 min, com relação licor: madeira de 4.

### Refino das polpas pré-tratadas com licor-verde e auto-hidrólise (Artigo IV)

A celulose (30 g absolutamente seca) foi refinada num moinho PFI em consistência de 10% com 5000 revoluções.

### Hidrólise enzimática (Artigo IV)

A hidrólise enzimática foi realizada com 2 g de polpa em 5% de consistência, sendo que a concentração enzimática foi de 5, 10 e 15 FPU, pH ~ 4,8 (solução

tampão de acetato), temperatura de 50 ° C e durante 48 horas. As enzimas utilizadas foram a Ctec2® (celulase) e Htec2® (hemicelulase) da Empresa Novozymes. Após a hidrólise enzimática, a mistura foi centrifugada. O sobrenadante foi recolhido, fervido para a desnaturação das enzimas e centrifugado de novo. A alíquota do sobrenadante foi utilizada para determinação do teor de açúcar. A eficiência da hidrólise enzimática foi estimada pelo teor de açúcar obtido após o tratamento enzimático pelo teor de açúcar obtido da polpa pré-tratada.

#### Teor de açúcar da hidrólise enzimática (Artigo IV)

Os teores de açúcar nos hidrolisados enzimáticos foram analisadas por HPLC (Dionex), para detectar glucose, xilose, galactose, manose e arabinose. Utilizou-se uma coluna Shodex SP0810 e um cartucho de pré-coluna. A temperatura utilizada foi de 80 ° C, o eluente H<sub>2</sub>O, com fluxo de 0,5 mL/min e com detector de índice de refração (RID).

### 2.3. Métodos analíticos

#### Composição química da madeira e polpa

A Tabela 2 resume os métodos de referência utilizados para determinar a composição química e propriedades físico-mecânicas.

**Tabela 2.** Procedimentos analíticos para caracterização físico-química da polpa celulósica e licores

<b>Parâmetros</b>	<b>Procedimentos</b>
Extrativos em diclorometano	Tappi T 204 cm-97
Lignina	Tappi T 222
Conteúdo de carboxila	Tappi T 237 om-93
Número de cobre	Tappi T 430 om-94
Número Kappa	Tappi T 236 cm-85
Viscosidade	Tappi T 230 om-94
Teor de organoclorados (OX)	SCAN W 9:89 ECS1600
Conteúdo de Ácidos Hexenurônicos	VUORINEN et al. (1996)
Alvura	Tappi T 452 om-86
Análises de soluções padrões e soluções residuais de dióxido de cloro e peróxido de hidrogênio	McDonald (1967)

#### Propriedades físico-mecânicas

Os procedimentos utilizados nos testes físicos-mecânicos das polpas são descritos na Tabela 3.

**Tabela 3.** Metodologia para realização de testes físico-mecânicos

<b>Parâmetros</b>	<b>Norma Tappi</b>
Gramatura	TAPPI T410 om-08
Energia de deformação	TAPPI T494 om-96
Espessura	TAPPI T551 om-06
Índice de rasgo	TAPPI T414 om-04
Índice de arrebentamento	TAPPI T403 om-02
Índice de tração	TAPPI T494 om-06
Módulo de elasticidade	TAPPI T494 om-96
Formação de folhas laboratoriais de papéis	TAPPI T205 sp-95
Drenabilidade – Freeness	TAPPI 227 om-04
Peso específico aparente	TAPPI T220 sp-96
Volume específico aparente	TAPPI T220 sp-96
Resistência à passagem de ar	TAPPI T460 om-02
Resistência à drenagem – Schopper Riegler	TAPPI 423 cm-07

#### **2.4. Análises estatísticas**

Para análise dos testes físicos-mecânicos das polpas, tratadas com diferentes condições de branqueamento em diferentes níveis de refino, foram utilizadas o software Curve Expert 1.4 para obtenção dos modelos. As equações ajustadas foram comparadas pelo teste F, utilizando-se o teste de identidade de modelos e adotando-se um nível de significância de até 5% de probabilidade, conforme metodologia apresentada por Regazzi (1993) para modelos lineares e Regazzi e Silva (2004) para modelos não lineares.

## **3.RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **3.1. Métodos de avaliação e causas da reversão de alvura de polpas de fibras curtas (Artigo I)**

O objetivo deste estudo foi estabelecer condições de laboratório adequadas para avaliar a reversão de alvura da celulose que ocorre durante o seu armazenamento, manuseio e transporte. Foi também investigado o efeito da composição química da polpa na sua estabilidade de alvura. As condições de envelhecimento acelerado I e II (GRANSTROM et al. 2001) e as condições de envelhecimento natural III-V foram utilizadas para avaliação da reversão de alvura.

#### **Caracterização da Polpa**

As dez amostras de polpa de fibra curta utilizadas neste estudo foram obtidas de nove empresas diferentes. Duas polpas foram produzidas da madeira de bétula, uma de acácia e as demais de eucalipto (Tabela 4). Duas polpas foram branqueadas com a tecnologia TCF e uma foi branqueada com a tecnologia ECF light (OX inferior a 30 mg Cl/kg de polpa absolutamente seca), que utiliza menores dosagens de ClO<sub>2</sub>. As outras polpas foram branqueadas com diferentes sequências de branqueamento ECF, quatro com um estágio P (peróxido de hidrogênio) final e três com um estágio D (dióxido de cloro) final. As alvuras iniciais das polpas foram 89-92% ISO e o número kappa entre 0,2-5,8. A viscosidade da polpa branqueada de acácia foi muito baixa em relação às outras polpas (Tabela 4). Isto pode ser explicado pelo fato da madeira de acácia ter, geralmente, uma alta densidade e alto teor de extrativos, necessitando alta carga de álcali no cozimento, o que promove decréscimo do comprimento das cadeias de celulose (MALINEN et al., 2005; ALENCAR, 2009).

A composição química detalhada das polpas, incluindo número de cobre, grupos carboxílicos totais, ácidos hexenurônicos, organoclorados (OX), glicanas, xilanas e extraíveis (em diclorometano) das polpas antes do envelhecimento estão apresentados na Tabela 5. As polpas com teores elevados de HexA também tiveram um alto teor de grupos carboxílicos e número kappa. A polpa ECF de bétula (nº 8) teve um alto teor de cloro ligado organicamente provavelmente causado por uso de

grande quantidade de dióxido de cloro na sequência de branqueamento. O conteúdo de xilana da polpa de bétula (polpas 8 e 9, Tabela 5) foi, como esperado (SJOSTRÖM, 1992), significativamente maior em comparação com as outras polpas de fibra curta.

**Tabela 4.** Características gerais das polpas kraft industriais de fibra curta antes da reversão

No.	Espécies de madeira	Tipo de branqueamento <sup>1</sup>	Alvura, %ISO	Número Kappa	Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg
1	Euca.	ECF D	90,8	0,8	866
2	Euca.	ECF P	92,2	0,2	876
3	Euca.	ECF P	89,6	0,4	842
4	Euca.	ECF P	90,6	3,7	674
5	Euca.	ECF P	89,6	4,5	734
6	Euca.	ECF light P	90,9	1,9	829
7	Euca.	TCF P	89,0	5,8	813
8	Bétula	ECF D	89,6	0,2	1150
9	Bétula	TCF P	90,2	4,8	811
10	Acacia	ECF D	90,9	0,4	487

<sup>1</sup>O estágio final de branqueamento das polpas está mostrado em itálico.

**Tabela 5.** Composição química detalhada das polpas kraft industriais de fibra curta antes do envelhecimento

No.	Número de cobre, gCu <sub>2</sub> O/100g	Grupos carboxílicos, meq/100g	Grupos HexA, mmol/kg	OX, mgCl/kg	Glicanas, %	Xilanas, %	Extrativos (DCM), %
1	0,04	6,2	6,2	103	83,4	15,7	0,08
2	0,27	5,9	1,8	87	83,3	16,0	0,10
3	0,11	6,2	4,1	74	84,6	14,7	0,10
4	0,37	10,4	25,8	80	83,6	15,8	0,10
5	0,19	11,1	29,9	103	83,2	16,4	0,10
6	0,23	6,2	10,7	28	83,2	16,0	0,11
7	0,06	10,4	47,7	7	81,8	15,5	0,06
8	0,38	5,4	2,1	171	72,7	24,7	0,10
9	0,05	9,2	37,1	6	74,5	23,2	0,08
10	0,40	2,3	1,2	119	83,8	13,7	0,10

## Testes de Reversão de Alvura nas Polpas

Envelhecimento acelerado de acordo com a Condição I

As polpas foram hidratadas com água destilada até a consistência de 0,3% e o pH das suspensões foram ajustados para 4,5 e 8,0, sendo em seguida, produzidas folhas manuais de acordo com a norma Tappi. Os valores de pH escolhidos são comumente utilizados na indústria de celulose e papel no processo de formação de folhas de polpa de celulose (pH 4,5) e na formação de folhas de papel (pH 8,0). As folhas foram então submetidas ao teste de reversão acelerada à seco (Condição I – 105 °C, 4h e 0% de umidade relativa). A composição química detalhada das polpas kraft industriais após o envelhecimento foram determinados e estão apresentados na Tabela 6. Os dados de reversão de alvura foram expressos como número de cor posterior (NCP). O número de cor posterior envolve os princípios da Teoria de Kubelka e Munk, que expressa as relações entre reflectância, absorbância e transparência através da introdução dos coeficientes de absorção (K) e de dispersão de luz (S).

$$NCP = \left( \frac{K}{S} \text{ após envelhecimento} - \frac{K}{S} \text{ antes do envelhecimento} \right) \times 100$$

Sendo que,

$$\frac{K}{S} = \frac{(1 - R_{\infty})^2}{2R_{\infty}}$$

Onde:

$R_{\infty}$  = Refletância de uma pilha “infinita” de folhas do mesmo tipo = Alvura

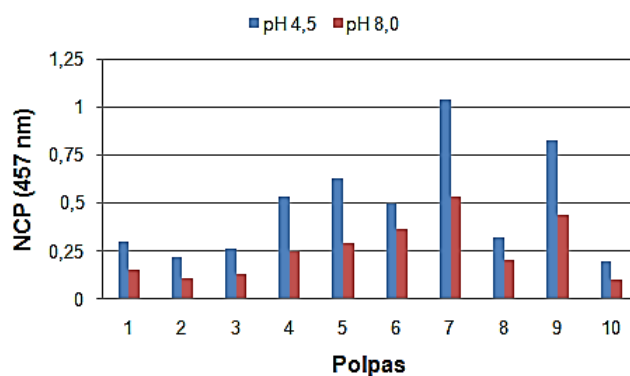
K = Coeficiente de absorção de luz, m<sup>2</sup>/kg

S = Coeficiente de dispersão de luz, m<sup>2</sup>/kg

A Figura 7 mostra o número de cor posterior das diferentes polpas envelhecidas em pH 4,5 e 8,0 de acordo com a Condição I.

**Tabela 6.** Composição química detalhada das polpas kraft industriais de fibra curta depois do envelhecimento de acordo com a Condição I (105 °C, 4h e 0% UR) em pH 4,5 e 8,0

Nº	Seq. de branq. I	pH	NCP	No. Kappa	HexA mmol/kg	No. de cobre gCu <sub>2</sub> O/100g	Grupos carboxílicos meq/100g	OX mgCl/kg	Visc. dm <sup>3</sup> /kg
1	ECF D	4,5	0,30	0,5	4,8	0,05	7,0	102	809
		8,0	0,15	0,7	5,8	0,04	7,9	103	831
2	ECF P	4,5	0,21	0,1	1,6	0,40	6,1	86	813
		8,0	0,10	0,2	1,7	0,30	6,4	87	838
3	ECF P	4,5	0,26	0,2	3,1	0,31	7,1	73	820
		8,0	0,13	0,3	3,9	0,20	7,3	73	832
4	ECF P	4,5	0,53	2,6	24,1	0,42	10,5	79	602
		8,0	0,25	3,0	25,2	0,36	10,9	79	621
5	ECF P	4,5	0,63	2,5	22,5	0,40	12,1	101	697
		8,0	0,29	3,8	29,6	0,30	12,6	103	714
6	ECF light P	4,5	0,50	0,9	8,5	0,29	6,5	26	790
		8,0	0,36	1,5	10,0	0,24	7,3	27	824
7	TCF P	4,5	1,04	4,7	45,9	0,22	10,5	7,0	743
		8,0	0,53	5,3	47,2	0,15	11,3	7,0	757
8	ECF D	4,5	0,32	0,1	1,7	0,42	5,4	168	1001
		8,0	0,20	0,2	1,9	0,40	5,6	169	1066
9	TCF P	4,5	0,83	3,8	36,2	0,15	9,2	6,0	746
		8,0	0,44	4,2	36,9	0,08	10,0	6,0	778
10	ECF D	4,5	0,20	0,2	1,1	0,45	2,4	118	437
		8,0	0,10	0,4	1,2	0,42	2,5	118	463



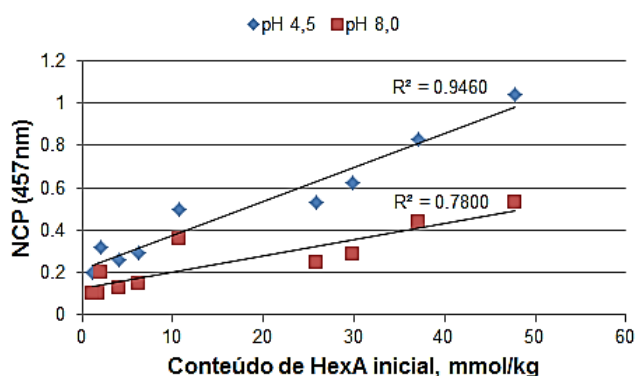
**Figura 7.** Número de cor posterior das polpas 1-10 envelhecidas de acordo com a Condição I (105 °C, 4h e 0% UR) em pH 4,5 e 8,0.

O aumento no pH de 4,5 para 8,0 durante a formação da folha diminuiu substancialmente a reversão de alvura à seco para todas as amostras de polpa e está de acordo com dados reportados anteriormente (FORSSTRÖM et al., 2007a, 2007b). Os resultados indicaram que a reversão de alvura varia significativamente entre as

diferentes amostras de polpa, que pode ser explicado pela tecnologia de fabricação de celulose utilizada nos diversos casos. As polpas com números kappa mais elevado e conteúdo HexA foram mais propensas a reversão do que aqueles com continham menos materiais oxidáveis.

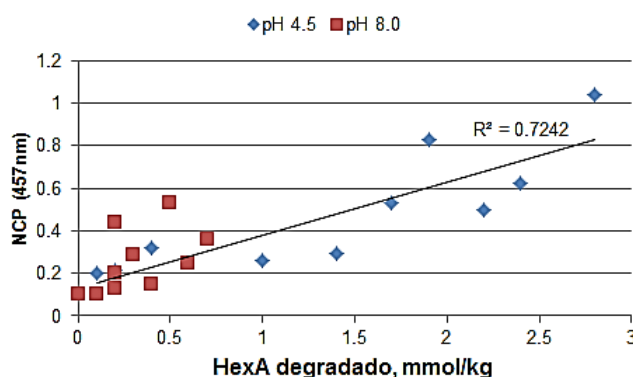
O número kappa original das polpas correlacionou positivamente e significativamente com a reversão de alvura, sendo que o número kappa tende a diminuir durante o teste de reversão. Este resultado já era esperado uma vez que os principais componentes do número kappa da polpa de fibra curta (lignina e HexA) são reconhecidos por causar reversão (GELLERSTEDT, 2001). Entre estes dois componentes, a fração de HexA é aparentemente mais importante, como mostrado na Figura 8.

A correlação entre o HexA inicial da polpa e a reversão de alvura (baseada em número de cor posterior - NCP) foi bastante acentuada. O pH 4,5 teve grande influência na reversão de alvura, podendo ser causada pela degradação e/ou oxidação de constituintes da polpa em compostos cromóforos. GELLERSTEDT e SEVASTYANOVA (2005) acreditam que esta reversão seja causada em função da hidrólise ácida dos HexA, seguida pela geração de ácidos orgânicos coloridos de baixo peso molecular. Dentre estes ácidos orgânicos destacam-se os ácidos 2-furancarboxílico (FA), 5-formil-2-furancarboxílico (FFA) e 2,3-diidroxi-2-ciclopent-2-enona (RA) (Figura 3).



**Figura 8.** Correlação entre número de cor posterior (NCP) e o conteúdo de ácido hexenurônico (HexA) inicial da polpa - envelhecimento de acordo com a Condição I (105 °C, 4h e 0% UR) em pH 4,5 e 8,0.

A Figura 9 mostra a correlação positiva entre o número de cor posterior (NCP) e o teor de HexA degradado ( $R^2=0,7242$ ). Ocorreu mais reversão para as polpas que tiveram mais HexA degradados durante o teste de envelhecimento acelerado. A diminuição do teor de HexA durante o envelhecimento está de acordo com a literatura (FÖRSTRÖM et al., 2007a; GELLERSTEDT, 2001). Em pH 4,5 ocorreu uma maior degradação dos HexA, devido à sua hidrólise ácida.



**Figura 9.** Correlação entre número de cor posterior (NCP) (457 nm) e grupos de ácidos hexenurônicos (HexA) degradados, durante envelhecimento sob a Condição I (105 °C, 4h e 0% UR) em pH 4,5 e 8,0.

As amostras de polpas TCF (7 e 9) mostraram reversão muito elevados por causa de seu alto teor HexA. A amostra ECF light (6), que contém quantidades significativas de HexA também apresentou reversão significativa, em relação as demais amostras ECF. A hipótese de que um estágio P-final (polpas 2-7, 9, cf. Tabela 6) na sequência de branqueamento de polpas de fibras curtas é benéfica para a estabilidade de alvura (EIRAS et al. 2005) não foi comprovada neste estudo. Foi observado um aumento do número de cobre e do teor de grupos carboxílicos totais e uma diminuição da viscosidade da polpa durante o envelhecimento.

#### Envelhecimento acelerado de acordo com a Condição II

A Condição II de reversão é significativamente diferente da Condição I com relação ao tempo de envelhecimento, temperatura e umidade da polpa. Na Condição I, as polpas foram mantidas em uma estufa com 0% de umidade e na Condição II cada amostra foi mantida por um longo tempo dentro de um saco de polietileno

fechado com um teor de umidade desconhecido, derivado da evaporação da água presente nas polpas (10-11%). Em estudos anteriores, observou-se que os valores de reversão à úmido foram substancialmente mais elevados que na condição seca (BJÖRKLUND et al., 2005). A temperatura e o tempo também foram diferentes da Condição I, sendo que na Condição II as amostras foram mantidas em 70 °C por 64 horas.

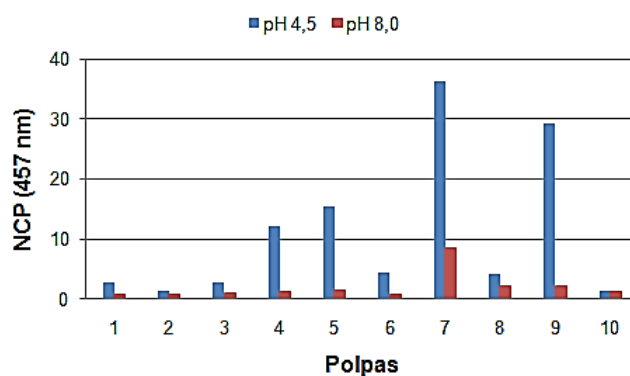
O efeito do envelhecimento no número kappa, teor de HexA, viscosidade, número de cobre, OX e grupos carboxílicos foram avaliados e os resultados estão apresentados na Tabela 7 e nas Figuras 10-12.

Devido à maior umidade relativa do ar os valores de reversão de alvura foram substancialmente superiores na Condição II em comparação com a Condição I (Figura 7 vs Figura 10). Enquanto na Condição I o valor máximo de NCP foi de 1,04 para a polpa 7 em pH 4,5; na Condição II foi de 36,2 para a mesma polpa e pH. No entanto, as condições I e II apresentaram a mesma tendência no que diz respeito aos efeitos sobre a reversão de alvura no número kappa, HexA, viscosidade, número de cobre, OX e grupos carboxila.

**Tabela 7.** Propriedades das polpas kraft industriais de fibra curta depois do envelhecimento de acordo com a Condição II (70 °C, 64 h e 10%UR), em pH 4,5 e 8,0

No.	Seq. de branq. <sup>1</sup>	pH	NCP	No. Kappa	Grupos HexA mmol/kg	No. de cobre gCu <sub>2</sub> O/100g	Grupos carboxílicos meq/100g	OX mgCl/kg	Visc. dm <sup>3</sup> /kg
1	ECF D	4,5	2,77	0,4	4,5	0,06	7,2	100	732
		8,0	0,82	0,7	5,6	0,05	8,1	102	783
2	ECF P	4,5	1,30	0,1	1,4	0,50	6,3	86	720
		8,0	0,61	0,1	1,7	0,40	6,8	86	802
3	ECF P	4,5	2,66	0,2	2,7	0,40	7,4	71	702
		8,0	0,88	0,3	3,6	0,30	8,1	72	791
4	ECF P	4,5	12,15	2,1	16,8	0,54	8,1	78	528
		8,0	1,14	2,9	25,3	0,39	10,5	78	580
5	ECF P	4,5	15,41	2,3	18,4	0,56	10,4	101	587
		8,0	1,45	3,5	29,4	0,40	11,4	101	659
6	ECF light P	4,5	4,36	0,9	7,6	0,05	6,9	23	707
		8,0	0,81	1,6	9,7	0,04	7,8	25	743
7	TCF P	4,5	36,23	4,1	20,9	0,29	5,7	7,1	462
		8,0	3,50	4,9	43	0,20	9,4	7,2	624
8	ECF D	4,5	4,05	0,1	1,4	0,58	5,4	165	829
		8,0	2,13	0,2	2,0	0,47	5,6	167	941
9	TCF P	4,5	29,35	3,4	22,3	0,25	5,1	6,0	525
		8,0	2,14	4,3	36,6	0,15	9,3	5,9	711
10	ECF D	4,5	1,35	0,2	0,9	0,6	2,2	110	381
		8,0	1,09	0,3	1,1	0,52	2,6	111	415

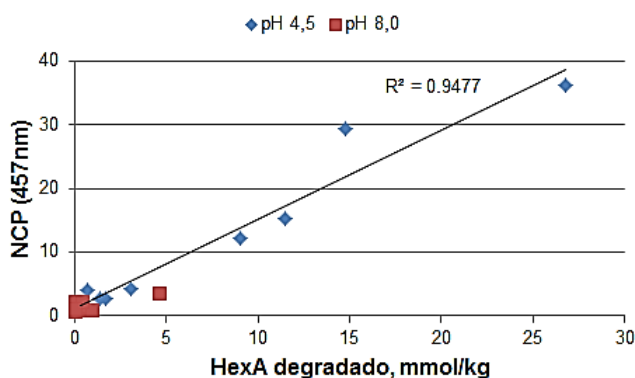
<sup>1</sup>O estágio final de branqueamento das polpas está mostrado em itálico.



**Figura 10.** Número de cor posterior (NCP) das polpas 1-10 envelhecidas de acordo com a Condição II (70 °C, 64 h e 10%UR) em pH 4,5 e 8,0.

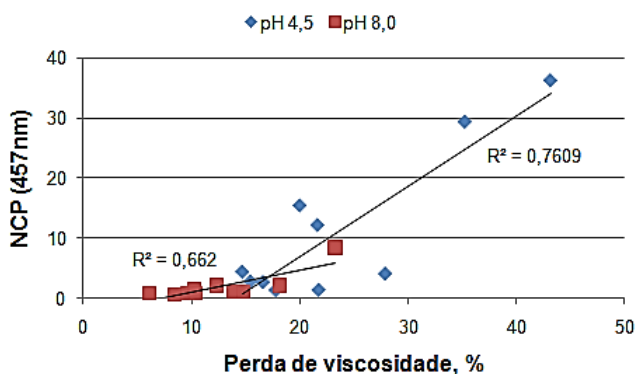
A correlação entre o número de cor posterior e a quantidade de grupos HexA reagidos foi muito alta para o envelhecimento na Condição II (Figura 11). A degradação do HexA da polpa foi muito significativa para as polpas preparadas em pH 4,5, por exemplo, mais da metade do conteúdo de HexA foi degradado durante o

envelhecimento da polpa TCF 7 (Tabela 7), o teor inicial de HexA era 47,7 mmol/kg e diminuiu para 20,9 mmol/kg após o envelhecimento. Em pH 8,0, a degradação foi muito mais baixa, algo que pode ser explicado por um menor grau de hidrólise do HexA (VUORINEN et al., 1999; SEVASTYANOVA, 2005).



**Figura 11.** Correlação entre número de cor posterior (NCP) (457 nm) e grupos de ácidos hexenurônicos (HexA) degradados para a polpa envelhecida de acordo com a Condição II (70 °C, 64 h e 10% UR), em pH 4,5 e 8,0.

Uma redução significativa na viscosidade da polpa também foi observada durante o envelhecimento de todas as amostras de polpa. Como previsto, a perda de viscosidade foi muito mais significativa na Condição II do que na Condição I e o efeito foi mais pronunciado em pH 4,5 para a maioria das polpas quando comparado em pH 8,0 como mostrado na Figura 12. As polpas TCF (nº 7 e 9) apresentaram alta perda de viscosidade como ocorreu com a polpa EFC de bétula. O número kappa diminuiu durante o envelhecimento em pH 4,5.



**Figura 12.** Correlação entre número de cor posterior (NCP) (457 nm) e perda de viscosidade para a polpa envelhecida de acordo com a Condição II (70 °C, 64 h e 10% UR), em pH 4,5 e 8,0.

Similarmente às tendências observadas na Condição I, não foi observada boa correlação entre os grupos redutores da celulose e a reversão de alvura sob a Condição II. Os valores de número de cobre da polpa tenderam a aumentar durante o envelhecimento de celulose, mas a uma taxa muito mais elevada do que aqueles observados em Condição I.

O teor de ácido carboxílico da polpa tendeu a aumentar durante o envelhecimento, para a maioria das amostras de celulose com pH 8,0. Em pH 4,5, onde a degradação do HexA é mais acentuada, as amostras de polpa 4, 5, 7 e 9 apresentaram uma diminuição no grupo carboxílico. Este resultado pode ser explicado pela diminuição bastante brusca nos teores de HexA das polpas durante o envelhecimento na Condição II. Em outras palavras, a criação de grupos carboxílicos que ocorreram durante o envelhecimento foi mais do que contrabalançada pela perda de grupos HexA. É interessante notar que ácidos carboxílicos são formados com mais intensidade em pH 8,0 que em pH 4,5. Também é verdade que os HexA são menos destruídos durante o envelhecimento em pH 8,0.

O teor de cloro ligado organicamente na polpa (OX) não apresentou correlação significativa com a reversão de alvura. Conforme demonstrado na Condição I nenhuma mudança significativa no teor de OX da polpa de celulose ocorreu durante o envelhecimento, mesmo sob o ambiente mais úmido da Condição II.

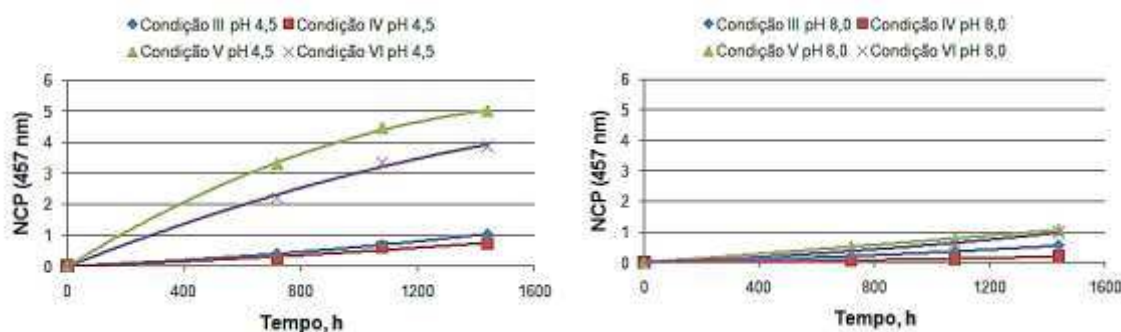
#### Envelhecimento natural em função das condições III-VI

Nas condições III-VI foram utilizadas temperaturas de 30 e 45°C para os tratamentos. As temperaturas escolhidas foram baseadas na temperatura de enfardamento industrial de polpa de celulose, o qual ocorre geralmente entre as temperaturas de 30-45 °C. A média de umidade relativa do ar em todo o mundo tende a ser na faixa de 50-90%. Assim, um experimento foi feito para simular a reversão de alvura nestas condições, o que estaria mais em consonância com as situações da vida real. Os resultados preliminares indicaram a necessidade de períodos muito longos de envelhecimento, a fim de obter resultados de reversão significativos. Os tempos de envelhecimento de 720 a 1440 horas (30 a 60 dias) foram, portanto, investigados.

Esses experimentos foram realizados com a amostra de polpa 4 (ECF eucalipto). Foram também realizados estudos com as outras amostras de polpa, sendo

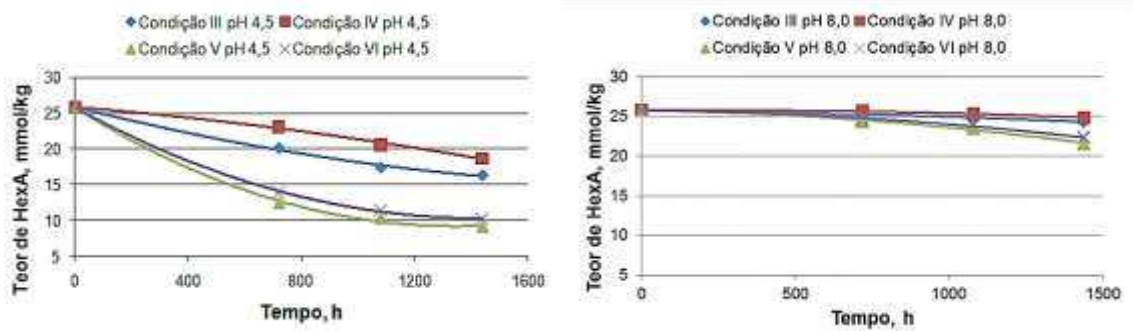
os resultados similares aos observados com a amostra 4 (Tabelas 1A-4A no Apêndice A) e, portanto, não serão discutidas aqui.

Foi observado que as Condições III (45 °C e 50% UR), IV (30 °C e 50% UR), V (45 °C e 90% UR) e VI (30 °C e 90% UR) mantiveram o mesmo modo de envelhecimento que as condições I e II, porém com um menor grau de reversão de alvura. O número de cor posterior (NCP) versus tempo de envelhecimento está apresentado na Figura 13 para a amostra 4. É evidente que a reversão é muito mais severa à 90% (Condição V e VI) de umidade relativa do que em 50% (Condição III e IV). O impacto da umidade é acentuado em pH 4,5 em comparação com o pH 8,0. A maior reversão foi observada na Condição V (45 °C e 90% UR) em pH 4,5 (NCP=5,00). A menor reversão na Condição IV (30 °C e 50% UR), resultou num NCP=0,19 para a amostra em pH 8,0. Assim, é evidente que a baixa reversão de alvura pode ser obtida pelo ajuste de pH a 8,0 e mantendo a amostra de celulose a temperatura e a umidade relativa mais baixa possível.



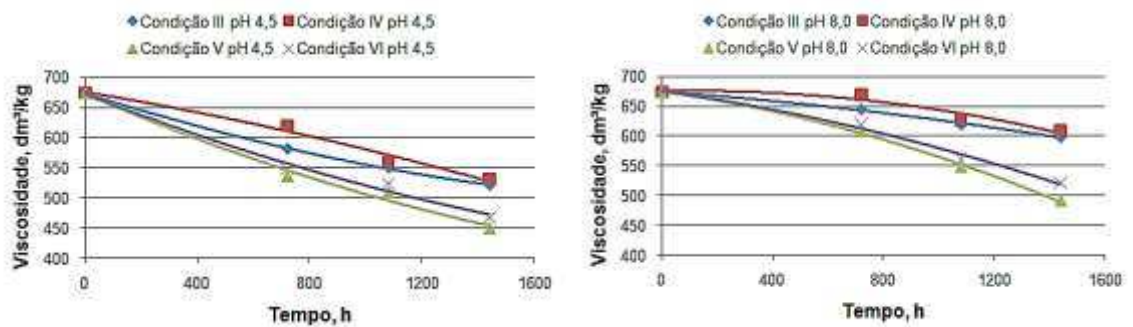
**Figura 13.** Número de cor posterior (NCP) (457 nm) em função do tempo de envelhecimento para a polpa No. 4 de acordo com as Condições III-VI em pH 4,5 e 8,0.

As taxas de decaimento do número kappa e HexA seguiram o mesmo padrão. Na Figura 14, verificou-se o comportamento do ácido hexenurônico durante o processo de envelhecimento. O teor de HexA diminuiu com o tempo, sendo que no pH 4,5 a queda foi mais acentuada do que o pH 8,0 e a Condição V foi onde houve uma maior degradação desse ácido. A maior degradação do ácido hexenurônico causa maior amarelecimento na polpa devido à formação de compostos com coloridos como os ácidos furóicos (FFA e FA) e o ácido redúctico (RA).



**Figura 14.** Teor de ácido hexenurônico (HexA) em função do tempo de envelhecimento para a polpa No. 4 de acordo com as Condições III-VI em pH 4,5 e 8,0.

A viscosidade também tendeu a diminuir com o envelhecimento e na umidade relativa do ar igual a 90 %, houve uma queda bastante acentuada (Figura 15). Novamente confirmando que o aumento de água na polpa de celulose favorece os mecanismos de clivagem das cadeias de celulose, devido a hidrólise das ligações  $\beta$ -glicosídicas da celulose.

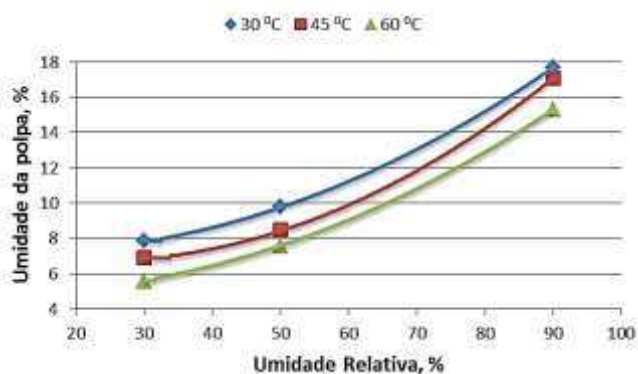


**Figura 15.** Viscosidade em função do tempo de envelhecimento para a polpa No. 4 de acordo com as Condições III-VI em pH 4,5 e 8,0.

Para todas as condições de envelhecimento, é evidente que a baixa reversão pode ser conseguida através do aumento do pH da polpa de celulose antes de ser transportada e mantendo a polpa a baixas temperatura e umidade relativa do ar, se possível. A secagem da celulose em pH 8,0 não é ainda viável, devido a baixa drenabilidade da polpa neste pH. Portanto, o controle do teor de HexA da polpa é ainda uma prática necessária para o nível industrial.

## Umidade relativa versus conteúdo de umidade na polpa

Considerando que várias temperaturas e umidades relativas foram avaliadas neste estudo foi determinada a umidade de equilíbrio das polpas em tais condições. Notou-se na Figura 16 que a umidade de equilíbrio da polpa aumenta com o aumento de umidade relativa e diminuição da temperatura. O efeito da umidade relativa do ar foi muito mais significativo que o da temperatura nas faixas estudadas. Portanto, para as condições de envelhecimento avaliadas neste estudo, as umidades de equilíbrio (quando não houve mais variação de umidade) das polpas foram; Condição III (45 ° C, 50% UR) = 8,5%; Condição IV (30 ° C, 50% UR) = 9,9%; Condição V (45 ° C, 90% UR) = 17%; e Condições VI (30 ° C, 90% UR) = 17,8%. O aumento de umidade relativa do ar de 50 % para 90 % teve grande impacto sobre a quantidade de água retida pela polpa de celulose, o explica grande efeito da umidade relativa do ar na estabilidade de alvura da polpa.



**Figura 16.** Conteúdo de umidade da polpa em função das condições ambientais (temperatura e umidade relativa).

## CONCLUSÕES

Após serem avaliados neste estudo, o efeito das condições de envelhecimento a seco e a úmido sobre a reversão de alvura de polpas kraft branqueadas podemos inferir que:

- Os métodos (seco, úmido, alta/baixa UR, alta/baixa temperatura, alto/baixo tempo) medem satisfatoriamente a reversão de alvura de polpas kraft, porém o método a seco da Tappi UM 200 (105 °C, 0% de UR, 4 h) é sugerido pela sua simplicidade.
- A reversão de alvura seca e úmida induzida por calor correlaciona positivamente e significativamente com teor de ácidos hexenurônicos da polpa.
- As polpas produzidas pelas tecnologias de branqueamento TCF e ECF light são mais propensas a reversão do que as polpas ECF regulares.
- A reversão de alvura provoca uma diminuição significativa no número kappa da polpa, do teor de HexA e da viscosidade da polpa.
- Em geral, o conteúdo de grupos redutores da polpa (número de cobre) aumentou durante o envelhecimento.
- O conteúdo de grupos carboxílicos na polpa aumentou durante o envelhecimento à seco, mas essa tendência não foi tão clara para o envelhecimento à úmido.
- A estabilidade de alvura da polpa é substancialmente melhorada pelo aumento do pH na suspensão da polpa de 4,5 para 8,0 antes da secagem.
- O teor de cloro ligado organicamente na polpa não teve efeito significativo sobre a reversão e mostrou pouca variação durante o envelhecimento.
- A umidade relativa na faixa de 50-90 % influencia a reversão muito mais fortemente do que a temperatura na faixa de 30-45 °C.
- O teor de umidade de equilíbrio nas folhas diminuiu de 9,9 % para 8,5 % pela elevação da temperatura ambiente de 30 °C para 45 °C à 50% de umidade relativa, e de 9,9 % para 17,8 % no aumento da umidade relativa de 50% para 90% à 30 °C.

### **3.2. Influência do pH e teor de HexA da polpa na sua estabilidade de alvura, refinabilidade e propriedades físico-mecânicas (ArtigoII)**

Modernas sequências de branqueamento têm sido desenvolvidas para produzir polpas com mínimo conteúdo de HexA e de grupos redutores. Sequências contendo dióxido de cloro à quente ( $D_{HT}$ ) ou ácido à quente ( $A_{HT}$ ) como primeiro estágio e peróxido de hidrogênio (P) como estágio final são geralmente bastante eficazes para minimizar HexA e grupos redutores. Exemplos de tais sequências são  $A_{HT}/D(PO)DP$  e  $D_{HT}(EP)DP$ , que ganharam muita aceitação nos últimos anos para branqueamento de celulose kraft de eucalipto. Elas permitem a produção de polpas de alta alvura e alta estabilidade de alvura. No entanto, mesmo polpas branqueadas com estas sequências ainda apresentam reversão de alvura (1,5-2 % ISO de perda de alvura).

Nesta parte do trabalho, foi branqueada uma polpa industrial pré-deslignificada com oxigênio utilizando as tecnologias ECF e TCF. Os branqueamentos realizados nesta parte do trabalho tiveram por objetivo a produção de polpas com diferentes teores de ácido hexenurônico, para isto foram utilizadas dosagens distintas de dióxido de cloro, que é um reagente que tem a capacidade de degradar os ácidos hexenurônicos (SILTALA et al., 1998; EIRAS et al., 2009). Após o branqueamento, o pH das polpas foram ajustadas para 4,5 e 8,0, submetidas ao refino e em seguida, avaliado o efeito do HexA e pH nas propriedades físico-mecânica das polpas.

#### **Preparação das polpas com variados teores de HexA**

As sequências de branqueamento  $Q(EP)QP$  e  $D(EP)DP$  foram utilizadas para produzir polpas com teores variados de HexA (Tabela 8). As condições experimentais de todos os branqueamentos realizados neste estudo encontram-se nas Tabelas 1B-6B do Apêndice B.

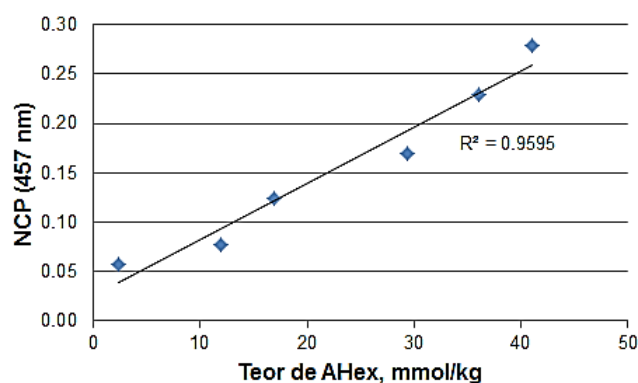
Na sequência  $Q(EP)QP$ , não houve a adição de dióxido de cloro ao processo e a polpa apresentou o maior teor de HexA. A polpa 6 com  $FK = 0,24$  foi a que teve maior estabilidade de alvura ( $NCP = 0,06$ ), mas para alcançar a alvura acima de 90 % ISO e um baixo teor de HexA, esta sequência necessitou de uma elevada carga de

dióxido de cloro nos estágios D. Já a polpa 1 branqueada pela sequência TCF, obteve maior reversão de alvura (NCP 0,28) e necessitou de uma alta carga de peróxido de hidrogênio nos estágio (EP) (25 kg/tas) e P (25 kg/tas) para atingir alvura superior a 90 % ISO, entretanto, a elevada dosagem de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultou numa perda de viscosidade da polpa. O teor de HexA correlacionou positivamente com a reversão de alvura (Figura 17). Os resultados mostrados na Tabela 8 sugerem que a reversão é influenciada por uma combinação de vários fatores que provavelmente ocorrem sinergicamente. Embora o teor de OX não tenha efeito na reversão de alvura como mostrado no Item 3.1, o resultado da Tabela 8 indica um efeito dessa variável, porém esse efeito é indireto, já que polpas com baixo teor de OX foram produzidas com baixa dosagem de ClO<sub>2</sub>. Quando se usa baixa dosagem de ClO<sub>2</sub>, a polpa branqueada contém alto teor de HexA. O alto teor de HexA acelera a reversão.

**Tabela 8.** Características químicas e reversões de alvuras dos branqueamentos da polpa kraft deslignificada com oxigênio\* pelas tecnologias ECF e TCF

Características das polpas branqueadas	1	2	3	4	5	6
	Q(EP)QP	D(EP)DP	D(EP)DP	D(EP)DP	D(EP)DP	D <sub>HT</sub> (EP)DP
	TCF	ECF	ECF	ECF	ECF	ECF
Fator Kappa (FK)	0	0,05	0,12	0,12	0,18	0,24
ClO <sub>2</sub> , kg/tas	0	3	5,7	8,7	9	13,4
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/tas	50	13	9	5	6	1,5
EDTA, kg/tas	4	0	0	0	0	0
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/tas	2,7	2,5	1,8	0,8	0,6	0
NaOH, kg/tas	27	12,4	12,8	10,6	11,5	8,9
MgSO <sub>4</sub> , kg/tas	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg	659	856	867	876	900	905
Alvura final, % ISO	90,4	89,6	90,4	90	90,9	90,6
Número de cor posterior (NCP)	0,28	0,23	0,17	0,12	0,08	0,06
Nº. Kappa	4,8	3,9	3,1	1,9	1,4	0,4
Grupos HexA, mmol/kg	41	36,1	29,3	16,9	11,9	2,3
No. de cobre, gCu <sub>2</sub> O/100g	0,11	0,06	0,03	0,09	0,2	0,2
Grupos carboxílicos, meq/100g	10,5	9,63	8,8	7,54	7,13	5,13
OX, mgCl <sup>-</sup> /kg	0,6	43,2	81,4	124,8	130,1	165,0
Glicana, % na polpa	83,2	82,5	81,3	81,4	82,2	82,7
Xilana, % na polpa	15,7	15,9	17,0	17,1	16,7	16,5

\* Polpa kraft-O<sub>2</sub> original: N<sup>o</sup> Kappa = 10,3; viscosidade = 999 dm<sup>3</sup>/kg; HexA =51,6 mmol/kg



**Figura 17.** Correlação entre número de cor posterior (NCP) a 457nm e o teor de ácidos hexenurônicos (HexA) das polpas branqueadas.

Diferentes cargas de dióxido de cloro (0-13,4 kg/tonelada de polpa absolutamente seca) e peróxido de hidrogênio (1,5-50 kg/tas) foram combinadas nas sequências D(EP)DP e Q(EP)QP para produzir polpas com alvuras a 90 % ISO contendo variado teor de ácidos hexenurônicos. Ficou evidente que quanto menor a carga de  $\text{ClO}_2$ , maior a incidência de reversão, fato este explicado pela maior retenção de HexA quando se usa menos  $\text{ClO}_2$  no branqueamento.

Observou-se que o número kappa e o conteúdo de HexA das polpas branqueadas diminuíram com o aumento da dose de dióxido de cloro, sendo que estes foram menores para a polpa 6. Altos valores de reversão foram obtidos para a polpa 1 com a sequência Q(EP)QP sugerindo que o branqueamento nucleofílico com peróxido de hidrogênio é incapaz de remover certas substâncias que causam a reversão de alvura. Por outro lado, as polpas 2 e 3 que utilizaram o dióxido de cloro no lugar do estágio de quelação, também tiveram baixa estabilidade de alvura. Isto pode ser explicado pelo fato da utilização de baixas dosagens de dióxido de cloro nestas sequências, o que resultou numa baixa remoção de materiais oxidáveis durante o branqueamento.

Os conteúdos de xilanas foram de 15,7% para a sequência Q(EP)QP e de 17,1 a 15,9% para as sequências D(EP)DP. Nota-se que a sequência contendo a etapa de quelação resultou em maior perda de xilanas, o que era esperado em função da alta dosagem de peróxido de hidrogênio, combinado com alta temperatura e prolongado tempo de reação (4h) nos estágios P o que pode ter causado reações de degradação das xilanas.

Em resumo, boa estabilidade de alvura é conquistada quando os materiais oxidáveis da polpa são removidos pelo uso de dosagem adequada de reagentes eletrofílicos como o dióxido de cloro e, a polpa é subsequentemente com agentes nucleofílicos para remover traços de substâncias redutoras que causam reversão (EIRAS et al., 2008).

### **Refinabilidade das polpas branqueadas**

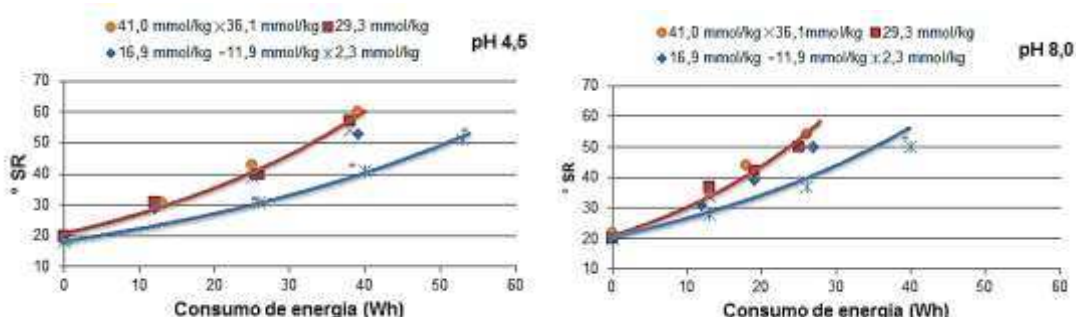
O impacto do conteúdo hexenurônico, do pH e do conteúdo de ácidos hexenurônicos na refinabilidade e nas propriedades físico-mecânicas das polpas foi investigado em polpa branqueada pela sequências D(EP)DD e Q(EP)QP e refinadas em moinho PFI. As propriedades das polpas estão apresentadas sempre em função do correspondente consumo de energia gasto durante o refino. O consumo de energia foi escolhido para se relacionar com as demais propriedades, pois, na indústria de papel, o processo de refinação é uma etapa de alto custo, pois consome muita energia. Cada gráfico apresenta curvas que descrevem os modelos ajustados em função do consumo de energia. Na maioria das vezes têm-se uma curva comum para representar o comportamento de várias polpas, neste caso, tais polpas apresentam propriedades similares, indicando que a hipótese de igualdade entre as equações, testada pelo teste F para identidade de modelos, foi aceita, a uma significância de 5%. Quando observa-se curvas distintas no gráfico é evidenciado que os modelos ajustados diferem estatisticamente, a 5% de probabilidade, e, portanto, mostram comportamentos diferentes entre as polpas estudadas. Os valores médios das propriedades físico-mecânicas e ópticas, para todas as polpas, encontram-se sumarizados no Apêndice C.

Verificou-se que o pH da polpa afeta a sua refinabilidade e propriedades (Figura 18). Os gráficos possuem curvas comuns para certas amostras, evidenciando que com base no teste F, a hipótese de igualdade das equações para as amostras não foram rejeitadas, podendo-se concluir que as equações não diferem significativamente ( $P > 0,05$ ). Assim, uma equação comum pode ser usada como uma estimativa das equações envolvidas.

O pH ligeiramente básico (8,0) foi mais favorável do que o ácido (4,5), em relação à refinabilidade das polpas e consumo de energia. Isso explica porque algumas fábricas de celulose de eucalipto estão convertendo seu tipo de sequência de D(EP)DD para D(EP)DP, o que significa que eles estão mudando o último estágio de branqueamento para um estágio alcalino.

As polpas com maiores teores de HexA necessitaram de menores consumos de energia no refino. Silva et al., 2011 estudou a refinabilidade de polpas tratadas com xilana, sendo alcançada grande economia de energia em polpas tratadas com xilanas contendo HexA. O HexA favorece a ligação interfibras da polpa devido à sua hidrofiliçidade que causa maior retenção de água nas paredes das células conferindo flexibilidade à fibra e facilitando o processo de refino da polpa (PETTERSON e RYDHOLM, 1961; CADENA et al., 2010). A remoção de ácidos hexenurônicos aumentou a energia de refinação necessária para obter um dado nível de grau Schopper-Riegler em relação às polpas com baixa dosagem de dióxido de cloro. O consumo de energia foi reduzido em 39% com o aumento do teor de hexenurônico à 35° SR em pH 4,5, sendo que a alteração do pH para 8,0, a economia de energia foi de 57%.

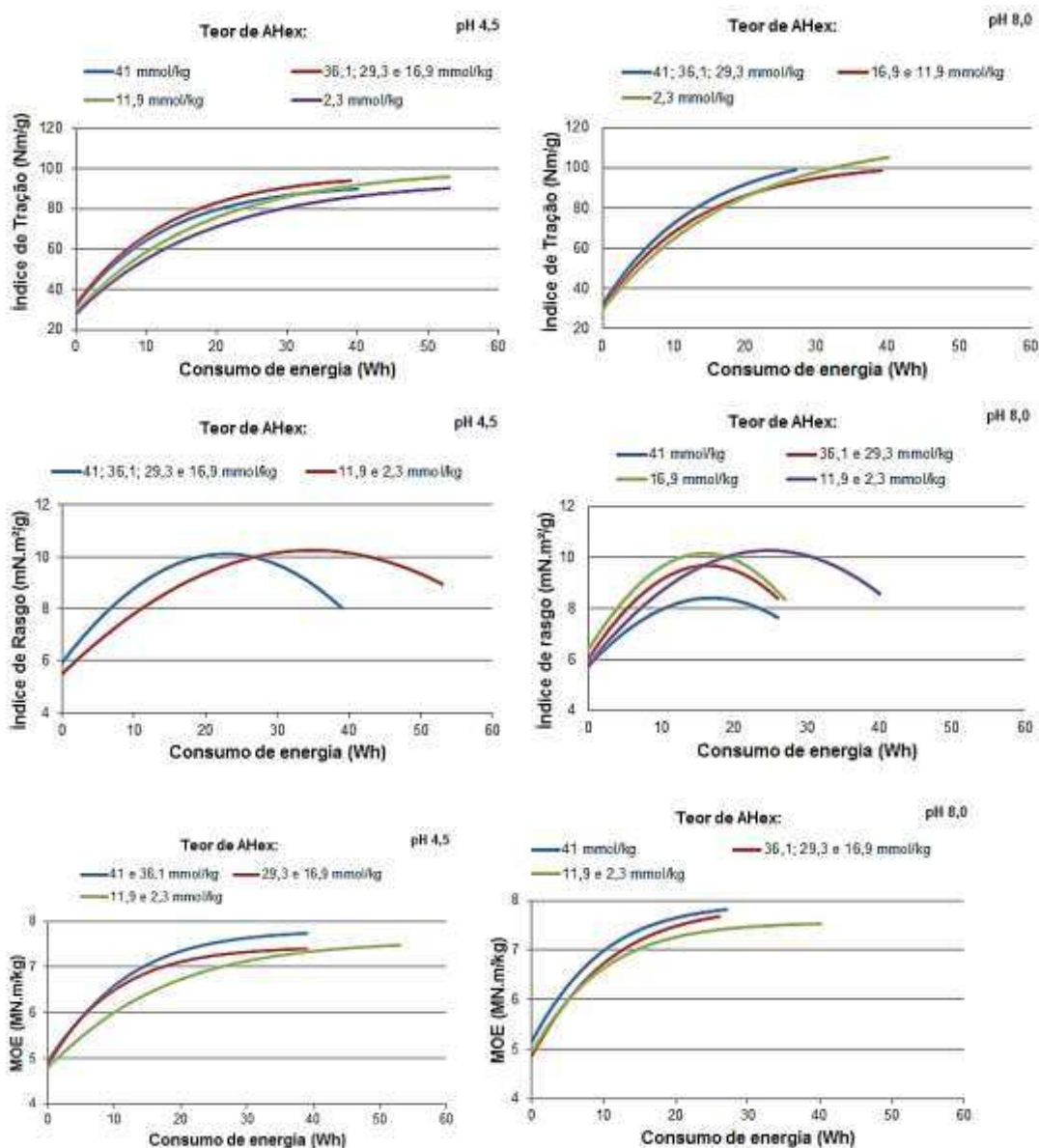
No mesmo nível de consumo de energia, altos valores de Schopper-Riegler (°SR) foram alcançados para a polpa com alto teor de HexA (Figura 18). O Schopper-Riegler é um termo que fornece um resumo da relação do grau de refinação pela taxa de resistência à drenagem da suspensão de fibras diluída. A taxa de resistência à drenagem está relacionada com as condições da superfície e da expansão das fibras, e é considerada um indicador útil de refino da polpa.



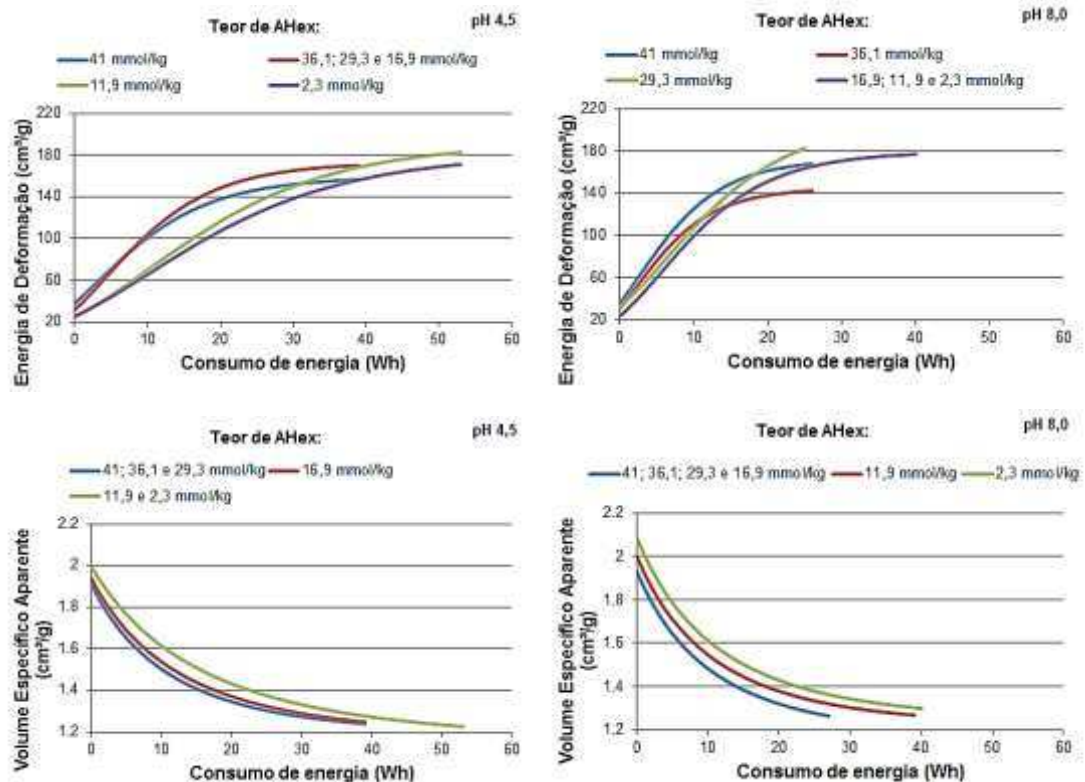
**Figura 18.** Schopper Riegler (°SR) em função do consumo de energia para as polpas branqueadas refinadas em pH 4,5 e 8,0.

## Análise das propriedades físico-mecânicas das polpas branqueadas

A Figura 19 apresenta as curvas de índice de tração, índice de rasgo, módulo de elasticidade (MOE), energia de deformação e volume específico aparente em função do consumo de energia. As curvas que descrevem os modelos ajustados foram testadas pelo teste F para identidade de modelos, a uma significância de 5%.



**Figura 19.** Propriedades físico-mecânicas em função do consumo de energia e teor de HexA para as polpas branqueadas refinadas em pH 4,5 e 8,0 com diferentes teores de ácidos hexenurônicos (mmol/kg).



**Figura 19.** (Continuação) Propriedades físico-mecânicas em função do consumo de energia e teor de HexA para as polpas branqueadas refinadas em pH 4,5 e 8,0.

O índice de tração das polpas branqueadas foi beneficiado pelo aumento do teor de ácidos hexenurônicos (Figura 19). Os menores índices de tração foram encontrados para as polpas branqueadas com elevada dosagem de dióxido de cloro (menor HexA), o que pode ser explicado pelo menor teor de grupos carboxílicos proveniente do HexA. Estes grupos hidrofílicos dos HexA auxiliam na hidratação das fibras, melhorando o refino. A polpa com teor de HexA de 41 mmol/kg apresentou um índice de tração um pouco menor do que as polpas com teor de HexA de 36,1; 29,3 e 16,9 mmol/kg, isto pode ser explicado pelo menor conteúdo de xilana na polpa, assim como pela sua menor viscosidade ( $659 \text{ dm}^3/\text{kg}$ ). O teor de grupos carboxílicos da polpa correlacionou positivamente com a resistência à tração, assim como obtido no trabalho de Saarnio e Gustafsson (1953).

Com o aumento do pH de 4,5 para 8,0 notou-se maiores índices de tração para um mesmo consumo de energia. Isto pode ser explicado pelo fato da maior hidratação das fibras durante o refino no pH 8,0 (CADENA et al., 2010; SILVA et al., 2011).

O índice de rasgo mostrou um aumento no início do refino, tende a reduzir com as fases posteriores do refino; este índice é influenciado pelo comprimento das fibras, teor de finos e fibrilação externa (Figura 19). O aumento da resistência ao rasgo com o refino é explicado pelo aumento da capacidade das fibras de realizar ligações de hidrogênio. O índice de rasgo se maximizou entre 12 a 40 Wh em pH 4,5, e entre 12 a 27 Wh em pH 8,0.

Em pH 4,5, das polpas com teores de HexA de 41; 36,1; 29, 3 e 16,9 mmol/kg tiveram o mesmo comportamento, conforme o teste F, assim como as polpas com teor de HexA de 11,9 e 2,3 mmol/kg. Essas polpas obtiveram um máximo de índice de rasgo em consumo de energia de 23 Wh para as polpas com alto teor de HexA e de 35 Wh para o restante das polpas. Em pH 8,0, os máximos foram de aproximadamente 16 Wh para as polpas com teores de HexA entre 41-16,9 mmol/kg e 25 Wh para as polpas com teor de HexA de 11,9 e 2,3 mmol/kg. Entretanto, para as polpas com HexA entre 41-29,3 mmol/kg em pH 8,0, o baixo consumo de energia não foi o suficiente para obter bons índices de rasgos. Isto pode ser explicado pelas condições drásticas de branqueamento utilizadas para obter alvuras próximas a 90 % ISO, o que provocou uma queda na viscosidade das polpas.

Em relação ao módulo de elasticidade específico (MOE), notou-se que o conteúdo de HexA influenciou no MOE das amostras, sendo os maiores valores obtidos para os papéis produzidos com polpas branqueadas com alto conteúdo de ácido hexenurônico (Figura 19). Para alcançar valores de MOE de 7 MN.m/kg foram consumidos de 14, 17 e 26Wh, para as curvas em pH 4,5, enquanto que para pH 8,0 o consumo foi de 10, 13 e 15 Wh. Mostrando que os HexA influenciam tanto no consumo de energia como nos valores de índice de MOE.

Page e Seth (1988) relataram que o principal fator que influencia o módulo de elasticidade do papel, além do número de ligações interfibras, é a rigidez das fibras, que no papel formado eleva o módulo de elasticidade. Fibras mais rígidas alongam menos, portanto, resistem mais às deformações quando sob a aplicação de uma força.

A relação entre energia de deformação (TEA) e o consumo de energia das polpas estudadas estão apresentadas na Figura 19. No início do refino as polpas com maior teor de HexA obtiveram maiores energias de deformação, entretanto, a medida que o refino foi aumentando estas polpas tenderam a estabilizar. Em pH 8,0, a polpa com teor de HexA de 29,3 mmol/kg apesar de possuir um alto teor de ácidos hexenurônicos teve a mesma tendência das polpas com baixo teor deste ácido. Esta

propriedade é muito dependente das características de formação e do potencial de conformidade das fibras na folha de papel, o que indica que as características morfológicas das fibras são muito importantes, especialmente o comprimento da fibra, a espessura da parede da célula, e diâmetro do lúmen (SILVA e OLIVEIRA , 2000).

O volume específico aparente (VEA) ou bulk é uma propriedade bastante importante quando se trata de papéis de impressão e tissue, já que associam com a opacidade e maciezdo papel, respectivamente para papéis de impressão e tissue. Os maiores valores de volume específico foram obtidos nos papéis em pH 8,0, o que pode ser explicado pela carga de alcali aplicada para regular o pH das polpas, o que causou o inchamento da fibra e, conseqüentemente, o seu aumento em volume (Figura 19). As polpas com menores teores de ácido hexenurônicos obtiveram maiores valores de VEA durante todo o processo de refino da polpa. Com o aumento do refino nas polpas, houve uma queda na VEA. Os menores consumos de energia de refino foram obtidas nas polpas com maior teor de HexA, evidenciando novamente que altos teores de HexA favorecem o refino e a economia do processo pela menor necessidade de energia.

Em resumo, pode-se dizer que as polpas branqueadas com elevado conteúdo de ácido hexenurônicos apresentaram-se economicamente atrativas e com características de resistência mais elevadas (índice de rasgo, tração, MOE). O pH 8,0 foi considerado o mais econômico, porém a secagem de polpas em pH alcalinos ainda é não é viável, pois diminui a drenabilidade da polpa.

## CONCLUSÕES

Foi avaliado o impacto do conteúdo de HexA e pH da secagem da polpa e sua estabilidade de alvura, refinabilidade e propriedades físico-mecânicas. As principais conclusões foram:

- O aumento do teor de HexA, em pH = 8,0, reduziu o consumo de energia no processo de refino da polpa.
- As polpas com alto teor de HexA alcançaram altos valores de ° SR com menores consumos de energia.
- O consumo de energia foi reduzido em 39% com o aumento do teor de hexenurônico à 35° SR em pH 4,5, sendo que a alteração do pH para 8,0, a economia de energia foi de 57%.
- As propriedades físico-mecânicas das polpas branqueadas foram melhoradas com a secagem da polpa em pH 8,0 e com o uso de polpas com alto teor de HexA na maioria das propriedades.
- O índice de tração, índice de rasgo e MOE foram melhoradas pelo alto teor de HexA das polpas.

### 3.3.Efeito do complexo lignina-carboidrato de madeiras híbridas de eucalipto no processo de polpação Kraft (Artigo III)

A lignina de amostras de madeira moída (MWL - milled wood lignin) de eucalipto foram extraídas e analisadas por ressonância magnética nuclear (RMN). Na Tabela 9 são mostradas as características químicas iniciais das madeiras utilizadas neste trabalho, sendo elas: *E. grandis* (G) e os híbridos *E. grandis* X *E. globulus* (GxGL); *E. urophylla* X *E. camaldulensis* (UxC) e *E. dunnii* x *E. grandis* X *E. urophylla* (DGxU).

O conteúdo de lignina variou de 26,1-30,6%, enquanto que o de carboidratos variou entre 57,4 a 61,1%. A menor relação S/G foi da amostra híbrido entre *E. dunnii* x *E. grandis* vs *E. urophylla* (DGxU).

**Tabela 9.** Características químicas dos cavacos de eucalipto e seus rendimentos de polpação

Características	GxGL	UxC	E. grandis	DGxU	
Carboidratos	Glu, %	45,4	43,5	46,5	39,7
	Xil, %	13,0	12,2	12,0	14,8
	Gal, %	1,2	1,9	1,0	0,7
	Man, %	0,6	1,2	0,9	1,2
	Ara, %	0,3	0,3	0,3	0,4
	Ram, %	0,4	0,6	0,3	0,7
	Total, %	60,9	59,7	61,1	57,4
Lignina	%	26,1	29,6	28,9	30,6
Relação S/G		3,9	3,4	2,9	2,6
Rendimento Polpação		55,2	49,0	52,7	43,1

#### Isolamento da lignina das madeiras de eucalipto

Para a análise dos complexos lignina-carboidratos (CLC) foi necessário o uso de moinho de bolas para degradar a matriz da parede celular a uma extensão que permitisse a extração da lignina e de fragmentos de CLC. A extração da madeira moída com dioxano 96% produz a lignina de madeira moída (MWL). O rendimento da preparação é proporcional à energia aplicada durante a moagem (intensidade e tempo). A intensidade da moagem foi fixada e o tempo de moagem foi ajustado para fornecer preparações de MWL com os rendimentos próximos a 60% (10h). As amostras com este rendimento foram utilizadas para a quantificação de CLC, por conter maior teor de açúcar e conseqüentemente, maior teor de CLC na amostra.

Após o isolamento da lignina de madeira moída (MWL), estas foram caracterizadas quimicamente em relação ao teor de açúcar das amostras (Tabela 10). Estudos realizados por Balakshin et al. (2001) mostraram que as preparações brutas de MWL contém sempre alguns carboidratos (10-20%) que estão ligados quimicamente a lignina. O conteúdo de açúcares encontrados nas amostras de lignina neste experimento foi entre 10,7 a 12,2%. Destes açúcares encontrados nas amostras de lignina de eucalipto, aproximadamente 85% do total de açúcares era xilose. Isto sugere que a maior parte dos CLC ocorra entre as ligninas e xilanas.

**Tabela 10:** Composição química das preparações de MWL

Amostras de MWL	Teor de metoxilas, %	Açúcar, % na amostra	Composição de açúcar, % açúcar neutros					
			ARA	RAM	GAL	GLC	XIL	MAN
GxGL	21,3	11,9	0,7	1,7	3,6	6,5	87,5	0,0
UxC	21,3	10,7	1,1	1,7	6,9	7,2	82,9	0,3
E. grandis	20,5	12,2	0,6	1,7	3,9	6,2	87,4	0,1
DGxU	20,1	11,6	1,2	2,3	2,2	7,5	86,1	0,7

### Quantificação do complexo lignina-carboidrato por RMN <sup>13</sup>C e HSQC (2D).

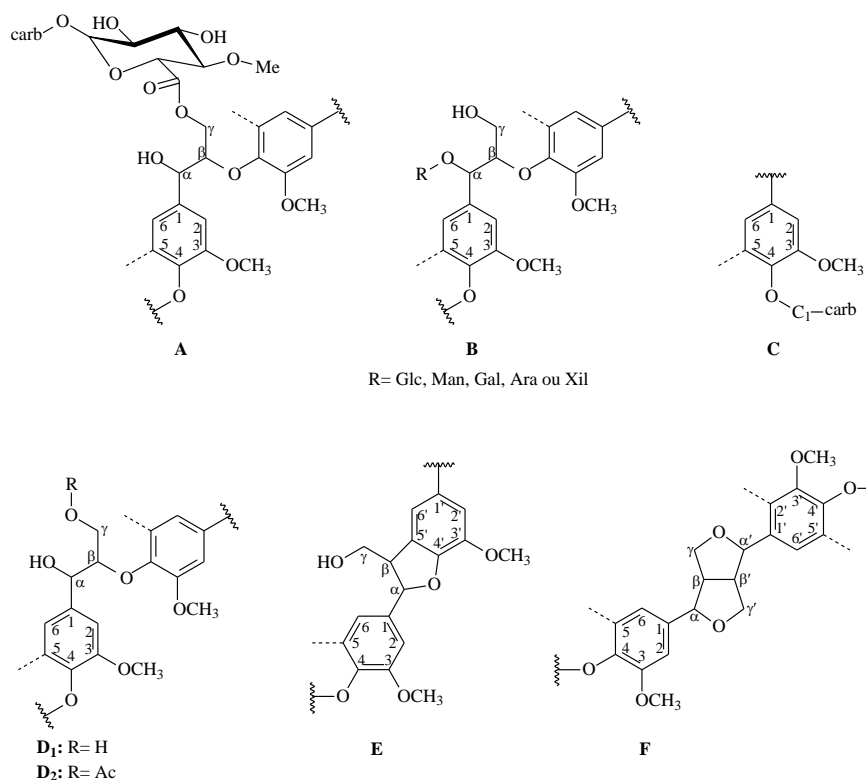
Trabalhos anteriores caracterizaram a lignina e os CLC de MWL por RMN, sendo esta considerada uma poderosa ferramenta por proporcionar informações estruturais qualitativas e quantitativas (CAPANEMA et al., 2005; ZHANG et al., 2010; BALAKSHIN et al., 2011).

Na Figura 20 estão mostradas algumas estruturas de complexos lignina-carboidrato e de lignina determinadas pelas técnicas de RMN de <sup>13</sup>C e HSQC. Estas estruturas são propostas na literatura como os principais tipos de ligações de CLC: éteres benzílicos, ésteres benzílicos e fenil glicosídicas (GRUSHNIKOV e ELKIN 1973; FENGEL e WEGENER 1984; KOSHIJIMA e WATANABE, 2003; IBARRA et al., 2007).

A lignina isolada foi analisada em um espectrofotômetro de RMN de 300 MHz, os espectros estão apresentados na Figura 21. A técnica de HSQC 2D (Correlação heteronuclear quântica simples) foi utilizada neste trabalho e ela mostra a correlação entre átomos de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C ligados diretamente uns aos outros. Esta técnica é muito útil para a análise de preparações complexas contendo lignina e

carboidratos, pois permite a separação muito melhor dos sinais de carboidrato e de lignina e, como consequência, a atribuição de sinal é também melhor do que no caso de técnicas de RMN que usam apenas uma dimensão (1D).

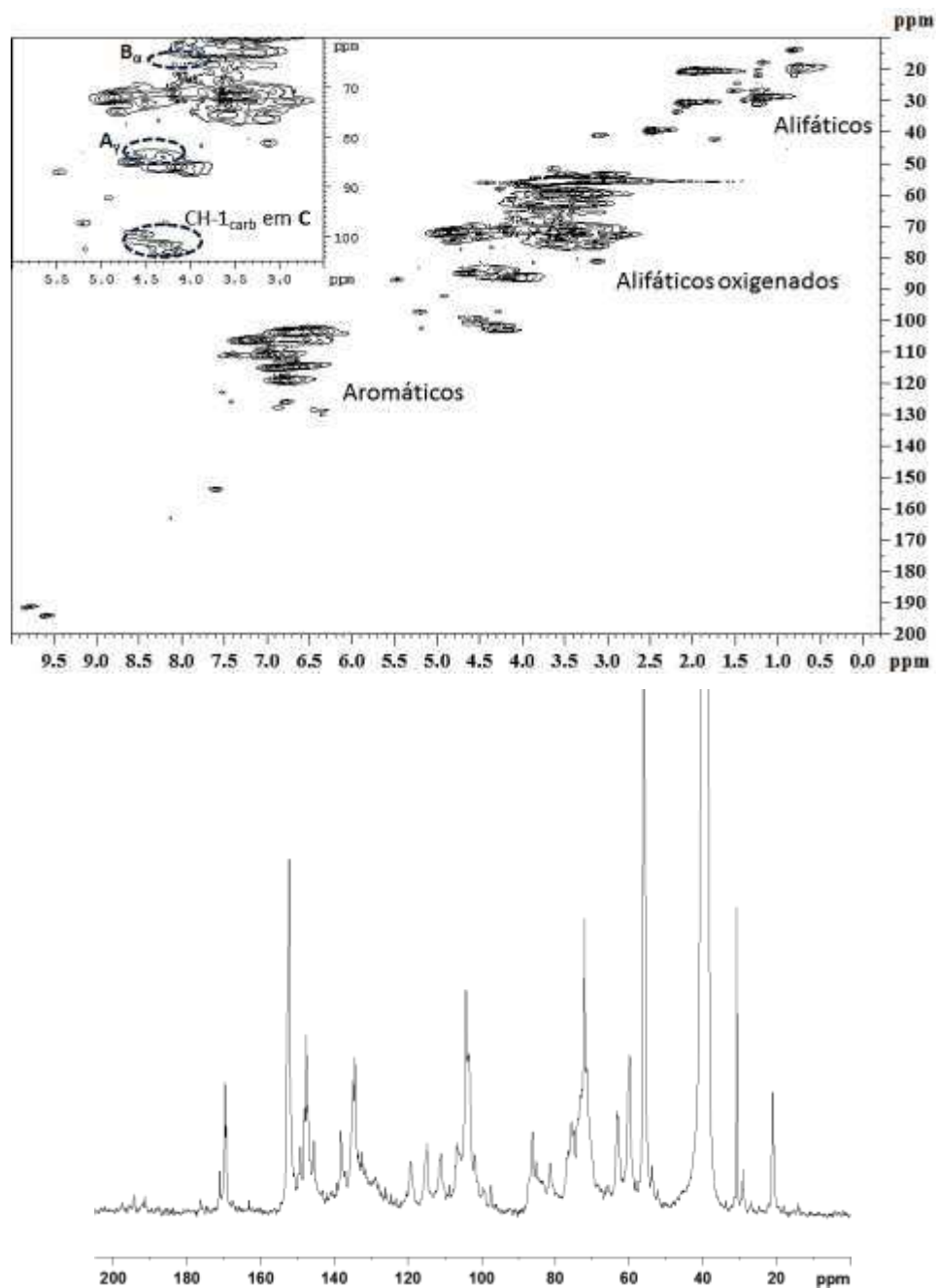
O espectro de HSQC (Figura 21) em amostras de ligninas geralmente mostra três regiões correspondentes aos compostos: alifáticos, alifáticos oxigenados e aromáticos para as correlações de  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  (IBARRA et al., 2007). A região alifática (não oxigenada) mostra sinais sem informação estrutural, como produtos de degradação de lignina, e outros compostos não identificados. Em ligninas acetiladas, esta região também inclui um forte sinal de correlações acetila, em ambos acetatos alcoólico e fenólico. Os sinais entre as regiões alifáticas oxigenadas e aromáticas são principal interesse neste trabalho, pois é nesta região onde se encontram os sinais de ligações do tipo lignina-carboidrato (LC). No espectro expandido na Figura 21, pode-se notar a presença de ligações do tipo fenil glicosídicas (**C**), éter benzílico (**B**) e  $\gamma$ -éster (**A**). Em contraste com a literatura (FENGEL e WEGENER 1984; KOSHIJIMA e WATANABE, 2003), nenhuma ligação do tipo éster benzilo de CLC foram detectados. No entanto, ligações de CLC do tipo  $\gamma$ -éster (**A**) foram encontradas nos espectros de HSQC das preparações de MWL. Balakshin et al., (2007) confirmaram a presença destas ligações pela utilização da técnica de correlação de longo alcance HMBC em isolados de CLC.



**Figura 20.** Estruturas do complexo lignina-carboidrato e da lignina em preparações de MWL: **A:**  $\gamma$ -éster, **B:** éter benzílico, **C:** fenil glicosídica como ligações do tipo CLC; **D<sub>1</sub>:**  $\beta$ -O-4/ $\alpha$ -OH, **D<sub>2</sub>:**  $\beta$ -O-4/ $\alpha$ -OH  $\gamma$ -acetilada; **E** fenilcoumarano ( $\beta$ -5), **F** resinol ( $\beta$ - $\beta$ ) como subestruturas de lignina.

Os sinais de CLC nos espectros de HSQC e de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram integrados e processados como descrito por Balakshin et al. (2007, 2011) e Capanema et al. (2005). Todas as amostras mostraram a presença de ligações do CLC tipo fenil glicosídica, éter benzílico e  $\gamma$ -éster, embora em diferentes quantidades (Tabela 11).

O espectro de HSQC apresenta os sinais na área dos carboidratos CH-1 em  $\delta_{\text{C}}$  102-99 e  $\delta_{\text{H}}$  4.7-4.2 ppm, aos quais foram atribuídos a CH-de várias unidades de carboidratos.



**Figura 21.** Espectro de RMN de HSQC e  $^{13}\text{C}$  para a MWL do híbrido de *E. dunni* x *E. grandis* vs *E. urophylla* (DGxU).

**Tabela 11.** Quantificação de CLC e de algumas subestruturas de lignina dos espectros adquiridos no espectrômetro de 300 MHz em MWL

	MWL, quantidade por 100Ar			
	GxGL	UxC	<i>E. grandis</i>	DGxU
Éter benzílico	1,5	1,5	1,4	1,6
Fenil glicosídica	2,6	1,8	1,8	2,6
$\gamma$ -éster	0,3	0,2	0,2	0,3
$\beta$ -O-4	60,3	55,2	53,2	50,6
$\beta$ -5	8,0	5,2	5,4	5,3
$\beta$ - $\beta$	4,4	5,8	5,0	6,4

A ligação do tipo éter benzílico (**B**) foi detectada em todas as madeiras utilizadas neste trabalho. Estes resultados estão de acordo com o conteúdo de ligações éter benzílico encontradas em artigos publicados previamente para outros tipos de madeiras folhosas (BALAKSHIN et al., 2011). O espectro de HSQC mostrou sinais na área de ~ 81,2-79,3/4,6-4,4 ppm (Figura 21) atribuído a uma  $\alpha$ -CH em ligações de éter benzílico do CLC baseado em dados de compostos modelo correspondentes (TOKIMATSU et al 1996.).

Nenhuma estrutura do tipo éster benzílico ( $\alpha$ -éster) foi detectado em 75/6.1 ppm em todas as preparações estudadas. No entanto, os sinais de CH<sub>2</sub>- $\gamma$  em  $\gamma$ -ésteres foram observados na área de 64,1-63,0/4,2-4,16 ppm e quantificada consequentemente (Tabela 11). A quantidade de  $\gamma$ -ésteres nas preparações de MWL de eucalipto foi muito baixa em relação a estudos anteriores utilizando outras espécies de madeiras de folhosas (BALAKSHIN et al., 2011).

As ligações do tipo fenil glicosídicas fornecem um grupo de sinais de carboidratos C-1 a  $\delta_C$  103,2-100,6/ $\delta_H$  5,2-4,9 ppm de acordo com dados de compostos modelo (TERASHIMA et al. 1996). Uma variedade de sinais indicaram o envolvimento de diferente tipos de carboidratos (diferentes açúcares e diferente modo de acetilação, especialmente para xilana) em ligações fenil glicosídicas. As ligações do tipo fenil glicosídicas podem ser observadas em todas as madeiras de eucalipto estudadas neste trabalho, sendo que nos híbridos de GxGL e DGxU os teores foram 44% maiores do que no híbrido de UxC e em E. grandis (Tabela 11).

Outras estruturas principais da lignina puderam ser detectados nos espectros de acordo com as bases de dados bem conhecidos e foram descritos em detalhe em um número de publicações anteriores (BALAKSHIN et al., 2003 e 2011.; CAPANEMA et al., 2004 e 2005.; IBARRA et al., 2006.; RALPH et al., 2006; YELLE et al., 2008; ZHANG et al., 2006). Como o objetivo deste estudo foi identificar estruturas de CLC, vamos limitar a discussão para a quantidade das principais estruturas de lignina, tais como  $\beta$ -O-4,  $\beta$ - $\beta$ , e  $\beta$ -5.

As ligações do tipo  $\beta$ -O-4 (**D**<sub>1</sub> e **D**<sub>2</sub>) (Figura 20) são as predominantes ligações interunidades na lignina de preparações de MWL. As madeiras de eucalipto apresentaram elevada quantidade dessas ligações. Neste trabalho foram encontrados teores de  $\beta$ -O-4 entre 60-50/100Ar para as preparações de MWL. Os trabalhos na literatura apresentaram teores de  $\beta$ -O-4 em preparações de MWL bem próximos aos

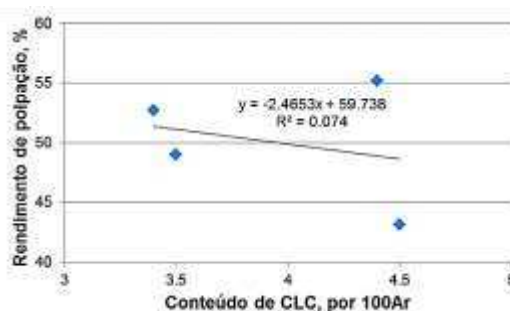
encontrados neste trabalho, tais como, 61/100Ar para a madeira de *E. grandis* (CAPANEMA et al., 2005), 56/100Ar e 59/100Ar para madeiras de *E. globulus* (GUERRA et al., 2008 e EVTUGUIN et al., 2001; respectivamente) e 53/100Ar para madeira de bétula (CHEN e ROBERT, 1998).

Além disso, as madeiras de eucalipto mostraram a presença de estruturas  $\beta$ - $\beta$  (F) e  $\beta$ -5 (E) (Figura 20) nas preparações de MWL. Capanema et al. (2005) quantificaram o teor destas ligações em MWL para a madeira de *E. grandis*, obtendo o teor de  $\beta$ - $\beta$  foi 6/100Ar e de  $\beta$ -5 foi 3/100Ar.

### Efeito do complexo lignina-carboidrato na polpação kraft

O cozimento kraft é o método mais comum de polpação da madeira, porém poucos estudos tem sido realizados sobre o efeito dos complexos lignina-carboidrato de madeiras híbridas de eucalipto na polpação kraft. Os complexos lignina-carboidrato foram quantificados e comparados aos seus rendimentos de polpação kraft (Figura 22). Os cozimentos kraft foram realizados em digestor rotativo, onde as condições de polpação foram mantidas constantes, exceto pela carga de álcali efetivo que foi variada para atingir o número kappa próximo a 17.

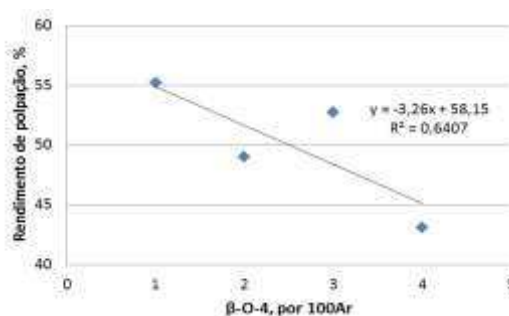
Pode-se perceber que o conteúdo de complexo lignina-carboidrato não teve influência significativa no rendimento de polpação kraft, com um  $R^2$  praticamente nulo. Sabe-se que os complexos são responsáveis por parte da lignina residual na polpa, mas isso não pode ser confirmado neste trabalho, possivelmente pelo baixo teor de CLC nas amostras.



**Figura 22.** Comparação entre rendimento de polpação e conteúdo de complexos lignina-carboidrato (CLC).

O híbrido de eucalipto *E. grandis* x *E. globulus* (GxGL) obteve maior rendimento de polpação (55,2%) e necessitou de baixa carga de álcali efetivo (14,8%, NaOH) para obter o número Kappa 17, porém a amostra obteve um dos maiores teores de CLC em sua composição, principalmente proveniente do ligação fenil glicosídica. Já o híbrido de *E. dunni* x *E. grandis* X *E. urophylla* (DGxU) obteve o pior rendimento, 43,1% e utilizou 61% mais álcali efetivo (23,8%, NaOH) do que o híbrido GxGL. Este híbrido obteve também elevado teor de CLC em sua composição quando comparado com os outros híbridos.

Ao compararmos o rendimento de polpação com o teor de ligações de  $\beta$ -O-4 percebe-se uma correlação positiva (Figura 23). A ligação do tipo  $\beta$ -O-4 são hidrolisadas facilmente e provocam a fragmentação das unidades de lignina, acelerando o processo de deslignificação das polpas de madeira (SARKANEN e LUDWIG, 1971). Neste trabalho, as ligações do tipo  $\beta$ -O-4 tiveram efeito mais significativo na polpação kraft do que as ligações do CLC. Vale ressaltar que o teor de CLC encontrado na MWL foi muito baixo ( $\sim 4,5/100\text{Ar}$ ) quando comparado aos teores de ligações do tipo  $\beta$ -O-4 (60-50/100Ar).



**Figura 23.** Comparação entre rendimento de polpação e conteúdo de ligações  $\beta$ -O-4 nas amostras de lignina das madeiras moídas (MWL).

## CONCLUSÕES

Os complexos lignina-carboidratos da madeira de eucalipto foram analisados através de preparações de lignina de madeira móida (MWL) e avaliados quantitativamente e qualitativamente por RMN.

- A utilização das técnicas espectroscópicas de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de HSQC-2D permitiram a identificação e quantificação dos CLC com ligações do tipo éter benzílica, fenil glicosídica e  $\gamma$ -éster nas madeiras híbridas de eucalipto.
- O estudo não confirmou uma correlação entre os complexos lignina-carboidratos e o rendimento da polpação kraft.
- A relação S/G mostrou uma correlação positiva com o rendimento da polpação kraft.
- A ligação fenil glicosídica apresentou-se em maior abundância em todas as amostras estudadas e a ligação  $\gamma$ -éster apresentou o menor teor.
- O conteúdo de ligações do tipo  $\beta$ -O-4 (60-50%) correlacionaram positivamente com o rendimento de polpação.
- O teor de xilose nos isolados de MWL foi alto (87-83%), sugerindo que as ligações do complexo lignina-carboidrato ocorram preferencialmente com as xilanas.

### **3.4. Influência do tratamento da biomassa lignocelulósica no desempenho da hidrólise enzimática para produção de etanol (Artigo IV)**

Novos avanços científicos tornaram a produção de etanol celulósico possível, mas ainda é preciso um esforço concentrado de pesquisa para torná-la economicamente viável em escala industrial. Atualmente, a produção de biocombustíveis provenientes de material lignocelulósico é inibida pelo alto custo da enzima que é utilizada na hidrólise enzimática. Assim, para tornar os biocombustíveis celulósicos mais competitivos, melhoramentos na degradação enzimática da celulose são cruciais (HIMMEL et al., 2007; LYND et al., 2008).

A estrutura complexa e compacta da madeira dificulta a sacarificação dos carboidratos por hidrólise enzimática, sendo necessário o uso de algum pré-tratamento da biomassa para facilitar o processo. O pré-tratamento remove lignina e aumenta a porosidade dos materiais, a fim de tornar a celulose susceptível à hidrólise enzimática. Uma diversidade de pré-tratamentos foram estudados recentemente, incluindo autohidrólise, hidrólise alcalina, hidrólise ácida, ozonólise, AFEX, organosolv, processo integrado com extração de hemiceluloses antes da produção de polpa kraft, e o desenvolvimento do conceito de reaproveitamento de uma fábrica de celulose kraft para a produção de etanol (CARROLL e SOMERVILLE, 2009; YE e JIAYANG, 2009; CHIRAT et al, 2010; JIN et al, 2010).

Neste estudo, foram avaliados pré-tratamentos da madeira ( $H_2O$  e licor verde) e pós-tratamentos químicos ( $H_2O_2$ ,  $H_2O_2/Cu^{+2}$ ) e mecânicos (refino) da polpa no desempenho da etapa subsequente de hidrólise enzimática, visando a obtenção de etanol celulósico.

Cavacos de Pinus taeda e uma mistura de cavacos de folhosas (principalmente álamo do gênero Populus spp. e bordo do gênero Acer spp.) provenientes de indústrias de celulose dos Estados Unidos foram caracterizadas e em seguida submetidas aos pré-tratamento com licor verde e autohidrólise ( $H_2O$ ).

A madeira de pinus é mais difícil de ser hidrolisada enzimaticamente, devido principalmente à quantidade e natureza da sua lignina. Por isso, os cavacos de pinus foram submetidos a um tratamento relativamente forte com o uso de licor verde (LV - mistura entre  $Na_2CO_3 + Na_2S$ ). A madeira de folhosas como é mais fácil de ser

hidrolisada, foi submetida somente ao pré-tratamento por auto-hidrólise (AH) com água, que é um tratamento mais simples e de baixo custo.

As composições químicas das polpas foram determinadas antes e depois dos pré-tratamentos com licor verde e auto-hidrólise. Como mostrado na Tabela 12, o teor de lignina total de madeiras de folhosas (FO) foi de 28,7%. O pinus (PI) obteve um menor teor de lignina total (29,2%). Notou-se que a glucose e significativa porção de xilose foram mantidas após os pré-tratamentos.

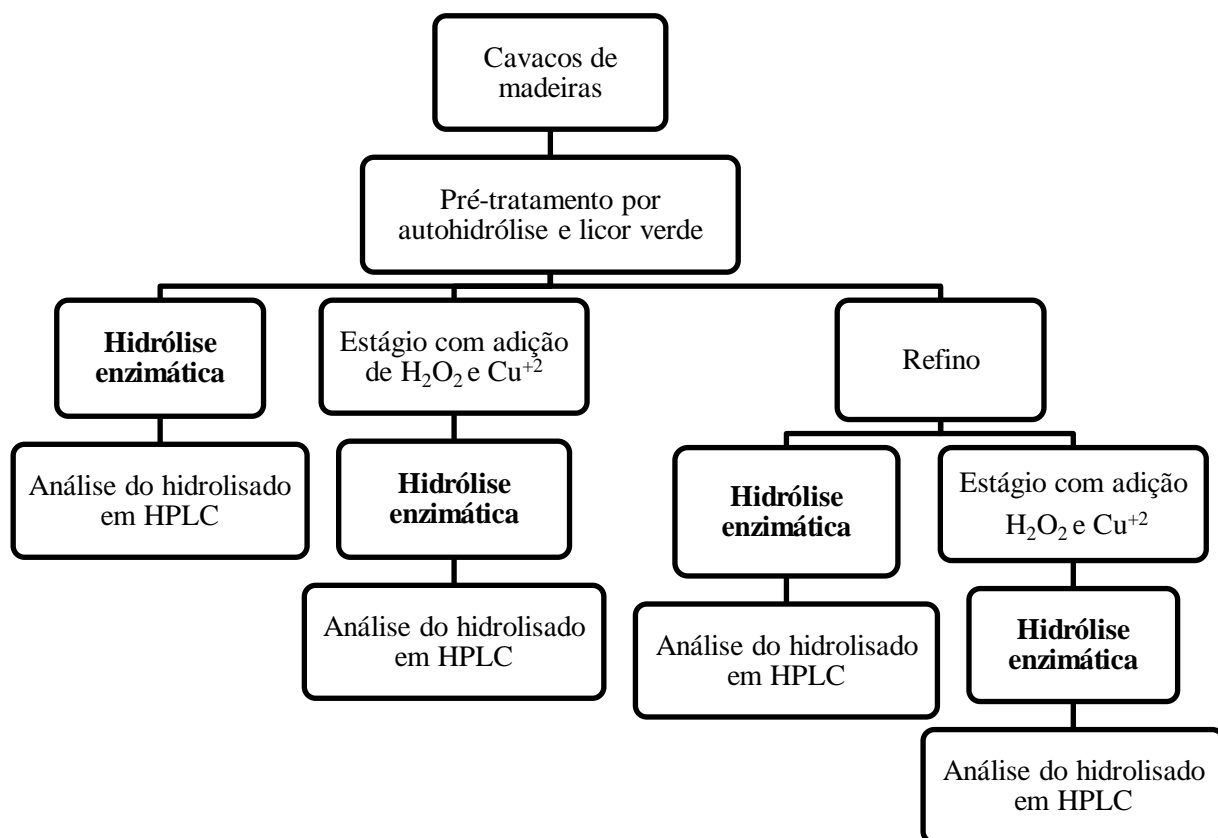
**Tabela 12.** Composição química de FO (mistura de cavacos de folhosas), PI (Pinus taeda), polpas de FO-AH e de PI-LV

Composição química		FO	PI	Polpa de FO-AH	Polpa de PI-LV
Lignina	Insolúvel	26,7	28,6	26,1	26,5
	Solúvel	2,0	0,6	1,8	0,3
	Total, %	28,7	29,2	27,9	26,8
Carboidratos	GAL	0,1	1,2	0,0	0,7
	GLC	44,8	41,3	51,6	48,3
	XIL	10,3	6,9	6,5	7,5
	ARA +MAN	2,2	8,1	2,1	6,5
	Total, %	57,4	58,3	60,2	63,1
Rendimento do pré-tratamento, %		-	-	65,3	76,5

Em seguida, as polpas pré-tratadas foram submetidas a refino e tratamentos com peróxido de hidrogênio, como mostrado na Figura 23 a seguir.

Chen e Dixon (2007) concluíram que quanto menor o teor de lignina no material lignocelulósico, melhor será a taxa de conversão de açúcar na hidrólise enzimática.

Vários fatores são responsáveis pela hidrólise lenta e pelos baixos rendimentos, e podem estar diretamente relacionados às propriedades de celulose (natureza insolúvel, cristalinidade, área superficial, porosidade, grau de polimerização) (XIMENES et al., 2010; HALL et al., 2010) e características enzimáticas (inibição, desativação, interferência, bloqueio, adsorção, processabilidade) (BANSAL et al., 2009; ZHANG e LYND, 2004).



**Figura 23.** Fluxograma das atividades realizadas nas madeiras de pinus e da mistura de folhosas.

### Efeito do estágio de peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é comumente usado no branqueamento de celulose. No branqueamento aplica-se o peróxido de hidrogênio em meio alcalino gerando o ânion peridroxila ( $\text{HOO}^-$ ), um oxidante poderoso que branqueia a celulose sem causar danos em sua estrutura. Porém alguns íons metálicos dificultam o seu bom aproveitamento, principalmente o manganês, o cobre e o ferro. Quando estes íons estão em quantidades consideráveis, eles causam uma decomposição catalítica do peróxido de hidrogênio, gerando radicais hidroxilas que atacam a celulose danificando a sua estrutura e diminuindo as suas propriedades físicas (ZERONIAN e INGLESBY, 1995; SIXTA, 2006).

Neste estudo, o peróxido de hidrogênio foi utilizado com o objetivo de melhorar a conversão de açúcar na hidrólise enzimática dos materiais pré-tratados. As polpas FO-AH e PI-LV foram tratadas com peróxido de hidrogênio em pH alcalino (11-12) em temperatura branda ( $70^\circ\text{C}$ ) e com diferentes dosagens de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

As dosagens de enzima utilizadas na etapa de hidrólise enzimática também foram distintas, 5, 10 e 15 FPU (unidade de medida da atividade da enzima – Filter paper unit) (Tabela 13).

Os resultados mostraram que com o aumento da dosagem de peróxido de hidrogênio houve uma queda do teor de lignina para ambas as polpas pré-tratadas. A polpa de FO-AH teve uma redução de 8,4% de lignina em relação a polpa inicial pré-tratada, enquanto que para a polpa de PI-LV a queda foi de 5,5%.

A dosagem de peróxido de hidrogênio a 3% em 15 FPU foi a que obteve maior conversão de açúcar na hidrólise enzimática, chegando a um aumento de 17,2% para a polpa de PI-LV e 24,6% para a polpa FO-AH quando comparadas às polpas pré-tratadas iniciais.

Como já era esperado, as polpas de folhosas obtiveram melhores resultados de conversão de açúcar do que a as polpas de pinus, sendo que na dosagem de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% e em 15 FPU a conversão chegou aos 93,3% para FO-AH e 71,3% para a polpa de PI-LV.

**Tabela 13.** Conteúdo de lignina e conversão de açúcar na hidrólise enzimática (HE) para as polpas tratadas com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Polpas pré-tratadas	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , %	Lignina residual, %	Conversão de açúcar na HE, %		
			5 FPU	10 FPU	15 FPU
FO-AH	-	27,9	41,7	62,9	68,7
	1	27,2	49,7	69,5	80,0
	1,5	26,0	50,2	70,4	79,9
	2	24,2	52,2	70,5	82,2
	3	21,5	59,8	80,0	93,3
PI-LV	-	26,8	30,6	44,8	54,1
	1	25,1	31,9	45,3	57,1
	1,5	23,8	34,4	51,2	59,8
	2	23,4	37,3	53,5	62,8
	3	22,3	44,3	57,5	71,3

A conversão de açúcar da polpa inicial de PI-LV foi de 44,8% para uma carga de enzima de 10 FPU, porém podemos obter esta mesma conversão com a utilização de peróxido de hidrogênio a 2% e carga de enzima de 7,5 FPU, ou seja, uma economia de 25% no custo da enzima.

Cara et al. (2006) avaliaram o efeito do peróxido após o estágio de pré-tratamento “steam explosion” em madeiras de oliveiras, sendo que, a adição de 1% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em pH 11,5 na polpa pré-tratada aumentou até 55% o rendimento na

hidrólise enzimática. O pré-tratamento com o  $H_2O_2$  em pH 11,5 foi estudado por Saha e Cotta (2006), onde concluíram que o uso 2% de  $H_2O_2$  resultava em conversões de açúcar de até 80% para palha de trigo.

### **Efeito do estágio de peróxido de hidrogênio com adição de $Cu^{+2}$**

Em meio ácido e sem a presença de contaminantes, o peróxido de hidrogênio é um produto estável e de fácil manuseio. Porém, na presença de íons metálicos como  $Mn^{+2}$  ou  $Fe^{+2}$  ou  $Cu^{+2}$  libera o radical hidroxila  $OH\bullet$ , que é um oxidante forte usado em reações como a oxidação de cianetos ou compostos fenólicos. Por isso, na tentativa de degradar a lignina foi utilizado  $Cu^{+2}$  e  $H_2O_2$  em meio ácido nas amostras pré-tratadas. Utilizou-se pH entre 4,0-4,5, devido ser bem próxima ao pH da hidrólise enzimática (pH~ 4,8).

Na Tabela 14 estão apresentadas os resultados dos tratamentos realizados com peróxido de hidrogênio a concentração de 1% em meio ácido, com a adição de cobre (II) em temperatura de 100 °C. Com a adição de cobre (II) ao processo a diminuição do teor de lignina chegou a 5,7% para a polpa FO-AH e 2,4% para a polpa de PI-LV.

Em relação a conversão de açúcar, notou-se um aumento com a adição de cobre (II) até concentração de 0,1%, após esta concentração os íons cobre não tiveram mais efeito na conversão de açúcar. Isto pode ser explicado, pela inibição da ação das enzimas por  $Cu^{+2}$  na hidrólise enzimática. Vários estudos tem mostrado que o cobre inibe a celulase e da  $\beta$ -glicosidase na etapa de hidrólise enzimática, pois o cobre altera o pH ótimo da enzima, acidificando o meio (GEIGER et al., 1998; CLARKE e ADAMS, 1987).

Os melhores resultados foram obtidos com a adição de  $Cu^{+2}$  a concentração de 0,1%, chegando à conversão de açúcar de 85,1% para a polpa de FO-AH em 15 FPU e apenas 61,2% para a polpa PI-LV em 15 FPU.

Apesar da conversão de açúcar não ter sido tão alta como no experimento anterior em meio alcalino, a economia de reagentes foi outro fator relevante deste experimento, pois não houve a adição de NaOH, porém houve uma pequena adição de  $H_2SO_4$  e  $H_2O_2$ .

A economia de enzima, também pode ser observada para a polpa de FO-AH. A conversão de açúcar da polpa inicial de FO-AH foi de 58,0% para uma carga de enzima de 10 FPU, porém a mesma conversão foi obtida com a utilização de peróxido de hidrogênio a 1%, cobre (II) a 0,1% e carga de enzima de 6,6 FPU, ou seja, uma economia de 34% no custo da enzima.

**Tabela 14.** Conteúdo de lignina e conversão de açúcar na hidrólise enzimática para as polpas tratadas com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Cu<sup>+2</sup>

Polpas pré-tratadas	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , %	Cu <sup>+2</sup> , %	Lignina residual, %	Conversão de açúcar na HE, %		
				5 FPU	10 FPU	15 FPU
FO-AH	1	-	26,9	39,9	58,0	69,2
	1	0,01	24,5	40,9	59,1	72,0
	1	0,1	24,1	49,8	69,6	85,1
	1	0,5	24,2	48,9	70,1	82,9
PI-LV	1	-	26,5	32,3	43,9	52,8
	1	0,01	25,9	34,5	44,7	60,7
	1	0,1	24,4	33,2	47,1	61,2
	1	0,5	24,1	30,2	42,0	54,1

### Efeito do refino e do estágio de peróxido de hidrogênio com adição de Cu<sup>+2</sup>

O processo de refino na polpa consiste na aplicação de força mecânica às fibras de celulose de modo a promover três resultados físicos a elas: corte, fibrilação e hidratação. A ação da refinação da celulose abre as paredes da fibra de modo a romper as cadeias de polímeros, deixando-as abertas, além disso, o refino causa o corte das fibras, reduzindo o seu comprimento, o que é benéfico para a hidrólise enzimática. A hidratação que é a absorção de água através das fissuras causadas pela fibrilação, normalmente é um efeito desejado pois melhora a acessibilidade da enzima pelas fibras do material lignocelulósico.

Alguns trabalhos foram publicados utilizando o refino como alternativa para a redução da dosagem de enzimas na hidrólise enzimática (ZHU et al, 2009; KOO et al., 2011).

A etapa de refino foi realizado com 5000 revoluções, sendo que após esta etapa, as polpas foram submetidas as mesmas condições do tratamento anterior, com a utilização de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 1% em meio ácido e 0,01% e 0,1% de Cu<sup>+2</sup>. Neste experimento a remoção de lignina pelos tratamentos com refino e peróxido de hidrogênio/cobre (II) foi baixa (Tabela 15).

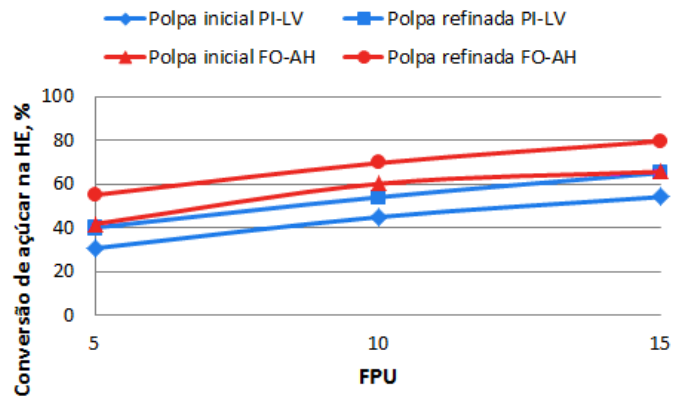
A conversão de açúcar foi mais pronunciada para a polpa de PI-LV que teve um aumento de 24 % em relação ao experimento anterior (sem refino) na concentração de  $\text{Cu}^{+2}$  0,1% e 15 FPU. Para a polpa FO-AH, o estágio de refino não foi muito vantajoso. A concentração de  $\text{Cu}^{+2}$  0,1% teve um decréscimo na conversão de açúcar na hidrólise enzimática, sugerindo novamente que a concentração de cobre (II) está elevada e inibindo assim a ação da enzima.

**Tabela 15.** Conteúdo de lignina e conversão de açúcar na hidrólise enzimática para as polpas refinadas e tratadas com  $\text{H}_2\text{O}_2$

Polpas pré-tratadas	$\text{H}_2\text{O}_2$ , %	$\text{Cu}^{+2}$ , %	Lignina residual, %	Conversão de açúcar na HE, %		
				5 FPU	10 FPU	15 FPU
	-	-	25.4	51.7	67.6	76.4
FO-AH refinada	1	-	25.2	52.4	66.0	76.7
	1	0.01	24.0	53.0	71.1	83.1
	1	0.1	23.7	52.6	72.0	82.5
PI-LV refinada	-	-	24.5	40.0	53.9	65.1
	1	-	24.4	39.7	51.8	60.9
	1	0.01	23.1	37.9	53.1	64.7
	1	0.1	23.9	42.7	61.5	75.8

A economia de enzima, também pode ser observada para ambas as polpa pré-tratadas e refinadas. Baseado na conversão de açúcar da polpa inicial para uma carga de enzima de 10 FPU, conseguiu-se uma economia de enzima de 45% para a polpa PI-LV e 43% para a polpa de FO-AH quando comparadas com a polpa pré-tratada inicial.

Na Figura 24 foi feito um comparativo entre as polpas iniciais e as polpas refinadas, sem a adição de reagentes químicos. Pode-se perceber que só a ação do refino foi capaz de elevar a conversão de açúcar na polpa a 13,3% para a polpa de FO-AH e 9,4% para a polpa de PI-LV. As fibras refinadas ficam mais acessíveis na hidrólise enzimática, podendo ser uma etapa útil para reduzir a demanda de enzima no processo.



**Figura 24.** Comparação entre a conversão de açúcar entre as polpas iniciais e refinadas sem a adição de reagentes.

### Viabilidade econômica do processo

A economia de enzima nos processos descritos acima ficou evidente, porém estes tratamentos com a utilização de peróxido de hidrogênio, sulfato de cobre, NaOH e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> agregam mais custo ao processo e precisam ser considerados na análise da viabilidade econômica do processo. Sendo assim, alguns cálculos foram feitos baseado na polpa de folhosa pré-tratada por auto-hidrólise onde se concluiu que em pH 4,0-4,5 o custo do processo foi 33% menor do que em pH 11-12.

Entretanto, mais estudos precisam ser realizados, como por exemplo avaliar a adição de outros íons metálicos, como ferro e manganês, no tratamento com peróxido de hidrogênio em meio ácido.

## CONCLUSÕES

Após avaliar os pré-tratamentos com licor verde e auto-hidrólise, e o pós-tratamento com peróxido de hidrogênio, cobre (II) e refino, podemos concluir que:

- A polpa de folhosas pré-tratada por auto-hidrólise teve melhor conversão de açúcar na hidrólise enzimática, quando comparado a polpa de pinus pré-tratado com licor verde.
- A etapa de refino melhorou a conversão do açúcar em 9,4% para polpa de PI-LV e 13,3% para a polpa FO-AH, quando comparado com a polpa pré-tratadas iniciais.
- O uso de peróxido de hidrogênio e de cobre e também uma fase de refino mostrou ser uma boa solução para reduzir o custo da enzima, com economia de até 45% da enzima.
- A melhor conversão de açúcar em todos os experimentos realizados para a polpa de PI-LV (75,8%) foi com a utilização de refino, peróxido de hidrogênio a 1% e cobre a 0,1% em meio ácido com carga enzimática de 15 FPU.
- Já para a polpa de FO-AH, a melhor conversão de açúcar (93,3%) ocorreu com a peróxido de hidrogênio a 3% em meio básico com carga enzimática de 15 FPU.
- A adição de cobre no processo teve pouco efeito para a polpa de FO-AH, entretanto, teve grande efeito da conversão de açúcares da polpa de PI-LV.

#### 4.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, G. S. B. Qualidade da Madeira de Espécies do Gênero Acacia Plantadas no Brasil. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

ANT-WOUORINEN, O.; VISAPÄÄ, A. The dependence of the functional group determination results of cellulose on its state of accessibility. Papper och Trä Journal, n. 10, p. 479-490, 1956.

BAK, J. S.; KIM, M. D.; CHOI, I-G.; KIM, K. H. Biological pretreatment of rice straw by fermenting with *Dichomitus squalens*. New Biotechnology, 27:4, 424-434, 2010.

ALAKSHIN, M.; CAPANEMA, E. A.; CHANG, H-M. A fraction of MWL with high concentration of lignin-carbohydrate linkages: Isolation and analysis with 2D NMR spectroscopic techniques. *Holzforschung* 61:1-7, 2007.

BALAKSHIN, M.; CAPANEMA, E.A.; GRACZ, H.; CHANG H-M; JAMEEL, H. Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy. *Planta* 233:1097-1110, 2011.

BANSAL, P.; HALL, M.; REALFF, M.J.; LEE, J. H.; BOMMARIUS, A.S. Modeling cellulase kinetics on lignocellulosic substrates. *Biotechnol Adv* 27, 833–848, 2009.

BARROS, D. P.; SILVA, V.L.; HAMALAINEN, H.; COLODETTE, J.L. Effect of last stage bleaching with peracetic acid on brightness development and properties of eucalyptus pulp. *Bioresources*, v. 5, p. 881-898, 2010.

BARZYK, D.; PAGE, D. H.; RAGAUSKAS, A. Acidic Group Topchemistry and Fiber-to-Fiber Specific Bond Strength. *J. Pulp Pap. Sci.* 23, J59-J61, 1997.

BASTOS, V. D. Etanol, álcoolquímica e biorrefinarias. BNDES Setorial, nº 25, p. 5-38. Março de 2007.

BITTENCOURT, P. R. S.; HECHENLEITNER, A. A. W.; PINEDA, E. A. G.; “Lignina Kraft em blendas com álcool polivinílico: caracterização e efeito de radiação Uv nos filmes”. Dissertação de mestrado, p. 12-13, 2002.

BJORKLUND, M.; GERMAGARD, U.; BASTA, J. Effect of cooking conditions on ECF bleaching and brightness reversion of birch kraft pulps. Tappi Journal. 4(7): 16, 2005.

BOSE, S. K.; FRANCIS, R. C.; GOVENDER, M.; BUSH, T.; SPARK, A. Lignin content versus syringyl to guaiacyl ratio amongst poplars. Bioresour. Technol. 100 (4), 1628-1633, 2009.

BRACELPA. Dados estatísticos, 2012. Disponível em: <http://www.bracelpa.org.br/>. Acesso em: 17 de jul. 2012.

BUCHERT, J.; TELEMANN, A.; HARJUNPÄÄ, V.; TENKANEN, M.; VIKARI, L.; VUORINEN, T. Effect of cooking and bleaching on the structure of xylan in conventional pine kraft pulp. Tappi J. 78, 125-130, 1995.

CADENA, E.M.; VIDAL, T.; TORRES, A.L. Influence of the hexenuronic acid content on refining and ageing in eucalyptus TCF pulp. Bioresour Technol, 101(10):3554-60, 2010.

CAPANEMA, E. A.; BALAKSHIN, M. YU.; KADLA, J. F. A comprehensive approach for quantitative lignin characterization by NMR spectroscopy. J. Agric. Food Chem., 52, 1850-1860, 2004.

CARA, C.; RUIZ, E.; BALLESTEROS, I.; NEGRO M. J.; CASTRO, E. Enhanced enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification. Process Biochemistry 41, 423–429, 2006.

CASTANHO, C. G.; OLIVEIRA, R. C. Estudos de aproveitamento de rejeito fibroso industrial da polpação kraft de eucalipto na produção de papeis reciclados. In: CONGRESSO ANUAL DE CELULOSE E PAPEL DA ABTCP, 33., 2000, São Paulo. Anais...São Paulo: ABTCP, 2000.

CHEN, C.-L. Characterization of milled wood lignins and dehydrogenative polymerisates from monolignols by carbon-13 NMR spectroscopy. In Lignin and Lignan Biosynthesis; ACS Symposium Series 697; Lewis, N., Sarkanen, S., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC; pp 255-275, 1998.

CHEN F.; DIXON, R. A. Lignin modification improves fermentable sugar yields for biofuel production. *Nature Biotechnology*, 25: 7, 759-761, 2007.

CHIRAT, C.; DE LA CHAPELLE, V.; GARNIER, N.; MARY, G. Yellowing of bleached chemical pulps. Effect of oxidized groups. Proceedings... Grenoble: CTP Forum, 1997.

CLARKE, A. J.; ADAMS, L. S. Irreversible inhibition of *Schizophyllum commune* cellulase by divalent transition metal ions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 916 (1987) 213-219, 1987.

COLODETTE, J.L.; EIRAS, K.M.M.; OLIVEIRA, R.; VENTORIM, G. The effect of Wood supply and bleaching process in pulp brightness stability. In: EUCEPA CONFERENCE. SUSTAINABLE DEVELOPMENT FOR THE PULP AND PAPER INDUSTRY, 28., Lisboa. Proceedings... Tomar: Tecnicelpa, 2003.

COSTA, M. M.; COLODETTE, J. L. Branqueamento da pasta celulósica. In: CONGRESSO ANUAL DE CELULOSE E PAPEL, 34., 2001, São Paulo. Anais... São Paulo: ABTCP, 2001.

CROON, I.; DILLÉN, S.; OLSSON, J-E. Brightness reversion of birch sulphate pulp, *Svensk Papperstidn.* 69:139, 1966.

D'ALMEIDA, M. L. O. (Coord.) Celulose e papel: tecnologia de fabricação da pasta celulósica. São Paulo: IPT/SENAI, v. 1 e 2, 1988.

DANIELSSON, S. Xylan reactions in kraft cooking process and product considerations; Thesis KTH - Royal Institute of Technology: Stockholm, 2007.

DEVENYNS, J.; CHAUVEHEID, E. Uronic acids and metals. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, 9., 1997, Montreal. Proceedings...Montreal: CPPA, 1997.

DIEN, B.S.; NICHOLS, N.N.; O'BRYAN, P.J.; BOTHAST, R.J. Development of new ethanologenic *Escherichia coli* strains for fermentation of lignocellulosic biomass. *Appl Biochem Biotechnol*; 66:181-196, 2000.

EGGEMAN, T.; ELANDER, R. Process and economic analysis of pretreatment technologies, *Bioresour. Technol.* 96, 2019-2025, 2005.

EIRAS, K. M. M.; COLODETTE, J. L. Investigation of eucalyptus kraft pulp brightness stability. *JPPS* 31(1):1, 2005.

EIRAS, K. M. M.; COLODETTE, J. L.; CARVALHO, A.M.M.L. Estudo das Causas de Reversão de Alvura de Polpas Kraft de Eucalipto. *CERNE*, Lavras, v. 11, n. 4, p. 354-368, 2005.

EIRAS, K. M. M.; COLODETTE, J. L.; SILVA, V. L.; BARBOSA, L. C. B. . New insights on brightness stability of eucalyptus kraft pulp. *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, v. 23, p. 102-107, 2008.

EIRAS, K. M. M.; COLODETTE, J. L.; SILVA, V. L. The role of bound chlorine in the brightness reversion of bleached hardwood kraft pulp. *Quím. Nova*, v.32, n.1, p. 51-55, 2009.

EVTUGUIN, D. V.; NETO C. P.; SILVA, A. M. S.; DOMINGUES, P. M.; AMADO F. M. L.; ROBERT, D.; FAIX, O. Comprehensive Study on the Chemical Structure

of Dioxane Lignin from Plantation Eucalyptus globulus Wood. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49 (9), 4252-4261, 2001.

FENGEL, D.; WENEGER, G. Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Walter de Gruyter Publisher. New York, p. 613, 1989.

FORSSKÄHL, I.; TYLLI, H.; OLKKONEN, C. Participation of carbohydrate-derived chromophores in the yellowing of high-yield and TCF pulps. Journal of Pulp and Paper Science, Montreal, CA, v. 26, n. 7, p.245-249, 2000.

FORSSTRÖM, A.; HELLSTRÖM, P.; GRESCHIK, T. Ageing of eucalyptus pulps: effects on brightness and viscosity. In: 3º Colóquio Internacional de Celulose e Papel, Belo Horizonte. Anais...: 3o ICEP, 2007a.

FORSSTRÖM, A.; WACKERBERG, E.; GRESCHIK, T.; JOUR, P.; HOLTINGER, L. "High brightness stability in standard ECF sequences," O Papel 10, 101-112, 2007b.

FORSSTRÖM, A.; WACKERBERG, E.; SILVA, V. L. On the methods for assessing and the causes of brightness reversion of hardwood kraft pulps. In: 4th International Colloquium on Eucalyptus Pulp – ICEP Concepcion, Chile, 2009.

FREUDENBERG, K. Lignin: its constitution and formation from p-hydroxycinnamyl alcohols. Science 148:595-600, 1965.

GEIGER, G.; BRANDL, H.; FURRER, G; SCHULIN,R. The effect of copper on the activity of cellulase and  $\beta$ -glucosidase in the presence of montmorillonite or Al-montmorillonite. Soil Biol. Biochem. Vol. 30, No. 12, pp. 1537-1544, 1998.

GELLERSTEDT, G.; LI, J. An HPLC method for the quantitative determination of hexenuronic acid groups in chemical pulps, Carbohydr. Res. 294, 41-51, 1996.

GELLERSTEDT, G.: Pulping Chemistry. In Wood and Cellulosic Chemistry (Eds: D.N.-S. Hon, N. Shiraishi). Marcel Dekker Inc., New York, 2001, p 859-905.

GELLERSTEDT, G.; LI, J.; SVASTYANOVA, O. The distribution of oxidizable structures in unbleached and bleached Kraft pulps. In: EUCEPA CONFERENCE. SUSTAINABLE DEVELOPMENT FOR THE PULP AND PAPER INDUSTRY, 28, 2003, Lisboa. Proceedings... Tomar: tecnicelpa, p. 58-64, 2003.

GIANQIANG-HUANG; ZENG-ZHANG; JIAKUI-LIU. Relationship between pulp bleachability and residual lignin structure. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, 11., 2001, Nice. Proceedings... Nice: CPPA, 2001. p. 413-416.

GOLDEMBERG, J. Ethanol for a sustainable energy of future. Science. Vol. 315, p. 808-810, 2007.

GRANSTROM, A .; ERIKSSON, T.; GELLERSTEDT, G. et AL. Variables affecting the thermal yellowing of TCF- bleached BIRD Kraft pulps. Nordic Pulp and Paper Research Journal, v.16, n. 1, p. 18, 2001.

GUERRA, A.; NORAMBUENA, M.; FREER, J.; ARGYROPOULOS, D. S. Determination of Arylglycerol- $\beta$ -Aryl Ether Linkages in Enzymatic Mild Acidolysis Lignins (EMAL): Comparison of DFRC/31P NMR with Thioacidolysis. Journal of Natural Products, 71 (5), 836-841, 2008.

GULLICHSEN, J.; SÖDERHELM, L. On the color reversion of bleached pulp. Paperi ja Puu, Helsinki, v. 1, p. 34-37, 1984.

HAGE, R. E.; CHRUSCIEL L.; DESHARNAIS, L.; BROSSE, N. Effect of autohydrolysis of *Miscanthus x giganteus* on lignin structure and organosolv delignification. Bioresource Technology, 101, 9321–9329, 2010.

HALL, M.; BANSAL, P.; LEE, J.H.; REALFF, M. J.; BOMMARIUS, A. S. Biological pretreatment of cellulose: Enhancing enzymatic hydrolysis rate using cellulose-binding domains from cellulases. Bioresource Technology, 102, 2910–2915, 2011.

HALL, M.; BANSAL, P.; LEE, J. H.; REALF, F.; BOMMARIUS, A. S. Cellulose crystallinity—A key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. *FEBS J* 277: 1571–1582. 2010

HANNA, K.R.; FISHER, J.J. International Pulp Bleaching Conference Proceedings, TAPPI PRESS, Atlanta, Georgia, Book 2, 323-328, 1998.

HEITNER, V. Pulp bleaching - Principle and practices. Atlanta, USA: Tappi Press, 1996, p. 183-212.

HENRICSON, K. AHL Stage – A New Bleaching Stage for Kappa Reduction and Metal Profile Control. In: International Emerging Technologies Conference and Exhibition. Orlando, FL, Miller Freeman Press, San Francisco, 1997.

HIMMEL, M. E.; DING, S-Y.; JOHNSON, D. K.; ADNEY, W. S.; NIMLOS, M. R.; BRADY, J. W.; FOUST, T. D.. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science* 315, 804–807, 2007.

ISOGAI, A.; KITAOKA, C.; ONABE, F. Effects of Carboxyl Groups in Pulp on Retention of Alkylketene Dimer. *J. Pulp Pap. Sci.* 23, 215-219, 1997.

JÄÄSKELÄINEN, A.S., TOIKKA, K., LÄHDETIE, A., LIITIÄ, T., VUORINEN, T. Reactions of aromatic structures in brightness reversion of fully-bleached eucalyptus kraft pulps. *Holzforschung* 63: 278–281, 2009.

JIANG, Z.; LIEROP, B. V.; BERRY, R. Hexenuronic acid groups in pulping and bleaching chemistry. *Tappi Journal*, Atlanta, v. 83, n. 1, p. 167-175, 2000.

KATO, A.; AZUMA, J.; KOSHIJIMA, T. A new feruloylated trisaccharide from bagasse. *Chem Lett*, 1983:137-140, 1983.

KLEIN-MARCUSCHAMER, D.; OLESKOWICZ-POPIEL, P.; SIMMONS, B. A.; BLANCH, H. W. The challenge of enzyme cost in the production of lignocellulosic biofuels. *Biotechnology and Bioengineering*, 109:4, 1083–1087, 2012.

KÖHNKE, T.; PUJOLRAS, C.; ROUBROEKS, J.; GATENHOLM, P. The effect of barley husk arabinoxylan adsorption on the properties of cellulose fibres. *Cellulose*, 15 (4), 537–546, 2008.

KOO, B.-W.; TREASURE, T. H.; JAMEEL, H.; PHILLIPS, R. B.; CHANG, H.-M.; PARK, S. Reduction of Enzyme Dosage by Oxygen Delignification and Mechanical Refining for Enzymatic Hydrolysis of Green Liquor-Pretreated Hardwood. *Appl Biochem Biotechnol*, 165:832–844, 2011.

KOSHIJIMA T, WATANABE T Association between lignin and carbohydrates in wood and other plant tissues. Springer, Berlin, 2003.

LACHENAL, D. Hydrogen peroxide as delignifying agent. In: *Pulp bleaching - Principles and practice*. Atlanta: Tappi Press, 1996.

LAWOKO, M. Lignin Polysaccharide Networks in Softwood and Chemical Pulps: Characterization, Structure and reactivity, PhD thesis, KTH, Stockholm, Sweden, 2005.

LAWOKO, M.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Structural differences between the lignin carbohydrate complexes in wood and in chemical pulps. *Biomacromolecules* 6:3467-3473, 2005.

LETUMIER, F.; AMMALAHTI, E.; SIPILA, J.; VUORINEN, T. A facile route of formation of lignin-carbohydrate complexes during alkaline pulping. *J Pulp Pap Sci* 29:42–47, 2003.

LYND, L. R.; LASER, M. S.; BRANSBY, D.; Dale, B. E.; Davison, B.; Hamilton, R.; Himmel, M.; Keller, M.; McMillan, J. D.; Sheehan, J.; Wyman, C. E. How biotech can transform biofuels. *Nat. Biotechnol.*, 26 (2), 169–172, 2008.

MALINEN, R.O.; Pisuttipiched, S.; Kolehmainen, H. and Kusuma, F.N. Potential of Acacia Species as Pulpwood in Thailand. In: Appita Conference and Exhibition (59th : 2005 : Auckland, N.Z.). 59th Appita Annual Conference and Exhibition: Incorporating the 13th ISWFPC (International Symposium on Wood, Fibre and Pulping Chemistry), Auckland, New Zealand, 16-19 May 2005: Proceedings. Carlton, Vic.: Appita Inc., 2005: 443-449.

MATEO, C.; AÏ T-OUARET, R.; CHIRAT, C.; JEUNET, A.; LACHENAL, D. Nature and removal of the last colored chromophores in kraft pulps. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, 11., 2001, Nice. Proceedings... Nice: CPPA, 2001. p. 453-457.

MATEO, C.; ROUSSEAU, C.; CHIRAT, C.; LACHENAL, D. Influence of precipitated lignin on pulp bleachability. In: EUCEPA CONFERENCE. SUSTAINABLE DEVELOPMENT FOR THE PULP AND PAPER INDUSTRY, 28., Lisboa. Proceedings... Tomar: Tecnicelpa, 2003. p. 41-45.

MCDONALD, R. G. Pulp e paper manufacture: kraft pulping. 2. ed. New York: McGraw-hill Book Company - Volume 1, 1967. p. 628-725.

MCLELLAN, F.; COLODETTE, J. L.; FAIRBANK, M. G.; WHITING, P. Factors affecting ambient thermal reversion of high-yield pulps. Journal of Pulp and Paper Science, Montreal, CA, v. 16, n. 6, p. J173-J179, 1990.

MOREIRA, E. Efeito da lixiviação ácida de cavacos de Eucalipto no processo kraft. Dissertação de mestrado. Viçosa – MG, 2006. 108p. Universidade Federal de Viçosa.

MOSIER N, WYMAN C, DALE B, ELANDER R, LEE YY, HOLTZAPPLE M, LADISCH M. “Features of promising technologies for pre-treatment of lignocellulosic biomass”, Bioresource Technology, 96, 673-86, 2005.

PARHAM, R.A. Pulp and Paper Manufacture. Vol.1. Properties of Fibrous Raw Materials and their Preparation for Pulping, Joint Textbook Committee of the Paper

Industry of the United States and Canada, CPPA/TAPPI, Montreal, Atlanta, p.35, 1969.

PINTO, P. C.; EVTUGUIN, D. V.; NETO, C. P. Effect of structural features of wood biopolymers on hardwood pulping and bleaching performance. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 44 (26), 9777-9784, 2005.

POTTHAST, A., SCHIEHSER, S., ROSENAU, T., KOSTIC, M. Oxidative modifications of cellulose in the periodate system – reduction and beta-elimination reactions. *Holzforschung* 63:12–17, 2009.

RAPSON, W. H.; SPINNER, I. H. *The bleaching of pulp*. Atlanta, USA: Tappi, 1979. p. 357-391.

RAPSON, W. H.; HAKIN, K. A. Carbonyl groups in cellulose and colour reversion. *Pulp e Paper Mag. Canadian*, [S.l.], v. 58, n. 8, p. 151-156, 1957.

REGAZZI, A. Teste para identificar a identidade de modelos de regressão e igualdade de alguns parâmetros num modelo polinomial ortogonal. *Revista Ceres*. Viçosa, v. 40, n. 228, p. 176-195, 1993.

REGAZZI, A.; SILVA, C. H. O. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. I. Dados no delineamento inteiramente casualizado. *Revista Matemática Estatística*, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 33-45, 2004.

ROLLIN, J. A.; ZHU, Z.; SATHITSUKSANO, N.; ZHANG, Y.-H. P. Increasing cellulose accessibility is more important than removing lignin: A comparison of cellulose solvent-based lignocellulose fractionation and soaking in aqueous ammonia. *Biotechnol. Bioeng.*, 108:22–30, 2011.

SAARNIO, J. AND C. GUSTAFSSON, The dissolving and destruction of carbohydrates during the sulfate cook. *Paper and Timber* (No. 3, Teollisuuden Keskuslab. Tiedonantoja No. 115): p. 65-78, 1953.

SAHA, B. C.; COTTA, M. A. Ethanol Production from Alkaline Peroxide Pretreated Enzymatically Saccharified Wheat Straw. *Biotechnol. Prog.*, 22, 449-453, 2006.

SANTOS, R. B.; CAPANEMA, E. A.; BALAKSHIN, M.; CHANG, H.-M.; JAMEEL, H. Effect of hardwood lignin structure on the kraft pulping process. *Proceedings of the TAPPI PEERS Conference*; Norfolk, VA, Oct 17-20, 2010.

SANTOS, R. B.; TREASURE, T; MIN, D, JAMEEL, H, PHILLIPS, R, CHANG, Hou-Min. Impact of Hardwood Species Characteristics on Enzymatic Hydrolysis Efficiency and on the Overall Ethanol Cost. 5th International Colloquium on Eucalyptus Pulp, May 9-12, 2011. Porto Seguro, Bahia, Brazil.

SARKANEN KV, LUDWIG CH. Definition and nomenclature. in *Lignins, Occurrence, Formation, Structure and Reactions*. eds Sarkanen KV, LudwigCH (Wiley-Interscience, New York), 1971, pp 1–18.

SAVOIE, M.; TESSIER, P. Brightness reversion during bleaching and impact on bleach plant control. *Pulp and Paper Canada*, [S.I], v. 102, n. 10, p. 33-36, 2001.

SCHÖNBERG, C.; OKSANEN, T.; SUURNAKKI, A.; KETTUNEN, H.; BUCHERT, J. The Importance of Xylan for the Strength Properties of Spruce Kraft Pulp Fibres. *Holzforschung*, 55 (6), 639–644, 2005.

SEVASTYANOVA, O. On the importance of oxidizable structures in bleached kraft pulps. *Doctoral Thesis*. KTH Stockholm. Sweden, 2005.

SEVASTYANOVA, O.; LI, J.; GELLERSTEDT, G. On the reaction mechanism of the thermal yellowing of bleached chemical pulps. *NORDIC PULP AND PAPER RESEARCH JOURNAL*. 21;2, 188-192, 2006.

SIXTA, H. *Handbook of Pulp*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim., 2006, 1316 pag.

SJÖSTRÖM, E.; ERIKSSON, E. The influence of carboxyl and carbonyl groups on the brightness stability of bleached pulps. *Tappi Journal*, Atlanta, v. 511, p. 16-19, 1968.

SJÖSTRÖM, E. *Wood chemistry. Fundamentals and applications*. 2nd ed., Academic Press: New York, USA, 1992.

SILTALA, M.; WINBERG, K.; ALENIUS, M.; HENRICSON, K.; LÖNNBERG, B. Mill scale application for selective hydrolysis of hexenuronic acid groups in TCFz bleaching of kraft pulp. In: *INTERNATIONAL PULP BLEACHING CONFERENCE*, Helsinki, 1998. *Anais... Helsinki*, Finnish Pulp and Paper Research Institute, 1998, p. 279-287.

SILVA, R. P.; OLIVEIRA, R. C. Efeitos da ação do refino e da reciclagem nas propriedades de papéis de pinus e eucalipto. *Revista Árvore*, v. 24, n.3, p. 349-360, 2000.

SILVA, V.L.; LINO, A.G.; RIBEIRO, R.A.; COLODETTE, J.L.; FORSSTRÖM, A.; WACKERBERG, E. Factors affecting brightness reversion of hardwood kraft pulps. *BioResources*, 6(4), 4801-4814. 2011.

SMIT, D. Brightness reversion. *Paper Southern Africa*, [S.l.], v. 8, p. 34-39, 1993.

SUNG BAE KIM; BYUNG HWAN UM; SOON CHUL PARK. Effect of Pretreatment Reagent and Hydrogen Peroxide on Enzymatic Hydrolysis of Oak in Percolation Process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 91–93:1-9, 81-94, 2001.

TRAN, A. V. Thermal yellowing of hardwood kraft pulp bleached with chlorine dioxide based sequence. *Journal of Pulp and Paper Science*, Montreal, CA, v. 28, n. 4, p. 115, 2002.

VELASCO, J. Improving Brazil's sugarcane ethanol: Sustainable energy & climate change. Disponível em: [www.oecd.org/dataoecd/29/1/43457520.pdf](http://www.oecd.org/dataoecd/29/1/43457520.pdf). Acesso em: 15 de junho de 2010.

VUORINEN, T., TELEMAN, A., FAGERSTROM, P., BUCHERT, J., AND TENKANEN, M., Hidrólise seletiva de grupos de ácido hexenurônicos e sua aplicação nos branqueamentos ECF e TCF de polpa kraft. Proc. 1996 Intl. Pulp Bleaching Conf., Tappi Press 1:43-51, 1996.

VUORINEN, T.; BUCHERT, J.; TELEMAN, A.; TENKANEN, M.; FAGERSTROM, P. Selective hydrolyses of hexenuronic acid groups. Journal of Pulp and Paper Science, Montreal, CA, v. 25, n. 5, p. 155-162, 1999.

VUORINEN, T., JÄÄSKELÄINEN, A.-S., ADORJAN, I., LEHTIMAA, T., Toikka, K., Zhou, Z. Reactivity of hexenuronic acid in bleaching of eucalyptus kraft pulps. 3rd Intl. Colloq. on Eucalyptus Pulp (ICEP), March 4–7, 2007, MG Brazil.

WALLIS, A. F. A.; WEARNE, R. H.; WRIGHT, P. J. Chemical analysis of polysaccharides in plantation eucalypt woods and pulps. Appita Journal, v. 49, n. 4, p.258-262, 1996.

WENNERSTRÖM, M. Decreasing brightness reversion with powerful ozone bleaching. Pulp e Paper Canada, n.106, v. 1, p. T9, 2005.

XIMENES, E.; KIMA Y.; MOSIERA N.; DIEND B.; LADISCHA M. Inhibition of cellulases by phenols. Enzyme and Microbial Technology, 46, 170–176, 2010.

YAKU, F., YAMADA, Y.; KOSHIJIMA, T. Lignin-carbohydrate complex. Part II. Enzymatic degradation of acidic polysaccharide in Björkman LCC. *Holzforschung*, 30, 148-156, 1976.

ZERONIAN, S. H.; INGLESBY, M. K.. Bleaching of cellulose by hydrogen peroxide. *CELLULOSE*, 2, 4, 265-272, 1995.

ZHANG, Y.H. P.; LYND, L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulose systems. *Biotechnol. Bioeng.*, 88, 797–824, 2004

ZHANG, L.; GELLERSTEDT, G. Quantitative 2D HSQC NMR determination of polymer structures by selecting suitable internal standard reference. *Magn. Res. Chem.* 45:37-45, 2007.

ZHAO X.; CHENG K.; LIU D. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Appl Microbiol Biotechnol*, 82:815–827, 2009.

ZHU, J., WANG, G., PAN, X., & GLEISNER, R. Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification. *Chemical Engineering Science*, 64, 474–485, 2009.

# APÊNDICES

## Apêndice A (Dados Artigo I)

**Tabela 1A.** Reversão de alvura e características químicas da polpa depois do envelhecimento em pH 4,5 e 8,0 na Condição (III) (45 °C e 50% UR)

Polpas	pH	Reversão, %ISO			Número Kappa			Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg			HexA, mmol/kg		
		720	1080	1440	720	1080	1440	720	1080	1440	720	1080	1440
1	4,5	1,4	2,4	2,8	0,5	0,4	0,3	845	797	785	5,3	4,7	4,2
	8,0	0,8	1,3	1,4	0,7	0,6	0,5	858	823	812	5,9	5,5	5,1
2	4,5	1,7	2,3	2,7	0,1	0,1	0,1	806	771	749	1,4	1,2	1,0
	8,0	0,8	1,3	1,4	0,2	0,2	0,2	837	838	836	1,7	1,7	1,6
3	4,5	2,1	2,7	3,2	0,3	0,3	0,3	783	761	759	3,1	2,8	2,5
	8,0	1,2	1,4	2,0	0,4	0,4	0,4	828	815	791	3,8	3,7	3,6
4	4,5	3,1	4,8	6,6	2,9	2,7	2,5	581	550	521	20,1	17,4	16,3
	8,0	1,7	2,8	4,0	3,5	3,2	3,1	645	619	598	25,4	24,7	24,4
5	4,5	3,2	5,1	5,9	3,2	2,9	2,4	712	678	659	25,9	21,7	18,7
	8,0	1,1	1,5	2,1	4,0	3,8	3,5	720	709	687	29,3	28,4	26,1
6	4,5	2,4	3,1	3,8	1,5	1,2	1,0	781	752	716	8,9	8,1	6,7
	8,0	0,9	1,4	1,8	1,8	1,7	1,6	814	781	759	10,2	9,8	9,5
7	4,5	3,9	5,6	6,2	4,6	3,9	2,9	749	725	701	42,8	36,1	28,9
	8,0	1,3	1,8	2,3	5,5	5,2	4,8	791	768	742	46,8	46,1	45,2
8	4,5	1,1	1,4	2,0	0,2	0,1	0,1	1032	1009	997	1,7	1,6	1,3
	8,0	0,8	1,1	1,5	0,2	0,2	0,1	1089	1075	1059	2,0	1,9	1,9
9	4,5	3,4	5,1	5,9	3,8	3,3	2,8	761	707	686	33,8	28,9	23,7
	8,0	0,9	1,6	2,2	4,5	4,3	3,9	789	760	754	36,5	34,9	34,1
10	4,5	0,9	1,3	1,7	0,3	0,3	0,2	459	444	421	1,0	0,9	0,8
	8,0	0,5	0,6	0,8	0,4	0,3	0,3	475	467	451	1,2	1,1	1,0

**Tabela 2A.** Reversão de alvura e características químicas da polpa depois do envelhecimento em pH 4,5 e 8,0 na Condição (IV) (30 °C e 50% UR)

Polpas	pH	Reversão, %ISO			Número kappa			Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg			HexA, mmol/kg		
		720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h
1	4,5	0,8	1,7	2,3	0,7	0,6	0,5	854	803	792	5,7	5,3	4,8
	8,0	0,6	0,8	1,1	0,8	0,8	0,7	860	837	825	6,2	6,0	5,9
2	4,5	0,6	0,8	1,1	0,2	0,1	0,1	838	790	773	1,5	1,5	1,3
	8,0	0,4	0,5	0,6	0,2	0,2	0,2	871	858	844	1,8	1,8	1,7
3	4,5	1,0	1,9	2,6	0,4	0,3	0,3	807	790	776	3,5	3,2	2,9
	8,0	0,6	0,8	1,1	0,4	0,4	0,4	838	827	819	4,0	3,9	3,8
4	4,5	2,0	4,3	5,0	3,4	3,1	2,7	620	559	532	23,1	20,6	18,7
	8,0	0,6	1,0	1,6	3,7	3,5	3,2	669	627	609	25,7	25,3	24,9
5	4,5	2,8	4,5	5,1	3,6	3,1	2,8	720	691	673	26,3	22,4	19,3
	8,0	0,7	1,1	1,6	4,2	4,0	3,6	727	719	695	29,7	28,8	26,4
6	4,5	1,3	2,5	2,8	1,7	1,5	1,3	803	766	732	9,3	8,6	7,1
	8,0	0,7	1,0	1,3	1,9	1,8	1,7	820	797	779	10,5	10,2	9,8
7	4,5	3,5	5,1	5,6	5,0	4,3	3,2	771	747	712	43,9	36,8	29,9
	8,0	1,0	1,4	1,8	5,6	5,3	4,9	807	774	758	47,3	46,6	45,8
8	4,5	0,9	1,2	1,6	0,2	0,2	0,1	1056	1023	1012	1,8	1,6	1,4
	8,0	0,7	1,0	1,2	0,2	0,2	0,2	1107	1088	1079	2,1	2,0	1,9
9	4,5	3,0	4,6	5,1	4,2	3,5	3,0	772	723	704	34,5	30,2	25,4
	8,0	0,8	1,2	1,7	4,7	4,4	4,1	800	786	766	36,9	35,3	34,7
10	4,5	0,5	0,6	0,8	0,4	0,3	0,3	462	451	438	1,0	0,9	0,9
	8,0	0,3	0,4	0,5	0,4	0,4	0,3	480	472	463	1,2	1,2	1,1

**Tabela 3A.** Reversão de alvura e características químicas da polpa depois do envelhecimento em pH 4,5 e 8,0 na Condição (V) (45 °C e 90% UR)

Polpas	pH	Reversão, %ISO			Número kappa			Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg			HexA, mmol/kg		
		720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h
1	4,5	5,8	7,6	8,2	0,4	0,4	0,3	777	756	744	4,4	3,8	3,1
	8,0	1,9	2,2	2,5	0,6	0,6	0,5	845	810	772	5,4	5,0	4,6
2	4,5	3,0	3,7	3,9	0,2	0,2	0,1	746	733	720	1,2	1,0	0,8
	8,0	1,8	1,9	2,0	0,2	0,2	0,1	814	797	761	1,6	1,6	1,5
3	4,5	5,4	6,4	6,9	0,3	0,2	0,2	775	768	733	2,5	2,1	1,7
	8,0	2,7	3,1	3,8	0,4	0,3	0,3	802	785	764	3,9	3,8	3,6
4	4,5	14,6	17,5	18,7	1,9	1,6	1,4	536	509	449	12,4	10,3	9,1
	8,0	3,9	5,2	6,8	3,3	2,8	2,2	608	548	491	24,4	23,5	21,6
5	4,5	15,9	17,9	19,1	2,6	2,0	1,7	656	632	603	16,3	11,0	9,8
	8,0	4,7	6,5	7,4	3,6	2,9	2,6	701	674	659	28,2	26,4	24,1
6	4,5	8,8	10,7	11,4	1,2	0,8	0,6	697	684	656	6,5	6,1	5,2
	8,0	3,0	3,9	4,8	1,5	1,3	1,0	791	746	724	9,5	8,9	8,0
7	4,5	21,3	22,9	25,3	4,1	3,4	2,8	698	623	557	38,9	32,9	26,4
	8,0	6,7	7,8	9,1	4,7	4,4	4,0	762	715	648	45,3	42,8	39,2
8	4,5	4,6	5,9	7,1	0,1	0,1	0,1	1002	984	953	1,0	0,9	0,6
	8,0	2,7	3,6	3,9	0,2	0,2	0,1	1059	1012	986	1,7	1,6	1,4
9	4,5	17,4	19,2	21,5	3,2	2,8	2,3	741	702	677	29,6	26,1	21,9
	8,0	5,8	7,2	8,1	3,8	3,5	3,0	780	746	709	33,9	31,4	29,8
10	4,5	1,8	2,4	3,2	0,2	0,2	0,1	441	418	392	0,8	0,7	0,6
	8,0	1,7	2,0	2,4	0,3	0,2	0,1	451	439	414	1,1	1,0	0,9

**Tabela 4A.** Reversão de alvura e características químicas da polpa depois do envelhecimento em pH 4,5 e 8,0 na Condição (VI) (30 °C and 90% RH)

Polpas	pH	Reversão, %ISO			Número kappa			Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg			HexA, mmol/kg		
		720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h	720h	1080h	1440h
1	4,5	4,3	5,9	6,8	0,5	0,5	0,4	783	771	763	4,9	4,2	3,8
	8,0	1,4	1,8	2,0	0,7	0,6	0,6	849	817	789	5,7	5,3	4,9
2	4,5	2,3	2,7	3,1	0,1	0,1	0,1	762	753	738	1,3	1,1	0,9
	8,0	1,2	1,3	1,5	0,2	0,2	0,1	820	804	786	1,7	1,6	1,6
3	4,5	4,8	5,7	6,2	0,4	0,3	0,2	794	776	742	2,9	2,4	2,1
	8,0	2,0	2,6	2,9	0,4	0,4	0,3	819	803	773	4,0	3,9	3,8
4	4,5	11,3	14,7	16,1	2,4	1,9	1,7	548	523	468	13,9	11,5	10,2
	8,0	2,9	4,5	6,3	3,4	2,8	2,5	619	561	522	24,7	23,9	22,3
5	4,5	12,7	15,1	16,7	2,9	2,6	2,1	671	649	627	17,9	13,3	10,9
	8,0	3,2	4,8	6,9	3,8	3,4	2,9	711	690	672	29,1	27,2	24,9
6	4,5	7,2	9,3	9,9	1,4	1,1	1,0	714	693	671	7,1	6,3	5,9
	8,0	2,4	3,2	4,0	1,6	1,4	1,1	802	769	743	10,0	9,4	8,7
7	4,5	14,2	17,3	20,7	4,3	4,0	3,5	711	672	614	40,2	37,4	32,1
	8,0	4,7	6,2	7,8	4,9	4,7	4,3	783	736	684	46,1	44,4	40,1
8	4,5	3,9	5,5	6,4	0,1	0,1	0,1	1021	996	978	1,3	1,0	0,9
	8,0	2,1	2,7	3,1	0,2	0,2	0,1	1075	1039	1005	1,8	1,7	1,6
9	4,5	13,1	16,0	17,3	3,3	3,0	2,8	741	702	677	31,9	28,2	25,7
	8,0	4,1	5,3	6,9	4,0	3,7	3,4	780	746	709	35,3	34,2	32,6
10	4,5	1,3	2,1	2,7	0,3	0,1	0,1	452	439	409	0,9	0,8	0,8
	8,0	0,8	1,6	1,9	0,4	0,2	0,1	466	454	431	1,1	1,0	1,0

## Apêndice B (Dados Artigo II)

### Condições de branqueamento da polpa pré-deslignificada com O<sub>2</sub>

**Tabela 1 B.** Resultados do branqueamento da Polpa 1 pela sequência Q(EP)QP

Condições e Resultados	Estágios de Branqueamento				
	O	Q	(EP)	Q	P
Consistência, %	-	11	11,5	11	10,2
Temperatura, °C	-	<b>70</b>	<b>95</b>	70	81
Tempo, min	-	60	60	60	120
Fator kappa	-	-	-	-	-
ClO <sub>2</sub> , kg/t	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/t	-	0,6	-	2,2	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/t	-	-	<b>25</b>	-	25
NaOH, kg/t	-	-	<b>16</b>	-	11
EDTA, kg/t	-	2	-	2	
MgSO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	0,5	-	-
pH final	-	<b>5,7</b>	<b>10,6</b>	<b>5,7</b>	<b>10,5</b>
Reagente Consumido, %	-	-	84,3	-	64,67
Número kappa	10,3	-		-	4,8
Alvura AD., % ISO	59,7	64,1	87	87,8	90,4
Alvura OD., %ISO	-	-	-	-	88,2
Reversão, % ISO	-	-	-	-	2,2
Brancura CIE	-	-	-	-	-
Reversao de brancura	-	-	-	-	-
Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg	999	-		-	659
HexA's, mmol/kg	51,6	-	-	-	41

**Tabela 2 B.** Resultados do branqueamento da Polpa 2 pela sequência D(EP)DP

Condições e Resultados	Estágios de Branqueamento				
	O	D*	(EP)	D1	P
Consistência, %	-	10,5	11,5	11,2	10,2
Temperatura, °C	-	<b>60</b>	<b>95</b>	81	81
Tempo, min	-	120	60	125	120
Fator kappa	-	-	-	-	-
ClO <sub>2</sub> , kg/t	-	2	-	1	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/t	-	1,5	-	1	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/t	-	-	<b>10</b>	-	3
NaOH, kg/t	-	-	<b>8</b>	-	4,4
MgSO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	0,5	-	-
pH final	-	<b>4,6</b>	<b>11,1</b>	<b>5,7</b>	<b>10,8</b>
Reagente Consumido, %	-	100	91,1	100	94,01
Número kappa	10,3	-	-	-	3,9
Alvura AD., % ISO	59,7	70,5	81,6	85,2	89,6
Alvura OD., %ISO	-	-	-	-	87,9
Reversão, % ISO	-	-	-	-	1,7
Brancura CIE	-	-	-	-	-
Reversao de brancura	-	-	-	-	-
Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg	999	-	-	-	856
HexA´s, mmol/kg	51,6	-	-	-	36,1

**Tabela 3 B.** Resultados do branqueamento da Polpa 3 pela sequência D(EP)DP

Condições e Resultados	Estágios de Branqueamento				
	O	D*	(EP)	D1	P
Consistência, %	-	10,5	11,5	11,2	10,2
Temperatura, °C	-	<b>60</b>	<b>95</b>	82	80
Tempo, min	-	120	60	125	120
Fator kappa	-	<b>0,12</b>	-	-	-
ClO <sub>2</sub> , kg/t	-	4,7	-	1	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/t	-	0,8	-	1	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/t	-	-	<b>8</b>	-	1
NaOH, kg/t	-	-	<b>11</b>	-	1,8
MgSO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	0,5	-	-
pH final	-	<b>4,5</b>	<b>11,3</b>	<b>5,1</b>	<b>8,5</b>
Reagente Consumido, %	-	100	100	100	97
Número kappa	10,3	-	5,6	-	3,1
Alvura AD., % ISO	59,7	75,8	86,2	88,9	90,4
Alvura OD., % ISO	-	-	-	-	89,2
Reversão, % ISO	-	-	-	-	1,2
Brancura CIE	-	-	-	-	-
Reversao de brancura	-	-	-	-	-
Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg	999	-	16,07	-	867
HexA's, mmol/kg	51,6	-	-	-	29,3

**Tabela 4 B.** Resultados do branqueamento da Polpa 4 pela sequência D(EP)DP

Condições e Resultados	Estágios de Branqueamento				
	O	D*	(EP)	D1	P
Consistência, %	-	10,5	11,5	11,2	10,2
Temperatura, °C	-	<b>60</b>	<b>80</b>	82	80
Tempo, min	-	120	60	125	120
Fator kappa	-	<b>0,12</b>	-	-	-
ClO <sub>2</sub> , kg/t	-	4,7	-	4	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/t	-	0,8	-	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/t	-	-	<b>4</b>	-	1
NaOH, kg/t	-	-	8	0,6	2
MgSO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	0,5	-	-
pH final	-	<b>3,5</b>	<b>11,3</b>	<b>5,8</b>	<b>8,1</b>
Reagente Consumido, %	-	100	100	98,6	91,2
Número kappa	10,3	-	5,19	-	1,9
Alvura AD., % ISO	59,7	75,8	82,6	89,7	90
Alvura OD., % ISO	-	-	-	-	89,1
Reversão, % ISO	-	-	-	-	0,9
Brancura CIE	-	-	-	-	-
Reversao de brancura	-	-	-	-	-
Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg	999	-	17,9	-	876
HexA's, mmol/kg	51,6	-	-	-	16,9

**Tabela 5 B.** Resultados do branqueamento da Polpa 5 pela sequência D(EP)DP

Condições e Resultados	Estágios de Branqueamento				
	O	D*	(EP)	D1	P
Consistência, %	-	10,5	11,5	11,2	10,2
Temperatura, °C	-	<b>70</b>	<b>80</b>	80	80
Tempo, min	-	120	60	125	120
Fator kappa	-	<b>0,18</b>	-	-	-
ClO <sub>2</sub> , kg/t	-	7	-	2	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	-	0,6	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/t	-	-	<b>4</b>	-	2
NaOH, kg/t	-	1	<b>7,5</b>	-	3
MgSO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	0,5	-	-
pH final	-	<b>4</b>	<b>10,9</b>	<b>4,7</b>	<b>9,7</b>
Reagente Consumido, %	-	100	91	100	92,52
Número kappa	10,3	-	-	-	1,4
Alvura AD., % ISO	59,7	77	86,3	89,5	90,9
Alvura OD., %ISO	-	-	-	-	90
Reversão, % ISO	-	-	-	-	0,9
Brancura CIE	-	-	-	-	-
Reversao de brancura	-	-	-	-	-
Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg	999	-	-	-	900
HexA´s, mmol/kg	51,6	-	-	-	11,9

**Tabela 6 B.** Resultados do branqueamento da Polpa 6 pela sequência D(EP)DP

Condições e Resultados	Estágios de Branqueamento				
	O	D*	(EP)	D1	P
Consistência, %	-	10,5	11,5	11,2	10,2
Temperatura, °C	-	<b>95</b>	81	81	81
Tempo, min	-	120	60	125	120
Fator kappa	-	<b>0,24</b>	-	-	-
ClO <sub>2</sub> , kg/t	-	9,4	-	4	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/t	-	-	1	-	0,5
NaOH, kg/t	-	2,5	4	0,4	2
MgSO <sub>4</sub> , kg/t	-	-	-	-	-
pH final	-	<b>3,9</b>	<b>10,5</b>	<b>4,1</b>	<b>9,6</b>
Reagente Consumido, %	-	100	100	100	82,04
Número kappa	10,3	-	-	-	0,4
Alvura AD., % ISO	59,7	77,4	80,9	87,9	90,6
Alvura OD., %ISO	-	-	-	-	90
Reversão, % ISO	-	-	-	-	0,6
Brancura CIE	-	-	-	-	-
Reversao de brancura	-	-	-	-	-
Viscosidade, dm <sup>3</sup> /kg	999	-	-	-	905
HexA's, mmol/kg	51,6	-	-	-	2,3

## Apêndice C (Dados Artigo II)

### Propriedades dos testes físico-mecânicos das polpas

**Tabela 1 C.** Resultados experimentais dos testes físico-mecânicos e ópticas das polpas em pH 4,5

Polpas	Nº de Revoluções	Consumo de Energia PFI (Wh)	°SR	Espessura (µm)	IT (N.m/g)	IA (Kpa.m <sup>2</sup> /g)	IR (mN.m <sup>2</sup> /g)	Alongamento (%)	RPA (s/100cm <sup>3</sup> )	PEA (kg/cm <sup>3</sup> )	VEA (cm <sup>3</sup> /g)	TEA (J/m <sup>2</sup> )	MOE (MN.m/Kg)	Opacidade (%)	CDL (m <sup>2</sup> /kg)
1	0	0	19	117	32,5	1,35	6,45	2,06	1,43	531,20	1,88	33,97	4,96	80,0	46,1
	1000	13	31	89	72,77	3,73	9,08	3,63	10,98	700,45	1,43	117,25	7	74,6	34,4
	2000	25	43	82	83,23	4,34	8,49	3,9	42,33	755,61	1,32	142,67	7,39	70,3	29,0
	3000	39	60	75	90,47	4,98	8,04	3,96	222,63	830,93	1,20	157,85	7,78	65,8	25,4
2	0	0	20	123	32	1,33	5,41	2,15	1,26	516,99	1,93	32,82	4,73	81,2	46,4
	1000	12	30	91	71,41	3,55	9,54	3,62	10,43	695,49	1,44	116,75	6,84	75,6	35,0
	2000	25	39	85	89,46	4,28	9,39	3,97	36,94	753,88	1,33	159,62	7,63	72,8	31,0
	3000	38	54	77	95,88	5,20	8,92	4,18	123,44	812,34	1,23	175,03	7,66	66,9	25,8
3	0	0	20	123	33,46	1,34	6,79	2,08	1,41	521,71	1,92	33,34	4,86	81,2	47,0
	1000	12	31	93	72,68	3,63	10,03	3,54	10,28	687,31	1,45	121,79	6,77	76,1	35,5
	2000	26	40	84	84,5	4,52	9,97	3,94	35,18	756,79	1,32	154,68	7,08	72,1	30,1
	3000	38	57	79	93,4	4,84	8,31	4,2	149,82	799,37	1,25	169,2	7,61	67,3	25,2
4	0	0	19	122	31,45	1,21	5,04	2,00	1,23	515,66	1,94	29,74	4,83	81,4	46,8
	1000	12	29	92	69,21	3,40	10,73	3,54	8,83	671,85	1,49	108,51	6,67	75,3	35,6
	2000	25	40	83	89,37	4,65	9,81	4,11	37,17	750,72	1,33	158,39	7,2	71,1	29,7
	3000	39	53	80	93,01	5,05	8,42	4,17	124,93	802,88	1,25	171,61	7,47	68,7	26,2
5	0	0	18	123	29,2	1,18	5,11	1,78	1,13	504,07	1,98	24,22	4,77	79,7	47,4
	2000	25	32	86	80,93	4,27	9,85	4,02	16,92	722,67	1,38	138,72	6,97	73,2	32,8
	3000	38	43	80	92,48	4,95	9,52	4,31	55,45	784,00	1,28	175	7,11	70,3	28,7
	4000	53	54	78	95,61	5,27	9,44	4,34	146,1	810,51	1,23	178,22	7,65	67,7	24,7
6	0	0	18	125	27,95	1,07	5,57	1,83	0,99	499,60	2,00	24,34	4,89	80,2	48,5
	2000	26	31	86	78,1	3,72	9,94	3,78	16,37	733,14	1,36	130,84	7,12	72,1	31,8
	3000	40	41	82	86,47	4,33	10,20	4,08	57,8	787,93	1,27	160,33	7,29	70,0	29,3
	4000	53	51	77	90,52	4,94	9,03	4,27	115,69	814,42	1,23	170,57	7,43	68,0	27,4

NOTA: °SR = Schopper Riegler; PEA = peso específico aparente; VEA = volume específico aparente; TEA = energia de deformação; MOE = módulo de elasticidade específico; IT = índice de tração; IA = índice de arrematamento; IR = índice de rasgo; CDL = coeficiente de dispersão de luz; RPA = resistência a passagem de ar.

**Tabela 2 C. Resultados experimentais dos testes físico-mecânicos e ópticas das polpas em pH 8,0**

Polpas	Nº de Revoluções	Consumo de Energia PFI (Wh)	°SR	Espessura (µm)	IT (N.m/g)	IA (Kpa.m²/g)	IR (mN.m²/g)	Alongamento (%)	RPA (s/100cm³)	PEA (kg/cm³)	VEA (cm³/g)	TEA (J/m²)	MOE (MN.m/Kg)	Opacidade (%)	CDL (m²/kg)
1	0	0	22	117	33,19	1,37	5,69	2,22	1,7	533,16	1,88	35,9	5,12	80,65	48
	1000	13	35	85	81,2	4,16	8,56	3,88	17,72	724,24	1,38	142,67	7,19	72,745	33,905
	1500	18	44	81	92,09	4,67	8,06	4,03	51,46	765,56	1,31	159,14	7,73	70,755	29,8
	2000	26	54	84	91,96	4,81	7,72	4,12	137,1	795,48	1,26	166,25	7,79	68,04	25,22
2	0	0	20	124	31,72	1,25	5,59	2,14	1,23	506,21	1,98	32,57	4,95	81,16	47,825
	1000	13	34	92	75,15	3,84	10,25	3,47	14,05	690,65	1,45	118,99	7,06	74,41	33,89
	1500	19	42	85	85,2	4,87	9,00	3,63	41,21	739,76	1,35	137,5	7,47	71,395	30,095
	2000	26	50	77	90,12	5,17	8,50	3,71	116,69	800,26	1,25	139,21	7,67	66,935	25,705
3	0	0	20	128	30,91	1,22	6,29	2,02	1,36	506,80	1,97	30,71	4,72	81,62	48,075
	1000	13	37	89	80,3	4,30	9,61	3,66	21,72	711,01	1,41	128,2	7,13	75,08	34,225
	1500	19	42	86	90,51	4,69	9,55	4,15	38,35	745,00	1,34	167,12	7,32	73,63	30,85
	2000	25	50	81	97,31	5,30	9,13	4,27	76,37	780,12	1,28	180,64	7,57	70,24	22,4
4	0	0	20	121	31,08	1,28	6,25	1,89	1,3	526,69	1,90	28,24	4,85	82,5	46,935
	1000	12	31	92	74,2	4,02	9,99	3,66	12,22	679,02	1,47	122,88	6,8	76,87	36,155
	1500	19	39	86	86,63	4,95	9,77	3,96	30,19	733,02	1,36	149,12	7,44	73,92	31,835
	2000	27	50	80	97,68	5,29	8,40	4,23	76,56	776,38	1,29	169,43	7,6	70,245	27,705
5	0	0	20	124	29,21	1,12	5,29	1,84	1,2	499,68	2,00	25,56	4,8	79,645	47,85
	1000	13	29	91	73,79	3,56	9,46	3,72	9,2	682,75	1,46	120,24	6,81	74,685	36,345
	2000	25	40	84	94,27	4,71	9,34	4,23	40,43	743,45	1,35	174,58	7,2	71,425	30,66
	3000	39	53	78	96,74	5,17	8,50	4,34	152,46	803,59	1,24	182,74	7,56	68,58	25,6
6	0	0	20	124	29,02	1,14	6,16	1,75	1,25	480,48	2,08	23,26	4,75	80,245	52,61
	1000	13	28	93	73,55	3,43	9,14	3,66	7,73	646,77	1,55	115,04	7,01	75,49	40,015
	2000	26	37	82	91,38	4,82	10,02	4,19	34,56	732,93	1,36	157,55	7,28	71,81	33,345
	3000	40	50	78	105,21	5,64	9,06	4,46	101,18	774,10	1,29	191,67	7,71	68,425	28,45

NOTA: SR = Schopper Riegler; PEA = peso específico aparente; VEA = volume específico aparente; TEA = energia de deformação; MOE= módulo de elasticidade específico; IT = índice de tração; IA = índice de arrebentamento; IR = índice de rasgo; CDL = coeficiente de dispersão de luz; RPA = resistência a passagem de ar.

## **Apêndice D (Artigos I, II, III e IV)**

### **LISTA DE ARTIGOS**

- I. Factors affecting brightness reversion of hardwood kraft pulps**
- II. Influence of hexenuronic acid and pH on refining and physical-mechanical properties of pulps produced by ECF and TCF processes**
- III. Effect of lignin carbohydrates complexes of hardwoods hibrids on kraft pulping process**
- IV. Effect of hydrogen peroxide, copper (II) and refining on enzymatic hydrolysis of hardwood and softwood**

## FACTORS AFFECTING BRIGHTNESS REVERSION OF HARDWOOD KRAFT PULPS

Vanessa L. Silva,<sup>a,\*</sup> Alessandro G. Lino,<sup>a</sup> Robisnéa A. Ribeiro,<sup>a</sup> Jorge L. Colodette,<sup>a</sup> Annbritt Forsström,<sup>b</sup> and Eva Wackerberg<sup>b</sup>

Ten industrial fully bleached hardwood pulps representing very different brightness reversion profiles were evaluated. The pulps were characterized before and after brightness reversion. The aging method (dry, wet, high/low RH, high/low temperature, short/long time) had, in most cases, no effect on overall brightness reversion trends, but affected the absolute reversion values significantly. Relative humidity in the range of 50 to 90% influenced reversion much more than temperatures in the range from 30 to 45°C. Dry and wet heat-induced brightness reversion correlated positively and significantly with hexenuronic acid (HexA) content in the pulp. The brightness reversion causes a significant decrease in pulp viscosity values, and HexA thus causing decrease of kappa number. Modern pulps produced by TCF and light ECF bleaching technologies were more prone to brightness reversion than regular ECF pulps, partly due to the higher content of HexA. At a pH level above 8, the brightness reversion process was strongly retarded for pulps with a very high HexA content.

*Keywords:* Bleached kraft pulps; Brightness reversion; Humidity; pH; Temperature

*Contact information:* a: Federal University of Viçosa, Viçosa, 36570-000, Brazil; b: Eka Chemicals AB, SE-445 80 Bohus, Sweden; \* Corresponding author: vanessa.silva@ufv.br

### INTRODUCTION

Brightness reversion is of importance for high brightness hardwood kraft pulp producers, particularly for those operating with low chemical charges in the bleach plant. Low kappa numbers and high brightness values in modern hardwood kraft pulps do not necessarily imply high brightness stability.

A number of researchers have investigated heat-induced brightness reversion in both dry and humid atmospheres using different wood raw materials as well as different elemental chlorine free (ECF) and totally chlorine free (TCF) bleaching sequences (Colodette et al. 2003; Ganström et al. 2002). It has been suggested that hexenuronic acid (HexA) groups, carbonyl groups, and lignin residues are involved in the brightness reversion reactions (Sevastyanova 2005). Transition metal ions such as Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup> or Mn<sup>2+</sup>, present in bleached pulps in trace amounts, have been associated with a faster brightness loss (Forsskåhl 2000; Gellerstedt et al. 2003; Forsström et al. 2007), but their exact role in the color formation is not yet known.

Hexenuronic acids are formed during kraft pulp cooking when 4-O-methylglucuronic acid groups in glucuronoxylan are converted to 4-deoxy-4-hexenuronic acid groups. In most cases, the HexA groups survive TCF and ECF light bleaching operations

operations (Eiras et al. 2008, 2009). Bleaching sequences with reduced chlorine dioxide consumption are termed ECF light bleaching.

This paper describes the brightness reversion characteristics of ECF- and TCF-bleached industrial hardwood kraft pulps produced from different wood raw materials. The influence of aging conditions, HexA and carbonyl groups, copper number, and metal ion content of the pulp will also be discussed.

## EXPERIMENTAL

### Pulp and Paper Analyses

The experiments were carried out on industrial bleached hardwood kraft pulps produced from eucalyptus, birch, and acacia, obtained from South American, European, and Asian pulp mills. The pulps were thoroughly washed with distilled water (4 liters of water to 25 grams of pulp) and then characterized according to measurements of conventional kappa number, viscosity, brightness, organically-bound chlorine, reducing groups, carboxyl groups, hexenuronic acids, dichloromethane (DCM) extractives, glucans, and xylans.

Next, these pulps were used to form handsheets at two pH levels (4.5 and 8.0). The pH-value of the pulp suspension was adjusted with sulfuric acid and sodium hydroxide at 0.3% consistency before sheet-making. The handsheets were then formed according to TAPPI standard T218 sp-97 and dried for 12 hours to a moisture content of 10-11% in an environmentally controlled room, (50±2% relative humidity and 23±1 °C) before aging according to conditions I -VI described below.

### Aging Conditions

The extent of reversion, evaluated as brightness loss and post color (PC) number (Giertz, 1945), was determined using the following conditions:

- (I) 105°C for 4 h and ~0% relative humidity (RH),
- (II) 70°C for 64 h and 10% pulp moisture content,
- (III) 45°C for 720, 1080, 1440h and 50% RH,
- (IV) 30°C for 720, 1080, 1440 h and 50% RH,
- (V) 45°C for 720, 1080, 1440 h and 90% RH,
- (VI) 30°C for 720, 1080, 1440 h and 90% RH.

The aging of the handsheets according to Condition I was performed by placing the sheets in an oven, and aging according to Condition II was performed by placing the sheets in a sealed plastic bag in a water bath. Conditions III-VI were obtained by placing the sheets in an acclimatizing chamber, which allowed for temperature (± 1°C) and relative humidity (± 1%) control. The acclimatizing chamber was also used for determining the moisture content (TAPPI standard T 412 om-94) of handsheets as a function of temperature (30, 45, and 60°C) and relative humidity (30, 50, and 90%). Table 1 summarizes the standard methods used for determining the chemical composition, optical properties, viscosity, and kappa number before and after aging. The metal ion content of

the pulps was determined after wet combustion with nitric acid, using a microwave system with an Inductively Coupled Plasma instrument (Iris Radiell, Thermo ICP).

**Table 1.** Methods Used in this Study

Analysis	Method
Kappa number	TAPPI T 236 om-85
Viscosity	TAPPI T 230 om-85
Brightness	TAPPI T 452 om-86
Carbohydrates	TAPPI T 249 cm-85
Extractives (dichloromethane)	TAPPI T 204 cm-97
Hexenuronic acid (HexA)	Vuorinen et al. 1999
Copper number	TAPPI T 430 om-94
Organically bound chlorine (OX)	SCAN W 9:89 ECS 1600
Carboxyl groups	TAPPI T 237 om-93

### Principal Component Analysis (PCA)

PCA is frequently used to reduce the dimensionality of data in chemical problems. The objective of PCA is to compress data within a group of new variables, which is a linear combination of the original variables, maximizing the description of data variance (Correia and Ferreira 2007). The PCA was performed by assigning the sample data from the different initial pulps characteristics. The principal component was carried out using the Unscrambler (version 7.0, Camo (Norway), USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

The objective of this study was to establish proper laboratory conditions to assess brightness reversion, relevant to the reality during pulp transportation. The purpose was also to further understand in what way the chemical composition of commercial pulps influences the heat-induced aging process. The accelerated aging conditions I and II (Granström et al. 2001) and the more natural aging conditions III through V were used for evaluation of brightness reversion. The metal and extractive contents of the bleached pulps were evaluated and considered to be on a low level and are therefore not discussed further in this work. The metals report limits (mg/kg) were: Cu, 0.1; Fe, 0.5; and Mn, 0.1.

### Pulp Characterization

The ten pulp samples used in this study were obtained from nine different companies, from three wood species. Two pulps were produced from birch, one from acacia, and the remaining pulps were produced from eucalyptus (Table 2). Two pulps were bleached with TCF technology, and eight pulps with ECF technology, except that one of them employed an ECF light treatment with low dosage of chlorine dioxide. The other pulps were bleached with modified ECF bleaching sequences: four with a final P stage and three with a final D stage. The initial brightness of the pulps was 89 to 92% ISO, and the kappa number was between 0.2 and 5.8. It is noteworthy that the viscosity of the bleached acacia pulp was very low (Table 2).

**Table 2.** Properties of the Industrial Hardwood Kraft Pulps Prior to Aging

Pulp Number	Wood species	Bleaching sequence*	Brightness, %ISO	Kappa Number	Viscosity, dm <sup>3</sup> /kg
1	Euca.	ECF <i>D</i>	90.8	0.8	866
2	Euca.	ECF <i>P</i>	92.2	0.2	876
3	Euca.	ECF <i>P</i>	89.6	0.4	842
4	Euca.	ECF <i>P</i>	90.6	3.7	674
5	Euca.	ECF <i>P</i>	89.6	4.5	734
6	Euca.	ECF light <i>P</i>	90.9	1.9	829
7	Euca.	TCF <i>P</i>	89.0	5.8	813
8	Birch	ECF <i>D</i>	89.6	0.2	1150
9	Birch	TCF <i>P</i>	90.2	4.8	811
10	Acacia	ECF <i>D</i>	90.9	0.4	487

\*The final bleaching stage for the ECF pulps is given in italics.

The copper number (reducing groups), carboxylic groups, hexenuronic acid (HexA) content, organically bound chlorine (OX), carbohydrate, and extractive (dichloromethane) contents of the pulps before aging are given in Table 3. Pulps with a high HexA content also had high carboxyl group content and a high kappa number. The ECF birch pulp (no. 8) had high organically-bound chlorine content, likely caused by usage of chlorine dioxide in the bleaching sequence. The xylan content of the birch pulps (pulps 8 and 9, Table 3) was, as expected (Sjöström 1981), significantly higher compared to the other hardwood pulps.

**Table 3.** Properties of Industrial Hardwood Kraft Pulps Prior to Aging

No.	Copper number, gCu <sub>2</sub> O/100g	Carboxyl groups, meq/100g	HexA groups, mmol/kg	OX, mgCl/kg	Glucans, %	Xylans, %	Extractives (DCM), %
1	0.04	6.2	6.2	103	83.4	15.7	0.08
2	0.27	5.9	1.8	87	83.3	16.0	0.10
3	0.11	6.2	4.1	74	84.6	14.7	0.10
4	0.37	10.4	25.8	80	83.6	15.8	0.10
5	0.19	11.1	29.9	103	83.2	16.4	0.10
6	0.23	6.2	10.7	28	83.2	16.0	0.11
7	0.06	10.4	47.7	7	81.8	15.5	0.06
8	0.38	5.4	2.1	171	72.7	24.7	0.10
9	0.05	9.2	37.1	6	74.5	23.2	0.08
10	0.40	2.3	1.2	119	83.8	13.7	0.10

The PCA showed that 99% of the information contained in Table 2 and 3 can be represented in two main components. In Fig. 1, PC1 scores explain 94% and PC2 explains 5% of the total variance. PC1 mainly represents the OX content, while the PC2 represents the HexA content (see the loadings in Fig. 1).

In Fig. 1, it can be noted that PC1 seems to separate the pulps according to the type of bleaching technology, in which those with TCF and ECF light technologies have

negative scores, and ECF has positive scores and scores close to zero. The distribution along PC1 is quite reasonable; the pulps with high OX content are positioned at more positive score values than the those with low OX content (Pulps 6, 7 e 9). On the other hand, PC2 is mainly dominated by the effects of HexA.

With respect to the loadings that define PC1 and PC2, it is interesting to note that the contributions of kappa number, xylan, glucan, extractives, copper number, and carboxyl groups are negligible.

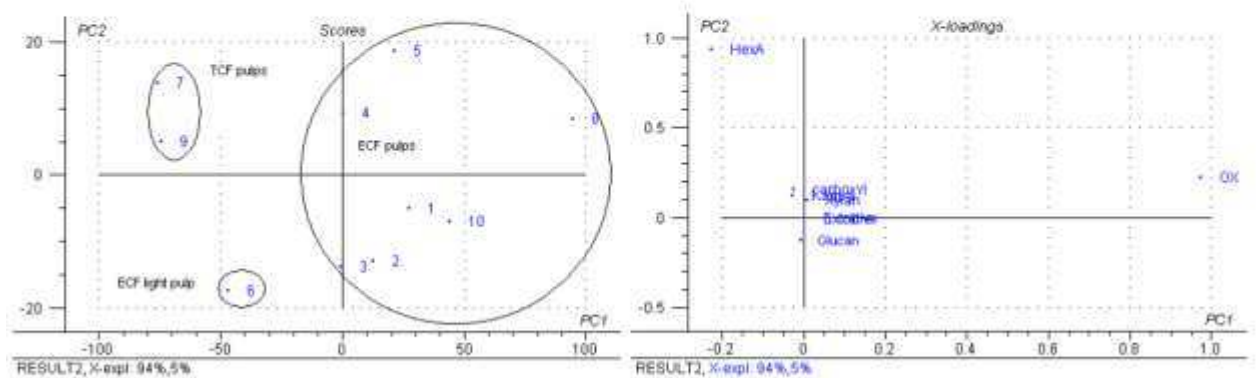


Fig. 1. PC1 against PC2 scores and loadings plots from Principal Component Analysis (PCA)

## Brightness Reversion

### *Accelerated aging according to Condition I*

Pulp handsheets of the various samples were prepared at two pulp slurry pH values: 4.5 and 8.0. The handsheets were then submitted to the accelerated dry brightness reversion test (Condition I). The properties of the industrial hardwood kraft pulps after aging were determined and are given in Table 4.

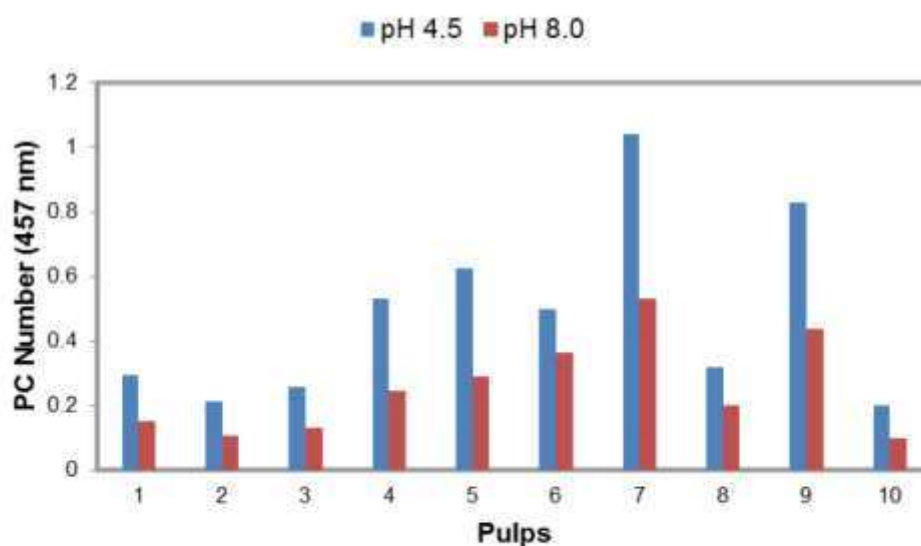
When aging under dry conditions, the moisture content decreased from 10% to 0% within 7 minutes and remained at that level for the whole aging period. To isolate the effect of moisture, pulp handsheets were prepared at a pH of 4.5 and 8.0, then dried in an acclimatizing room to 10% moisture and further dried to 0% moisture in desiccators under vacuum in the presence of phosphorous pentoxide ( $P_2O_5$ ) at room temperature. The treatment did not affect brightness reversion to any significant extent, indicating that the level of moisture present during aging according to Condition I was of minor importance. Figure 2 shows the brightness reversion for the different pulps, aged according to Condition I.

The results indicate that brightness reversion varies significantly (as anticipated) among the different pulp samples, which is explained by the type of pulp and bleaching technology used in the various cases. The TCF pulp samples (7 and 9) showed very high brightness reversion, as did the ECF light sample (6). Pulps 4 and 5 had similar post color number (PCN) to pulp 6, probably because of the high HexA content in these pulps. This may be due to the different bleaching sequences used. The ECF samples presented the lowest brightness reversion values.

**Table 4.** Properties of Industrial Hardwood Kraft Pulps after Aging According to Condition I

No.	Bleaching Sequence*	pH	Bright. loss, %ISO	Kappa No.	HexA Groups, mmol/kg	Reacted HexA, mmol/kg	Copper number, gCu <sub>2</sub> O/100g	Carboxyl Groups, meq/100g	OX, mgCl <sup>-</sup> /kg	Visc., dm <sup>3</sup> /kg
1	ECF <i>D</i>	4.5	2.4	0.5	4.8	1.4	0.05	7.0	102	809
		8.0	1.3	0.7	5.8	0.4	0.04	7.9	103	831
2	ECF <i>P</i>	4.5	2.1	0.1	1.6	0.2	0.40	6.1	86	813
		8.0	1.1	0.2	1.7	0.1	0.30	6.4	87	838
3	ECF <i>P</i>	4.5	1.9	0.2	3.1	1.0	0.31	7.1	73	820
		8.0	1.0	0.3	3.9	0.2	0.20	7.3	73	832
4	ECF <i>P</i>	4.5	3.9	2.6	24.1	1.7	0.42	10.5	79	602
		8.0	2.0	3.0	25.2	0.6	0.36	10.9	79	621
5	ECF <i>P</i>	4.5	4.1	2.5	22.5	7.4	0.40	12.1	101	697
		8.0	2.1	3.8	29.6	0.3	0.30	12.6	103	714
6	ECF <i>light P</i>	4.5	3.8	0.9	8.5	2.2	0.29	6.5	26	790
		8.0	2.9	1.5	10.0	0.7	0.24	7.3	27	824
7	TCF <i>P</i>	4.5	5.9	4.7	45.9	1.8	0.22	10.5	7.0	743
		8.0	3.4	5.3	47.2	0.5	0.15	11.3	7.0	757
8	ECF <i>D</i>	4.5	2.3	0.1	1.7	0.4	0.42	5.4	168	1001
		8.0	1.5	0.2	1.9	0.2	0.40	5.6	169	1066
9	TCF <i>P</i>	4.5	5.4	3.8	36.2	0.9	0.15	9.2	6.0	746
		8.0	3.2	4.2	36.9	0.2	0.08	10.0	6.0	778
10	ECF <i>D</i>	4.5	1.7	0.2	1.1	0.1	0.45	2.4	118	437
		8.0	0.9	0.4	1.2	0	0.42	2.5	118	463

\*1The final bleaching stage for the ECF pulps is given in italics.

**Fig. 2.** Post color number (457 nm) of Pulps 1-10 aged according to Condition I

The hypothesis that a final P-stage (Pulps 2-7, 9; Table 4) in the bleaching sequence of hardwood pulps is beneficial for brightness stability (Eiras and Colodette 2005) was not proven in this study. The correlation between post color number (PCN) and pulp HexA content is shown in Fig. 3. The original pulp HexA content correlated positively and significantly with brightness reversion for all pulps in this study. Also, kappa number had the same tendency as hexenuronic acid.

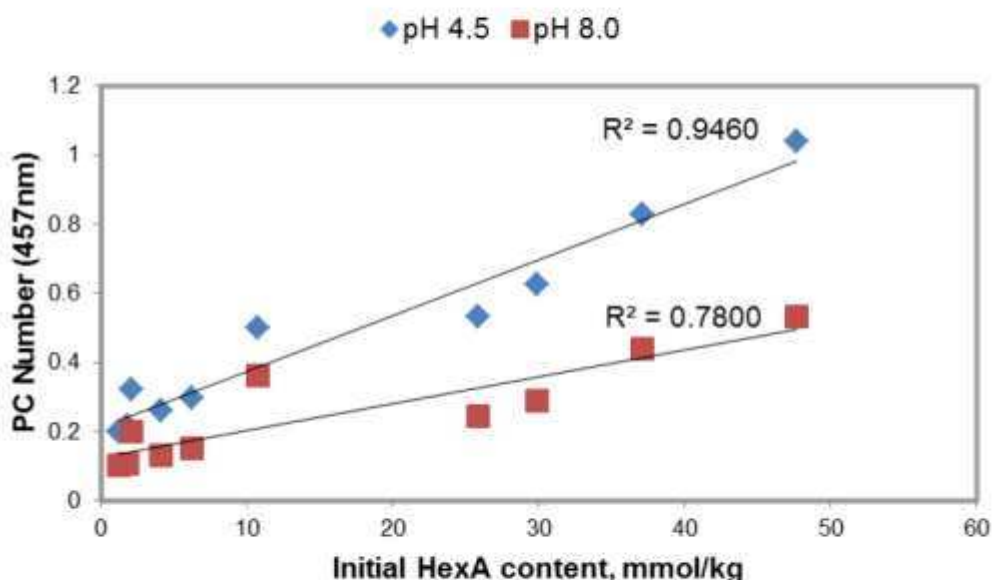


Fig. 3. Correlation between Post color number (457 nm) and hexenuronic acid (HexA) content for pulps aged according to Condition I

An increase in pulp slurry pH from 4.5 and 8.0 during sheet formation decreased the dry brightness reversion substantially for all pulp samples. This is in agreement with previously reported results (Frosström et al. 2007a, b).

The post color number was plotted versus the decrease in HexA content (Reacted HexA) in Fig. 4. The fact that degradation of hexenuronic acids was higher at pH 4.5 than pH 8.0 can be explained by the occurrence of an acid hydrolysis reaction of HexA.

Additional pulp chemical characteristics after accelerated dry aging are given in Table 4, and an increase in both copper number and carboxylic groups is observed as well as a decrease in viscosity. Zhou et al. (2011) studied the effect of carbonyl groups on brightness reversion and concluded that the carbonyl content correlated linearly with the PCN of pulp aging, but this is not proved in the present study. A good example is the fact that pulp 10 with higher copper number (0.40 gCu<sub>2</sub>O/100g in the initial pulp) had the lowest PC number 0.2 at pH 4.5 and 0.1 at pH 8.0.

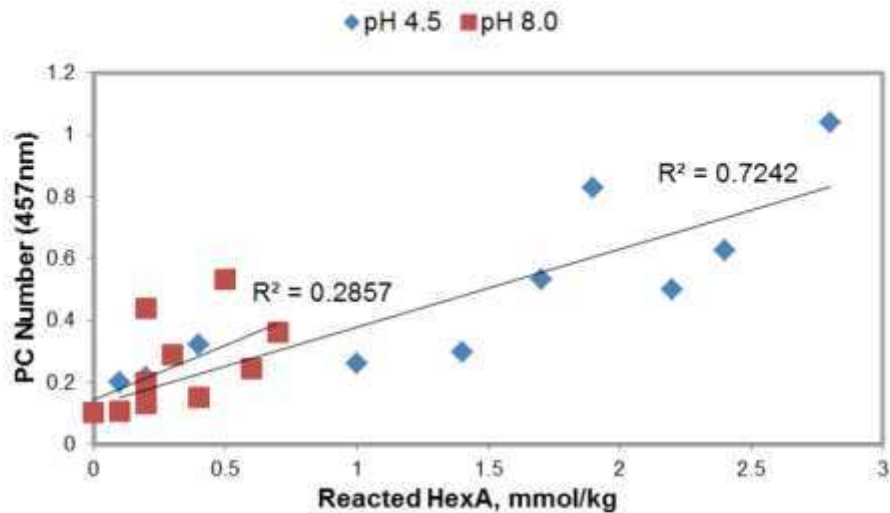


Fig. 4. Correlation between post color (PC) number (457 nm) and reacted hexenuronic acid (HexA) groups for pulps aged according to Condition I

*Accelerated aging according to Condition II*

Brightness reversion Condition II is significantly different from Condition I with respect to aging time, temperature, and moisture content. Based on earlier studies, the brightness reversion values were expected to be substantially higher in the humid condition (Björklund et al. 2005). The effect on brightness reversion of kappa number, HexA content, viscosity, copper number, OX, and carboxylic groups was evaluated. The results are shown in Table 5 and Figs. 5 to 7 below.

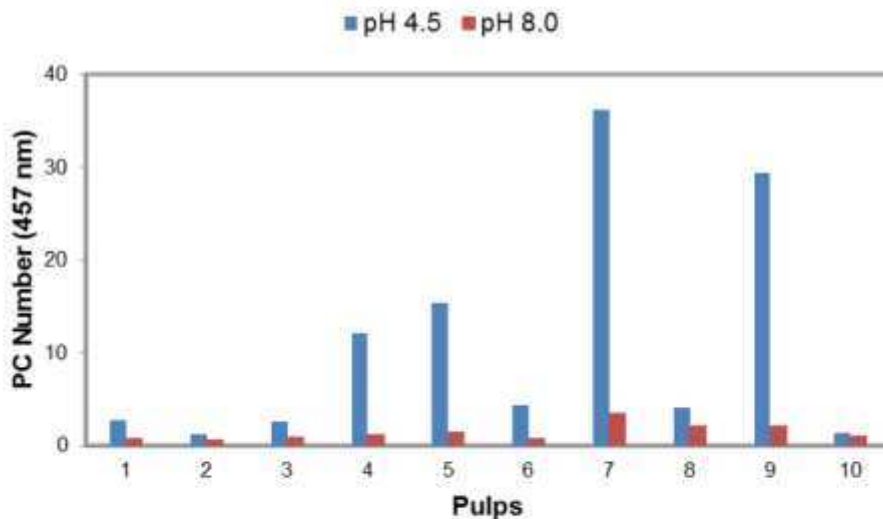
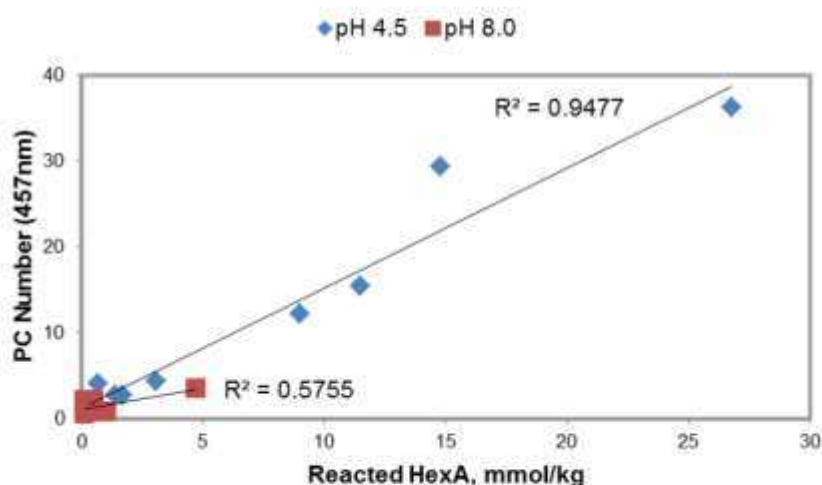


Fig. 5. Post color number (457 nm) of Pulps 1-10 aged according to Condition II

**Table 5.** Properties of the Industrial Hardwood Kraft Pulps after Aging According to Condition II

No.	Bleaching Sequence*	pH	Bright. loss, %ISO	Kappa No.	HexA Groups, mmol/kg	Reacted HexA, mmol/kg	Copper Number, gCu <sub>2</sub> O/100g	Carboxyl Groups, meq/100 g	OX, mgCl <sup>-</sup> /kg	Visc., dm <sup>3</sup> /kg
1	ECF <i>D</i>	4.5	13.2	0.4	4.5	1.7	0.06	7.2	100	732
		8.0	5.6	0.7	5.6	0.6	0.05	8.1	102	783
2	ECF <i>P</i>	4.5	8.7	0.1	1.4	0.4	0.50	6.3	86	720
		8.0	5	0.1	1.7	0.1	0.40	6.8	86	802
3	ECF <i>P</i>	4.5	12.1	0.2	2.7	1.4	0.40	7.4	71	702
		8.0	5.4	0.3	3.6	0.5	0.30	8.1	72	791
4	ECF <i>P</i>	4.5	29.8	2.1	16.8	9	0.54	8.1	78	528
		8.0	7.1	2.9	25.3	0.5	0.39	10.5	78	580
5	ECF <i>P</i>	4.5	32.4	2.3	18.4	11.5	0.56	10.4	101	587
		8.0	7.9	3.5	29.4	0.5	0.40	11.4	101	659
6	ECF light <i>P</i>	4.5	17.5	0.9	7.6	3.1	0.05	6.9	23	707
		8.0	5.6	1.6	9.7	1	0.04	7.8	25	743
7	TCF <i>P</i>	4.5	45.6	4.1	20.9	26.8	0.29	5.7	7.1	462
		8.0	23.5	4.9	43	4.7	0.20	9.4	7.2	624
8	ECF <i>D</i>	4.5	15.8	0.1	1.4	0.7	0.58	5.4	165	829
		8.0	10.4	0.2	2	0.1	0.47	5.6	167	941
9	TCF <i>P</i>	4.5	43.2	3.4	22.3	14.8	0.25	5.1	6.8	525
		8.0	10.8	4.3	36.6	0.5	0.15	9.3	5.9	711
10	ECF <i>D</i>	4.5	8.2	0.2	0.9	0.3	0.6	2.2	110	381
		8.0	7	0.3	1.1	0.1	0.52	2.6	111	415

\*The final bleaching stage for the ECF pulps is given in italics.

**Fig. 6.** Correlation between post color (PC) number (457 nm) and reacted hexenuronic acid (HexA) groups for pulps aged according to Condition II

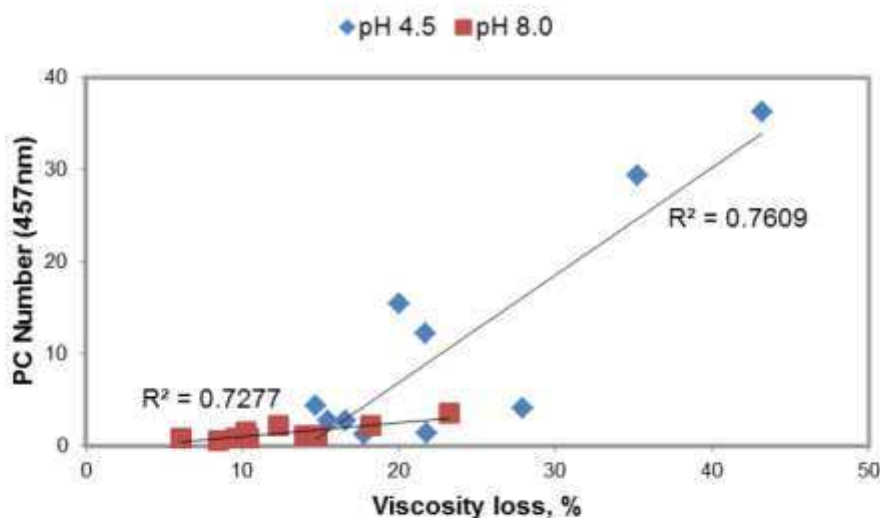


Fig. 7. Correlation between post color (PC) number (457 nm) and viscosity loss for pulps aged according to Condition II

The correlation between the PC number and the amount of reacted HexA groups was very high for aging Condition II. The degradation of pulp HexA was very significant for pulps prepared at a pH of 4.5, e.g. more than half of the HexA content was degraded during aging of the ECF Pulp 5 (Table 5). At pH 8.0, the degradation was much lower, which can be explained by a lower degree of hydrolysis of HexA (Vuorinen et al. 1999).

A significant reduction in pulp viscosity was also observed during aging of all pulp samples. As anticipated, viscosity loss was much more significant for reversion Condition II compared to Condition I, and the effect was more pronounced for most pulps at pH 4.5 than at pH 8.0 (Tables 4 to 5). The TCF pulps (no. 7 and 9) showed high viscosity losses, as did the birch ECF pulp (no. 8). The kappa number tended to decrease during aging, mainly at pH 4.5. This result was anticipated, since the major hardwood kappa number components, e.g. lignin and HexA, are known to cause reversion. Jääskeläinen et al. (2009) studied the reactions of aromatic structures in brightness reversion of bleached kraft pulps and concluded that lignin participates in brightness reversion of chemical pulps; however, it is evident that when pulp contains hexenuronic acid groups, they also have great participation in chromophore formation.

The pulp carboxylic acid content tended to increase during aging for the majority of the pulp samples at pH 8.0. At pH 4.5, where the degradation of HexA is at the highest, the pulp samples 4, 5, 7, and 9 showed a decrease in carboxylic acid groups. This result may be explained by the rather sharp decrease in HexA content of these pulps during aging at Condition II. In other words, the creation of carboxylic acid groups that occurred during aging was more than counter-balanced by the loss of HexA groups. It is worth noting that more carboxylic acids were formed at pH 8.0 than at pH 4.5. It is also true that less HexA was destroyed during aging at pH 8.0 than at 4.5.

Organically-bound chlorine (OX) content showed no significant correlation with brightness reversion. As demonstrated under Condition I, no significant changes in pulp

OX content occurred during pulp aging, even in the more humid environment of Condition II.

#### Natural aging testing according to Conditions III-VI

Bleached pulp baling is usually done at temperatures in the range of 30 to 45°C. Average relative humidity around the globe tends to be in the range of 50 to 90%. Thus, an attempt was made to simulate brightness reversion under these conditions, which would be more likely to occur in a real-life situation. The preliminary results indicated very long necessary aging times in order to obtain meaningful reversion results. Aging times of 720 to 1440 hours (30 to 60 days) were therefore investigated.

In order to better visualize the effect of temperature and relative humidity on the reversion rate, the results of aging under Conditions III through VI are shown only for pulp number 4 (ECF, eucalyptus). The PC number versus aging time is presented in Fig. 8. It is evident that reversion is much more severe at 90% RH than at 50% RH at pH 4.5. The impact of moisture is drastically enhanced at pH 4.5, compared to pH 8.0 (Fig. 8).

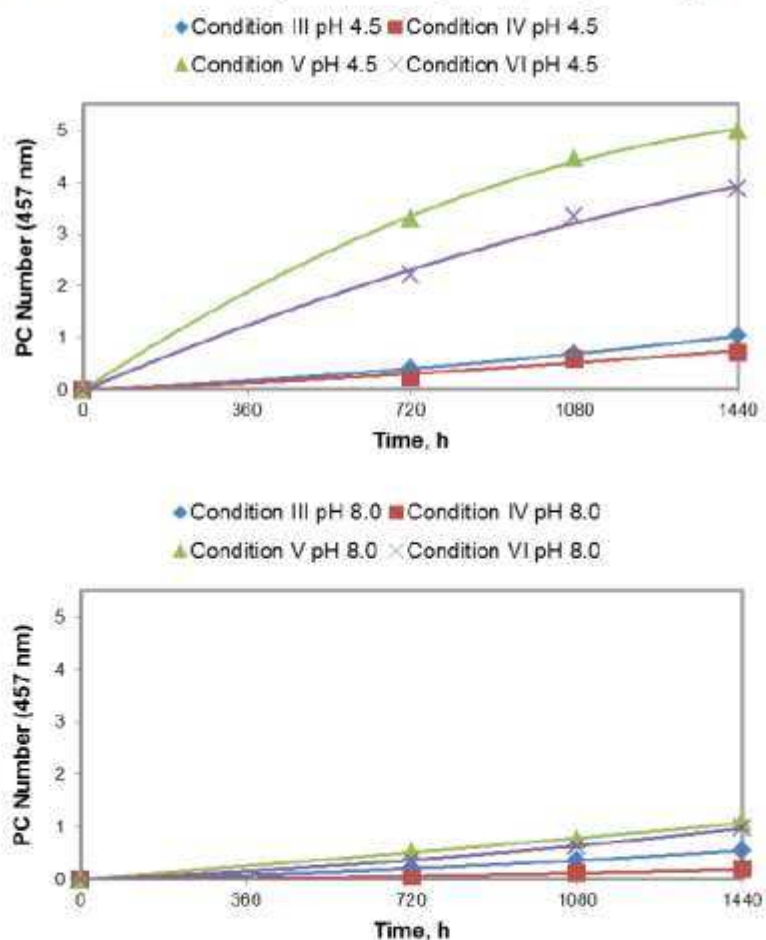
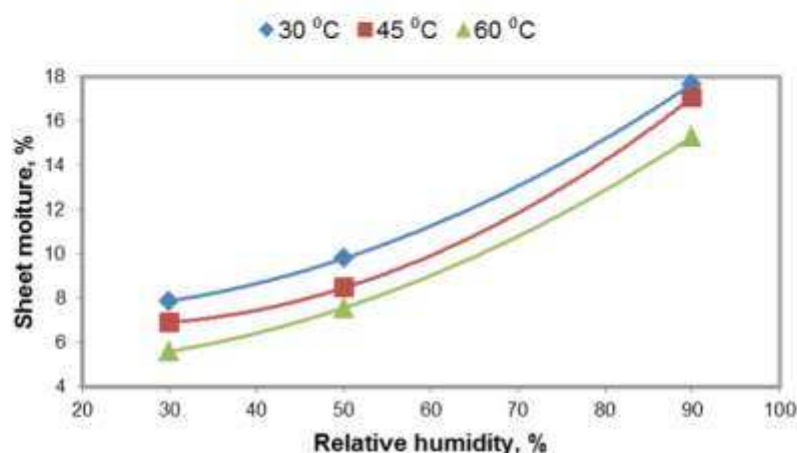


Fig. 8. Post color (PC) number (457 nm) as a function of aging time for Pulp no. 4, aged according to Conditions III-VI at pH 4.5 and 8.0

For all aging conditions, it is apparent that low reversion can be achieved by increasing the pH of the pulp slurry prior to baling and keeping the pulp at the lowest temperature and relative humidity possible. A pulp slurry pH of 8.0 may be too high for practical applications, and further studies are therefore needed to find the best compromise between brightness stability and drainability on the drying machine. The introduction of retention aids can improve the drainability in the pulp drying process, if negatively affected by the higher pH of the pulp suspension.

#### *Relative humidity versus handsheet moisture content*

Considering that various temperatures and relative humidity were evaluated in this investigation, it was deemed useful to determine the handsheets equilibrium moisture content at such conditions. The plot shown in Fig. 9 indicates that pulp moisture increases with increasing relative humidity and decreases with increasing temperature, as expected. The effect of relative humidity was much more significant than that of temperature, in the ranges studied. Therefore, for the aging conditions evaluated in this study, the following were the moisture contents of the handsheets: Condition III (45°C, 50% RH) = 8.5%; Condition IV (30°C, 50% RH) = 9.9%; Condition V (45°C, 90% RH) = 17%; and Condition VI (30°C, 90% RH) = 17.8%. One significant consequence of the quantity of water held by the pulp handsheet is that the presence of water accelerated hydrolytic degradation in the pulp.



**Fig. 9.** Sheet moisture content as a function of surrounding conditions (temperature, relative humidity)

## CONCLUSIONS

1. The method of aging (dry, wet, high/low RH, high/low temperature, short/long time) has, in most cases, no effect on overall brightness reversion trends, but significantly influences the absolute reversion values.

2. Dry and wet heat-induced brightness reversion correlates positively and significantly with pulp hexenuronic acid content.
3. Pulps produced by TCF bleaching sequences are more prone to reversion than regular ECF pulps
4. Brightness reversion correlates with a significant decrease in pulp viscosity values, and HexA thus coinciding with a decrease of kappa number, especially for aging at pH 4.5.
5. In general, pulp reducing groups (copper number) increase during aging.
6. Pulp carboxyl group content increases during aging, but this tendency is not as clear when the pulps had high carboxylic acid groups during wet aging. This may be explained by the rather sharp decrease in HexA content of these pulps during wet aging.
7. Pulp brightness stability is substantially improved by raising pulp slurry pH from 4.5 to 8.0.
8. Pulp organically-bound chlorine content has no significant effect on the extent of brightness reversion and shows little variation in the course of aging.
9. Relative humidity in the range of 50 to 90% influences reversion much more strongly than temperature in the interval 30 to 45°C.
10. Handsheet moisture content decreases from 9.9% to 8.5% by raising surrounding temperature from 30°C to 45°C at 50% RH, and increases from 9.9% to 17.8% by increasing RH from 50% to 90% at 30°C.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Eka Chemical for the professional technical assistance and support, and Professor Magnus Paulsson for valuable technical discussions, and also the authors are grateful to Brazilian foundations, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) for their financial support.

## REFERENCES CITED

- Björklund, M., Germgard, U., and Basta, J. (2005). "Effect of cooking conditions on ECF bleaching and brightness reversion of birch kraft pulps," *Tappi Journal* 4, 16-22.
- Colodette, J. L., Eiras, K. M. M., Oliveira, R., and Vantorim, G. (2003). "The effect of wood supply and bleaching process on pulp brightness stability," 28th EUCEPA Conference, Lisbon. Proceedings, 65-73.
- Eiras, K. M. M., and Colodette, J. L. (2005). "Investigation of hardwood kraft pulp brightness stability," *J. Pulp Pap. Sci.* 31(1), 13-18.
- Eiras, K. M. M., Colodette, J. L., Silva, V. L., and Barbosa, L.C.A. (2008). "New insights on brightness stability of eucalyptus kraft pulp," *Nordic Pulp Pap. Res. J.* 33(1), 102-107.

- Eiras, K. M. M., Colodette, J. L., and Silva, V. L. (2009). "The role of bound chlorine in the brightness reversion of bleached hardwood kraft pulp," *Quim. Nova* 32(1), 51-55.
- Forsskåhl, I. (2000). "Brightness reversion." In: *Forest Products Chemistry*, Papermaking Science and Technology Series, Vol. 3, P. Stenius (ed.), Fapet Oy, Helsinki, 279-323.
- Forsström, A., Hellström, P., and Greschik, T. (2007). "Ageing of hardwood pulps: Effects on brightness and viscosity," 3th International Colloquium on Hardwood Pulp, Belo Horizonte, Brazil.
- Forsström, A., Wackerberg, E., Greschik, T., Jour, P., and Holtinger, L. (2007). "High brightness stability in standard ECF sequences," *O Papel* 10, 101-112.
- Gellerstedt, G., Li, J., and Sevastyanova, O. (2003). "The distribution of oxidizable structures in unbleached and bleached Kraft pulps," In: EUCEPA Conference. Sustainable Development for the Pulp and Paper Industry, Lisboa, Proceedings... Tomar: Tecnicalpa, 58-64.
- Giertz, H. W. (1945). "Om massans eftergulning," *Svensk Papperstidn.* 48(13), 317-323.
- Granström, A., Eriksson, T., Gellerstedt, G., Rööst, C., and Larsson, P. (2001). "Variables affecting the thermal yellowing of TCF-bleached birch kraft pulps," *Nordic Pulp Pap. Res. J.* 16(1), 18-23.
- Granström, A., Gellerstedt, G., and Eriksson, T. (2002). "On the chemical processes occurring during thermal yellowing of TCF-bleached birch kraft pulp," *Nordic Pulp Pap. Res. J.* 17(4), 427-433.
- Sevastyanova, O. (2005). "On the importance of oxidizable structures in bleached kraft pulps," Doctoral Thesis, KTH Stockholm, Sweden.
- Sjöström, E. (1981). *Wood Chemistry, Fundamentals and Applications*, Academic Press, Inc., San Diego, CA, USA.
- Vuorinen, T., Fagerström, P., Buchert, J., Tenkanen, M., and Teleman, A. (1999). "Selective hydrolysis of hexenuronic acid groups and its application in ECF and TCF bleaching of kraft pulps," *J. Pulp Pap. Sci.* 25(5), 155-162.
- Zhou, Z., Jääskeläinen, A.-S., Adorjan, I., Potthast, A., Kosma, P., and Vuorinen, T. (2011). "Brightness reversion of eucalyptus kraft pulp: Effect of carbonyl groups generated by hypochlorous acid oxidation," *Holzforschung* 65(3), 289-294.

Article submitted: August 25, 2011; Peer review completed: September 24, 2011;  
Revised version received and accepted: October 3, 2011; Published: October 5, 2011.

## ARTIGO II

### INFLUENCE OF HEXENURONIC ACID CONTENT AND pH ON REFINING AND PHYSICAL-MECHANICAL PROPERTIES OF PULPS PRODUCED BY ECF AND TCF PROCESSES

Vanessa Lopes. Silva<sup>a\*</sup>; Jorge Luiz Colodette<sup>a</sup>; Thalita Mendonça de Resende<sup>b</sup>;  
Bianca Moreira Barbosa<sup>a</sup>, Rubens Chaves de Oliveira<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Cellulose and Paper Laboratory, Federal University of Viçosa, 36570-000, Viçosa, Brazil

<sup>b</sup>Kemira Chemicals do Brasil. Alameda Araguaia, Alphaville Industrial, 06455-000, Barueri, Brazil

\*Corresponding author: Tel: +55 3138992717, fax: +55 3138992490. E-mail address:  
[vanessaufv@yahoo.com.br](mailto:vanessaufv@yahoo.com.br)

#### ABSTRACT

Recent works have demonstrated that high hexenuronic acids (HexA) content represent a significant factor of brightness reversion in a pulp. On the other hand, the carboxyl groups contained in HexA play an important role in wood fiber modifications for processing high-quality products. Therefore, an industrial pulp delignified with oxygen was bleached using ECF and TCF technologies. The bleaching aimed to produce pulps with different amounts of hexenuronic acid that were given using chemicals dosages and different temperatures. The bleached pulps had hexenuronic acid content varying between 2.3 to 41.0 mmol/kg. These bleached pulps were then submitted to a refining process at pH 4.5 and 8.0 and their physical-mechanical properties revealed that HexA introduce hydrophilicity in the pulp. Regarding the refinability and the physical-mechanical properties of bleached pulps, the pH 8.0 was more favorable than pH 4.5. Pulps with high hexenuronic acid content alter the refinability of the pulps, especially in relation to the tear index, MOE, TEA, specific volume, and energy consumption.

**Keywords:** hexenuronic acid, pH, bleaching, refining, eucalyptus

#### 1. INTRODUCTION

During kraft cooking occur degradation reactions that decrease the molecular weight of all polysaccharides to different extents. In the early 1960s, methanol was

detected as a degradation product of MeGlcA, and a reaction mechanism for the formation of hexenuronic acid (HexA) was suggested (Clayton, 1963). The existence of this mechanism was later supported by experimental reactions with model compounds (Johansson and Samuelson, 1977; Maréchal, 1993; Teleman et al., 1995).

The finding of HexA stimulated great interest in pulping research, because its similarities to lignin lie in its effect on pulp properties, such as its contribution to the kappa number (Li and Gellerstedt, 1997), its consumption of bleaching chemicals (Maréchal, 1993, Buchert et al., 1995), and its involvement in the brightness reversion (Loureiro et al., 2012, 2013; Silva et al., 2011; Ventrone et al., 2009; Sevastyanova and Gellerstedt, 2006; Vuorinen et al., 1996).

However, the conditions for minimizing the amount of HexA in an unbleached pulp often involve high temperature and high alkali levels during kraft pulping (Ek et al., 2001, Shatalov and Pereira, 2004, Simao et al., 2005) or involve inserting of some stages in the bleaching sequence; as acid (Colodette, 2012), ozone (Ventrone et al., 2008; Eiras et al., 2008); chlorine dioxide (Eiras et al., 2005 and 2009; Sevastyanova et al., 2011), and peracetic acid stages (Barros et al., 2010). However, also minimize the xylan content of the produced pulp. High xylan content is important, in terms of both its contribution to pulp yield (Dillen and Noreus, 1968, Sjöblom, 1988) and its ability to improve pulp strength (Leopold and McIntosh, 1961, Pettersson and Rydholm, 1961, Schönberg et al., 2001, Molin and Teder, 2002). On the other hand, the protection of hexenuronic acid can keep the pulps with higher hemicellulose content, which leads to less energy requirement during refining (Muguet et al., 2011; Hanna et al., 1998). The carboxyl groups contained in HexA play an important role in wood fiber modifications for processing high-quality products. Isogai et al.(1997) reported that carboxyl groups are responsible for the retention of various wet-end additives in fiber suspension. They also improved interfiber bonding during pressing and drying and consequently the mechanical properties of dried paper sheets (Barzyk et al., 1997). Eriksson and Sjöström (1968) observed that fibers with higher acid group content swell more, exposing larger surface areas with more potentially reactive sites available for interaction. The increased flexibility and conformability increases fiber bonding.

Therefore, this work aimed to produce different pulps with a variable content of hexenuronic acid, and investigate the role of hexenuronic acid and pH on the physical properties of bleached kraft pulp fibers.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1.Pulp bleaching

Industrial delignified eucalyptus pulp was used to produce pulps with varied hexenuronic acid content. For this, the pulp was bleached using ECF technology with the ECF sequences D(EP)DP and TCF technology with the sequence Q(EP)QP. The general bleaching conditions are shown in Table 1. Reversion results were expressed as post color number (PCN) in conformity with TAPPI standard TIS 017-10.

Table 1. Bleaching conditions

Bleaching conditions	First stage			Second stage	Third stage		Fourth stage
	D	D <sub>HT</sub>	Q	(EP)	D	Q	P
Consistency, %	10.5	10.5	11	11.5	11	11	10
Time, min	120	120	60	60/240	125	60	120
Temperature, °C	60/70	95	70	80/95	80/95	70	80/95
Kappa Fator	0.05/0.12/0.1	0.24	-	-	-	-	-
	8						
Final pH	3/4	3	6	11	5.5	6	10
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , kg/tod	-	-	-	1-25	-	-	0.5-25
ClO <sub>2</sub> , kg/tod	2-7	9.4	-	-	0.5-4	-	-
EDTA, kg/tod	-	-	2	-	-	2	-
MgSO <sub>4</sub> , kg/tod	-	-	-	1	-	-	1
NaOH, kg/tod	0-1	2.5	-	4-16	0-0.6	-	1.8-11
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , kg/tod	0-1.5	0	0.5	-	0-2.2	2.1	-

### 2.2.Physical-mechanical properties

The bleached pulps were refined in a PFI mill laboratory, according to TAPPI standard 248 wd-97, at varying speeds: 0, 1000, 1500, 2000, and 3000 rpm for the pulps refined at pH 4.5 and 0, 1000, 2000, 3000, and 4000 rpm for the pulps refined at pH 8.0. These samples formed handsheets with a weight of about 60 g/m<sup>2</sup>. The procedures used to evaluate physical and mechanical properties are described in Table 2.

Table 2. TAPPI methods used to evaluate physical and mechanical properties

Parameters	TAPPI Standard Methods
Grammage	TAPPI T410 om-08
Tensile energy absorption - TEA	TAPPI T494 om-96
Thickness	TAPPI T551 om-06
Tear index	TAPPI T414 om-04
Tensile index	TAPPI T494 om-06
Modulus of elasticity - MOE	TAPPI T494 om-96
Forming handsheets for physical tests	TAPPI T205 sp-95
Apparent density	TAPPI T220 sp-96
Specific volume	TAPPI T220 sp-96
Drainage resistance – Schopper Riegler, °SR	TAPPI T423 cm-07
Opacity of paper	TAPPI T425 cm-91
Light scattering coefficient	TAPPI T220 om-88

### 2.3. Statistical analysis

For analysis of the mechanical-physical properties of pulp treated with different bleaching conditions at different levels of refinement, the software Curve Expert 1.4 was used to obtain the specimens. The adjusted equations were compared by an F test, using the identity test models and adopting a significance level of up to 5% probability, according to the methodology presented by Regazzi (1993) for linear models and Regazzi and Silva (2004) for nonlinear models.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. ECF and TCF bleaching

An industrial pulp delignified with oxygen was bleached using ECF and TCF technologies, as shown in Table 3. The bleaching aimed to produce pulps with different amounts of hexenuronic acid that were given using chemicals dosages and different temperatures.

Pulp 1 bleached by the TCF sequence demonstrated the highest HexA content and also required a high dosage of hydrogen peroxide on (EP) (25 kg/tas) and P (25 kg/tas) stages to achieve brightness above 90 % ISO. However, the high dosage of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> used in these stages resulted in a high viscosity loss of Pulp 1. In other hand, the Pulp 6 had the lower HexA content (2.3 mmol/kg), but to achieve a brightness above 90% ISO this sequence required a highest dosage of chlorine dioxide on D stages (13.4 kg/tas).

Carboxyl content correlated very well with hexenuronic acid content. However, the carbonyl content was more influenced by high chlorine dioxide dosage, this reagent can react with lignin forming quinones (Sixta et al., 2006; Brage et al., 1991), butenolide (Brage et al., 1991) and also ClO<sub>2</sub> can oxidases alcohols forming cetones and aldehydes from carbohydrates (Singh, 1979). It is known that the stoichiometric relationship is not exact between copper number and carbonyl groups content, depending on the position of the ketonic carbonyl group in the cellulose chain, the reduction of copper cannot occur and so the result does not reflect the true carbonyl groups content. On the other hand, an increase in the content of carbonyl groups means increasing the number of copper (HAKIM and Rapson et al. 1957).

Pulps 1 and 2 had the lowest xylan content in the pulp, probably by use of high dosage of hydrogen peroxide with high temperatures (95°C) and prolonged reaction time (240 min) causing terminal depolymerization reactions.

Table 3. Chemical characteristics and brightness reversion values of bleaching of oxygen-delignified kraft pulp\* by ECF and TCF technologies

Characteristic of bleached pulps and their sequences	1	2	3	4	5	6
	Q(EP)QP TCF	D(EP)DP ECF	D(EP)DP ECF	D(EP)DP ECF	D(EP)DP ECF	D <sub>HT</sub> (EP)DP ECF
Kappa Factor (FK)	-	0.05	0.12	0.12	0.18	0.24
ClO <sub>2</sub> Total, kg/odt	-	3	5.7	8.7	9	13.4
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Total, kg/odt	50	13	9	5	6	1.5
Viscosity, dm <sup>3</sup> /kg	659	856	867	876	900	905
Brightness, % ISO	90.4	89.6	90.4	90.0	90.9	90.6
Post Color Number (PCN)	0.28	0.23	0.17	0.12	0.08	0.06
Kappa Number	4.8	3.9	3.1	1.9	1.4	0.4
<b>HexA, mmol/kg</b>	<b>41.0</b>	<b>36.1</b>	<b>29.3</b>	<b>16.9</b>	<b>11.9</b>	<b>2.3</b>
Copper Number, g Cu <sub>2</sub> O/100g	0.11	0.06	0.03	0.09	0.20	0.20
Carboxyl groups, meq/100g	10.50	9.63	8.80	7.54	7.13	5.13
OX, mg Cl <sup>-</sup> /kg	0.6	43	81	125	130	165
Glucan, % on pulp	83.2	82.5	81.3	81.4	82.2	82.7
Xylan, % on pulp	15.7	15.9	17.0	17.1	16.7	16.5

\* Kraft-O<sub>2</sub> original pulp: Kappa number = 10.3; Viscosity = 999 dm<sup>3</sup>/kg; HexA =51.6 mmol/kg

TCF and ECF pulp differ mainly in kappa number, carboxyl content, post color number and hexenuronic acids (Table 3).

### **3.2. Influence of hexenuronic acids and pH on pulp refining**

High quality printing and writing paper grades require pulps of high tensile strength to withstand the forces the paper undergoes during manufacturing in high speed machines and their use. The role of xylan during beating and for paper properties has been widely studied and their importance is confirmed for P&W paper grades (Bhaduri et al. 1995; Anjos et al. 2005; Molina et al. 2008), but has not been studied the effect of pH and hexenuronic acid during refining.

In all these experiments, the pH affected the refinability and the pulp quality and the value of alkaline pH was more favorable than the acid, especially regarding refinability. This explains why some Eucalyptus pulp mills are converting their sequence type from D(EP)DD to D(EP)DP, which means they are changing the last bleaching stage to an alkaline stage. Also, the presence of hexenuronic acids during refining increase the hydrophilicity and/or water retention between the fibres (Cadena et al., 2010), which is an important characteristic of pulp for the refining process.

Figure 2 shows that pulps with higher HexA need much less energy to reach the same tensile index ( $60 \text{ N m g}^{-1}$ ). Because of the increase of pH from 4.5 to 8.0, higher values of tensile index were noted for the same power consumption. This can be explained by the fact that at alkaline, pH facilitates the separation of the fibers, thus promoting greater hydration and improving refining.

For the F test, the hypothesis of equality between equations relating at Pulps 2-4 at pH4.5, and Pulps 1-3 and 4-5 at pH 8.0 in function of energy consumption was accepted ( $P < 0.05$ ), in the others words, they were statistically equal, so these can be represented by the common model estimated, represented in Figure 2.

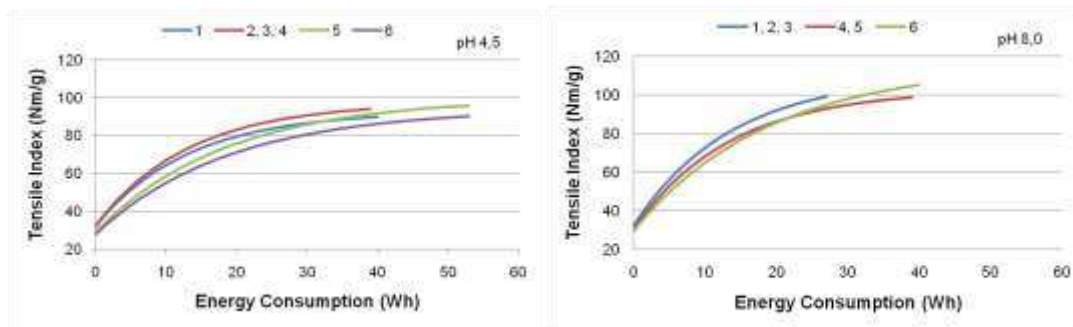


Figure 2. Tensile index as a function of energy consumption for refined, bleached pulps at pH 4.5 and 8.0.

Another property that shows important role for printing and writing paper grades is tear index. Tear index is closely related to the integrity of the fiber wall, number of fibers, internal fiber bonds (Castanho and Oliveira, 2000). Figure 3 shows that high HexA content pulps had, in general, the lowest values of tear index. This can be partly related to the lower viscosity of these pulps in relation to the others. At low energy consumption, tear index of high HexA pulps were higher than the others. At more drastic refining operations, the integrity of the fiber starts to be lost, thus low values are encountered. The maximum tear indexes were 23 Wh for Pulps 1-4 and 35Wh for Pulps 5-6 at pH 4.5; and 16Wh for Pulps 1-4 and 25 Wh for Pulps 5-6 at pH 8.0.

Pulps 1-4 and 5-6 at pH 4.5, and Pulps 1-3 and 4-5 at pH 8.0 were statistically equal, and these can be represented by the common model estimated.

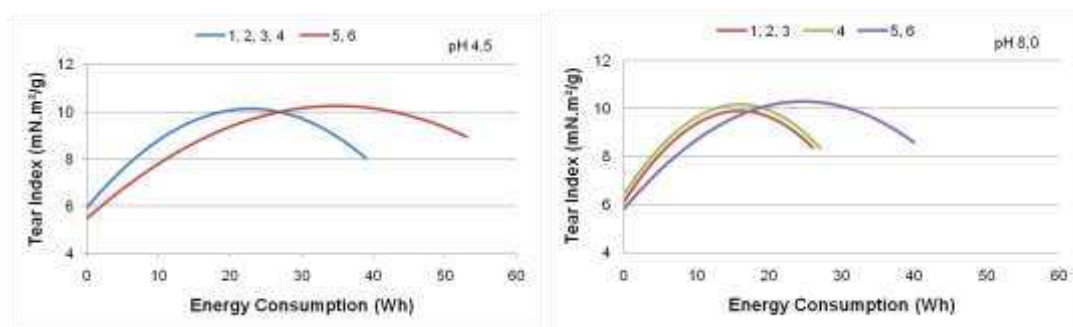


Figure 3. Tear index as a function of energy consumption for pulp refined at pH 4.5 and 8.0.

Based on the F test, the tear index for Pulps 1, 2, 3, and 4 and for Pulps 5 and 6 at pH 4.5 shows no significant difference ( $P > 0.05$ ), which may be represented by two common curves. At pH 8.0, two common curves can be seeing for Pulps 1, 2,

and 3, and for the Pulps 5 and 6. When comparing the curves, note that pulps with higher concentrations of hexenuronic acid (Pulps 1-4) had a maximum tear index with lower energy consumption, and the energy consumption at pH 8.0 was lower than at pH 4.5. However, for Pulps 1-3 at pH 8.0, low power consumption was not enough to obtain a good tear index value. This can be explained by the drastic conditions used for bleaching to brightness values close to 90% ISO, causing a decrease in pulp viscosity.

Figure 4 shows the behavior of the modulus of elasticity (MOE) as a function of energy consumption at pH 4.5 and 8.0. Higher values of modulus of elasticity were obtained from the pulps with high hexenuronic acid content. Moreover, the high content of carboxylic acids also affected the refinability of the pulp. Page and Seth (1988) reported that the main factor that influences the elastic modulus of paper, in addition to the number of interfiber bonds, is the rigidity of the fibers, which on the formed paper increases the modulus of elasticity. More rigid fibers do not elongate as much and are therefore more resistant to deformation when force is applied.

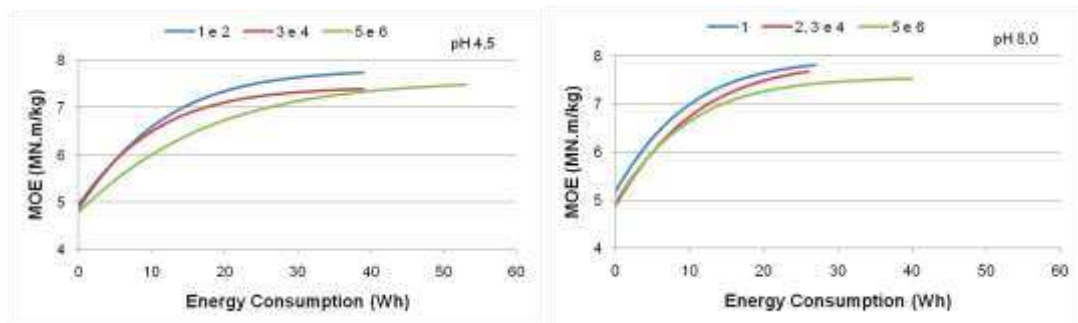


Figure 4. Modulus of elasticity (MOE) as a function of energy consumption for pulp refined at pH 4.5 and 8.0.

TEA shows the work done when a paper specimen is stressed to rupture in tension under prescribed conditions. Tensile energy absorption (TEA) is shown in Figure 5. It can be seen that for papers with high HexA content, more tension is needed to rupture them. At the beginning of refining, the pulps with higher levels of HexA had higher energy of for deformation, however, as refining continued, these pulps tended to stabilize. At pH 8.0, Pulp 3, despite having a high content of HexA (29.3 mmol/kg), showed the same trend of as the pulp with low acid. This property is

very dependent on the characteristics of formation and potential for conformity of the fibers in paper, which indicates that the morphological characteristics of the fibers are very important, especially the fiber length, the cell wall thickness, and lumen diameter (Silva and Oliveira, 2000).

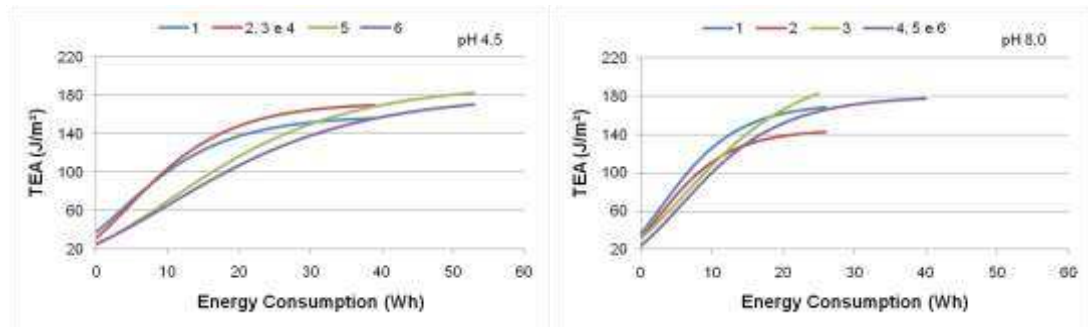


Figure 5. Tensile energy absorption (TEA) as a function of energy consumption for pulp refined at pH 4.5 and 8.0.

Specific volume or bulk is a very important property when considering printing papers, since it is closely related to the opacity of the paper. Figure 6 shows the behavior of the specific volume as a function of energy consumption, at pH 4.5 and 8.0. The pulps with lower levels of hexenuronic acid obtained higher values of bulk during the process of refining the pulp.

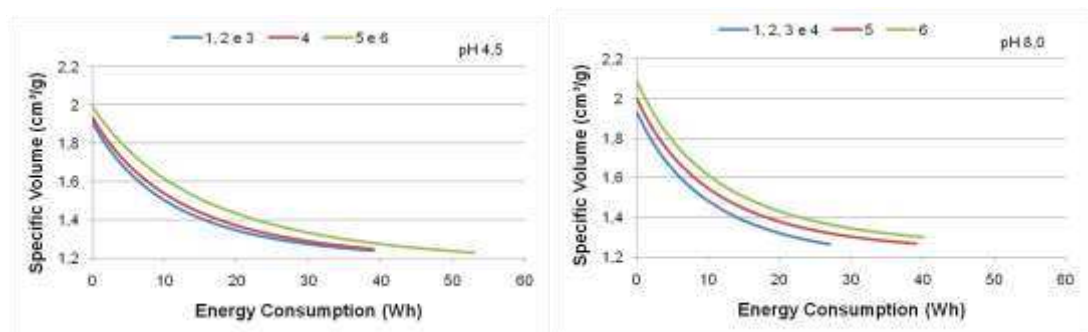


Figure 6. Apparent specific volume as a function of energy consumption for refined pulp at pH 4.5 and 8.0.

It is known that acid groups interfere in hydrophilic properties as such as increase surface tension, thereby facilitating water penetration into fibres and their swelling, and causing an increase of plasticity, flexibility and fibre bonding ability that can interfere with refining properties.

The effect of HexA in pulp could be industrially exploited with a view to increasing productivity via improved pulp yield and decrease of energy consumption on refining.

#### **4. CONCLUSIONS**

- The presence of hexenuronic acid at a concentration of 41 mmol/kg in TCF pulp produced by sequence Q(EP)QP obtained worse stability (PCN = 0.28) during accelerated ageing at 105 °C for 4h and 0% RH.
- Bleaching carried out with high dosage of hydrogen peroxide caused an increase carboxyl groups in pulp, and with high dosage of chlorine dioxide produced an increase in cooper number.
- Regarding the refinability and the physical-mechanical properties of bleached pulps, the pH value of 8.0 was more favorable than pH 4.5, because of low energy consumption.
- Lower energy consumption was required from the pulps with high hexenuronic acid content.
- Pulps with high hexenuronic acid content alter the refinability of the pulps, especially in relation to the tear index, MOE, TEA, and specific volume, and this suggest that HexA influence fibre-fibre bonding.

#### **5. ACKNOWLEDGMENTS**

The authors are grateful to Brazilian foundations, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) for their financial support.

#### **6. REFERENCES**

- Anjos, O., Santos, A., Simões, R. 2000. Efeito do teor de hemiceluloses na qualidade do papel produzido com fibra de Eucalipto. In: 5th Congresso Florestal Nacional.
- Barros, D.P., Silva, V. L., Hämäläinen, H., Colodette, J. L., 2010. Peracetic acid for pulp bleaching. *BioResources*, 5, 881-898.

- Barzyk, D., Page, D. H., Ragauskas, A., 1997. Acidic Group Topchemistry and Fiber-to-Fiber Specific Bond Strength. *J. Pulp Pap. Sci.* 23, J59-J61.
- Bhaduri, S.K., Ghosh, I.N., Deb Sarkar, N.L. (1995) Ramie hemicelulose as beater additive in paper making from jute-stick kraft pulp. *Ind. Crop. Prod.* 4:79–84.
- Cadena, E.M., Vidal, T., Torres, A.L.. Influence of the hexenuronic acid content on refining and ageing in eucalyptus TCF pulp *Bioresour. Technol.*, 101 (2010), pp. 3554–3560.
- Castanho, C.G.; Oliveira, R.C. Estudos de aproveitamento de rejeito fibroso industrial da polpação kraft de eucalipto na produção de papeis reciclados. In: Congresso Anual de Celulose e Papel da ABTCP, 33., 2000, São Paulo. Proceedings...São Paulo: ABTCP.2000.
- Colodette, J.L. Hot acid stage for hexenuronic acid removal. Tappi Bleach Plant Operation Workshop. Tappi PEERS Conference. Savannah, USA. October 14-18, 2012
- Eiras, K. M. M., Colodette, J. L. Silva, V. L., 2009. The role of bound chlorine in the brightness reversion of bleached hardwood kraft pulp. *Quím. Nova.* 32, 51-55.
- Eiras, K. M. M., Colodette, J. L. Silva, V. L., Barbosa, L.C.A., 2008. New insights on brightness stability of eucalyptus kraft pulp. *Nord. Pulp Pap. Res. J.*, 33, 102-107.
- Eiras, K M M, Colodette, J L., 2005. Investigation of eucalyptus kraft pulp brightness stability. *J. Pulp Pap. Sci.* 31,13-18.
- Forsström, A., Wackerberg, E. Silva, V. L., 2009. On the methods for assessing and the causes of brightness reversion of hardwood kraft pulps. In: 4<sup>th</sup> International Colloquium on Eucalyptus Pulp – ICEP 2009, Concepcion, Chile.
- Gellerstedt, G., Li, J., 1996. An HPLC method for the quantitative determination of hexeneuronic acid groups in chemical pulps. *Carbohydr. Res.* 294, 41-51.
- Hanna, K.R., Fisher,J.J. et al., 1998 International Pulp Bleaching Conference Proceedings, TAPPI PRESS, Atlanta, Georgia, Book 2, 323-328.

- Isogai, A., Kitaoka, C., Onabe, F., 1997. Effects of Carboxyl Groups in Pulp on Retention of Alkylketene Dimer. *J. Pulp Pap. Sci.* 23, 215-219.
- Page, D.H., Seth, R.S., 1988. A note on the effect of fiber strength on the tensile strength of paper. *Tappi J.* 71, 182-183.
- Loureiro, P. E. G., Domingues, M. R. M., Fernandes, A. J. S., M. Carvalho, M.G. V. S., Evtuguin, D. V., 2012. Discriminating the brightness stability of cellulosic pulp in relation to the final bleaching stage. *Carbohydrate Polymers*, 88, 726–733.
- Loureiro, P. E. G.; Sousa, J. I. T.; Carvalho, M. G. V. S.; Evtuguin, D. V. 2013. Contribution of xylan to the brightness development and stability in the final ECF bleaching of eucalypt (*Eucalyptus globulus* Labill.) kraft pulp. *Holzforschung*, 67 (5), 497–503.
- Molina, E.M.A., Mogollo'n, G., Colodette, J.L. (2008) Efecto de las xilanas en la refinabilidad y propiedades fisico-mecanicas de pulpa kraft de eucalyptus spp. In: V Congreso Iberoamericano de Investigacion in Celulosa y Papel – CIADICYP, Guadalajara, Mexico. Universidad de Guadalajara.
- Muguet, M. C. S.; Pedrazzi, C.; Colodette, J. L., 2011. Xylan deposition onto eucalypt pulp fibers during oxygen delignification. *Holzforschung*, Vol. 65, 605–612.
- Regazzi, A., 1993. Teste para identificar a identidade de modelos de regressão e igualdade de alguns parâmetros num modelo polinomial ortogonal. *Rev. Ceres.* 40, 176-195.
- Regazzi, A., Silva, C. H. O., 2004. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. I. Dados no delineamento inteiramente casualizado. *Rev. Mat. Estat.* 22, 33-45.
- Rydholm, S. A. (1965). *Pulping processes*, Volume 1. New York: John Wiley & Sons, Ltd.
- Sevastyanova, O., Li, J., Gellerstedt, G., 2006. On the reaction mechanism of the thermal yellowing of bleached chemical pulps. *Nord. Pulp Pap. Res. J.* 21, 188-192.

Sevastyanova, O.; Lindström, M. E.; Forsström, A.; Wackerberg, E., 2011. Impact of bleaching history on the efficiency of final chlorine dioxide stage in ECF-type bleaching of eucalyptus kraft pulps. In: 5rd ICEP - International Colloquium on Eucalyptus Pulp, 2011, Porto Seguro. CD-Rom Proceedings. p.1 – 10.

Ventorim, G. ; Caraschi, J. C.; Colodette, J. L.; Gomide, J. L., 2009 . A influência dos ácidos hexenurônicos no rendimento e na branqueabilidade da polpa kraft. *Química Nova*, v. 32, p. 373-377.

Ventorim, G. ; Colodette, J. L.; Gomes, A. F.; Silva, L. H. M., 2008. Reaction Rates of Lignin and Hexenuronic Acids with Chlorine Dioxide, Ozone and Sulfuric Acid. *Wood and Fiber Science*, 40, 190-201.

Silva, R. P., Oliveira, R. C., 2000. Efeitos da ação do refino e da reciclagem nas propriedades de papéis de pinus e eucalipto. *Rev. Árvore*. 24, 349-360.

Silva, V.L.;Lino, A.G.; Ribeiro, R.A.; Colodette, J.L.; Forsström, A.; Wackerberg, E., 2011. Factors affecting brightness reversion of hardwood kraft pulps. *BioResources*, 6(4), 4801-4814.

## ARTIGO III

### Effect Of Lignin Carbohydrates Complexes Of Hardwoods Hibrids On Kraft Pulping Process

Vanessa L. Silva; Hasan Jameel, Jorge L. Colodette

#### ABSTRACT

Many investigations have been conducted to elucidate the nature of lignin-carbohydrates complexes (LCC) but few studies were carried out about the relationship between LCC and pulping. Lignin-carbohydrates complexes influence many chemical properties in the wood, e.g., difficult to remove lignin from kraft pulps at the end of pulping due the occurrence of lignin carbohydrates bonds. Therefore, this study aimed to study the influence of lignin-carbohydrate complexes on kraft pulping. Four different eucalyptus samples (*E. grandis*; *E. grandis* X *E. globulus* (GxGL); *E. urophylla* X *E. camaldulensis* (UxC) and [(*E.dunni* x *E. grandis*) X *E. urophylla*] (DG x U)) from Brazil was used for chemical characterization and pulping. Spectroscopic techniques (<sup>13</sup>C NMR and HSQC-2D) were applied for the determination and quantification of the lignin-carbohydrate complex structures, and then evaluated the effect of LCC on kraft pulping of hybrid eucalyptus. Application of <sup>13</sup>C NMR and HSQC-2D (Heteronuclear Single Quantum Correlation) combination of spectroscopic techniques allowed the identification and quantification of the benzyl ether,  $\gamma$ -ester, and phenyl glucoside linkages of the lignin-carbohydrate complexes in eucalyptus hybrid wood. The glycosidic phenyl and  $\gamma$ -ester linkages are, respectively, the more and least significant to the quantitative point of view. The xylose content of the isolated lignin (MWL-milled wood lignin) was very high, suggesting that the lignin-carbohydrate complex linkages are preferably bonded to xylose. The study did not confirm a correlation between the lignin-carbohydrate complexes content and the kraft pulping yield. Analysis of <sup>13</sup>C NMR of the samples showed that the eucalyptus hybrid GxGL (*E. grandis* X *E. globulus* ) contained high  $\beta$ -O-4 linkages content and also higher

pulping yield than the others samples, suggesting that the linkages between lignin is more important than LCC linkages in pulping.

Keywords: lignin carbohydrates complex; NMR; hardwood hybrids; Kraft pulping

## INTRODUCTION

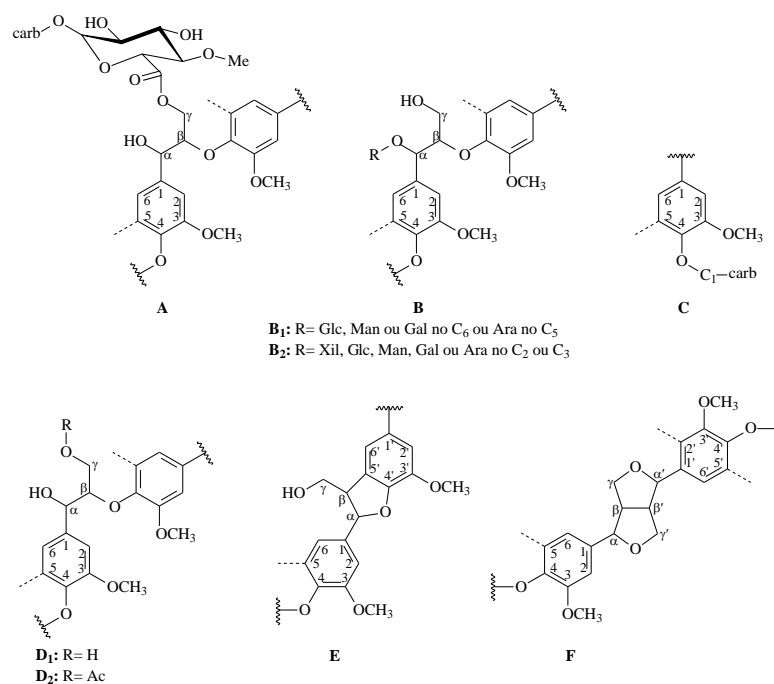
Lignin is a very complex irregular polymer formed by random dehydrogenative polymerization of lignin precursors of the cinnamyl type. There are numerous evidences that lignin and polysaccharides are covalently linked forming so called Lignin-carbohydrate complex (LCC). Three main types of native LC bonds have been suggested in the literature viz. benzyl esters, benzyl ethers and phenyl glycosides (Fengel and Wegener 1984; Koshijima and Watanabe 2003).

The analysis of lignin structures is important to the optimization of kraft pulping processes. The kraft process is currently the dominant chemical pathway to produce pulp. Kraft pulping consists of treatment of wood with a solution of sodium hydroxide (NaOH) and sodium sulfide (Na<sub>2</sub>S) at high temperature (160-170 °C). This results in wood delignification through degradation of lignin and its dissolution in pulping liquor.

Information on the structures of the lignins is of primary importance for a better understanding of the underlying mechanisms of kraft delignification. Studies showed that LCCs influence many chemical properties of wood (Koshijima and Watanabe, 2003; Lawoko et al. 2005).

Advantages and disadvantages of different analytical methods for LCC analysis were reviewed recently (Koshijima and Watanabe 2003; Balakshin et al. 2007a). Balakshin et al. (2011) developed a method to quantify of LCC by two various approaches: integration of 2D spectra assuming total amounts of the detected structures as 100% (Ibarra et al. 2007; Ralph et al. 2006) and combination of HSQC and <sup>13</sup>C NMR (Zhang and Gellerstedt 2007). This approach was verified on milled wood lignin (MWL) and cellulose and has shown very reliable results (Zhang and Gellerstedt 2007).

In the present work were applied <sup>13</sup>C NMR and HSQC methods to the analysis of LCC preparations isolated from different hardwood hybrids and then evaluated the effect of LCC on kraft pulping.



**Fig. 1.** Main lignin-carbohydrate linkages: A, ester; B, benzyl ether; and C, phenyl glycoside and lignin substructures.: D1,  $\beta$ -O-4/ $\alpha$ -OH; D2,  $\beta$ -O-4/ $\alpha$ -OH  $\gamma$ -acetylated; E, phenylcoumaran ( $\beta$ -5); F, resinol ( $\beta$ - $\beta$ ).

## EXPERIMENTAL

### Raw Material

Four samples were used in this work, *E. grandis* and the 3 types of eucalyptus hybrids *E. grandis* X *E. globulus* (GxGL); *E. urophylla* X *E. camaldulensis* (UxC) and *E. dunni* x *E. grandis* X *E. urophylla* (DG x U). Wood chips of this eucalyptus were prepared using a lab chipper. The logs had their bark manually removed and then were mechanically split into four pieces. After chipping, each sample was separated into 3 different fractions (27 to 23 mm; 23 to 17 mm; 17 to 11 mm). The fractions were proportionally mixed in order to obtain a similar chips size for all species and avoid size interference. They were placed in plastic bags, and the moisture content was determined.

The wood sawdust (40 to 60 mesh) was soxhlet extracted with benzene-ethanol 2:1 (v/v) (TAPPI T264 om-88) and then was extracted with 1% NaOH (TAPPI T212 om-98), dried, and used for wood characterization and LCC preparations.

### **Wood characterization**

The Klason method (Gomide ,1986) and acid soluble lignin (Goldschmid, 1971) was used for the determination of lignin content in all samples. Alkaline nitrobenzene oxidation analyses were applied to the samples according to the common procedure (Lim ,1992). The methoxy group content was determined according to the literature (Baker, 1996 and Akiyama et al., 2003).

### **Kraft Pulping**

Pulping was carried out by a kraft pulping method to kappa number 17. Conditions were kept constant, except that active alkali charges were varied to achieve the desired kappa number. The liquor:wood ratio of 4:1; sulphidity 30%; final temperature, 160 °C; time to temperature to 70 min and time at temperature to 60 min.

### **MWL Preparations**

Crude milled wood lignins (MWL) were isolated according to the classical method (Bjorkman 1956). A planetary ball mill (Pulverisette 7, Fritsch, Germany) was used in the current experiment in contrast to a vibratory ball mill utilized in Bjorkman's protocol. The extracted sawdust (2 g) was subjected to milling at 600 rpm using ZrO<sub>2</sub> bowls and 14 ZrO<sub>2</sub> balls. The wood meal obtained was extracted with dioxane (96% v/v) and the solvent was then evaporated under vacuum at 35 °C. To remove traces of dioxane, a few drops of H<sub>2</sub>O were added to the solid matter and evaporated again. This procedure was repeated three times. Finally, the solid matter was dried in a vacuum oven at 35 °C to obtain MWL analyses.

### **Carbohydrate analysis**

The carbohydrate composition of the LCC preparations was determined by hydrolysis of the polysaccharides in LCC by the Saeman method followed by the quantification of the resulting sugars with ion exchange chromatography. About 20 mg of the preparations were hydrolyzed with 1.0 mL of 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at room temperature with occasional stirring for 2 h. The mixture was then diluted with DI water to obtain a 3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentration, then transferred to a vial, sealed and heated at 120 °C for 1.5 h in an autoclave. The resulting suspension was filtered, and the filtrate was diluted to obtain a suitable concentration of monosaccharides (0.1–

0.2 mg/ml) for analysis with a Dionex IC-3000 chromatography system (Dionex) with a pulsed amperometric detector (HPAE-PAD). The solution was filtered through a 0.45  $\mu\text{m}$  Teflon syringe filter and injected (25  $\mu\text{L}$ ) into the Dionex system. Separation of sugars was achieved using a Carbo-Pac PA1 guard column and an analytical column connected in series. Water was used as the eluent at the flow rate of 1.0 mL/min and the column temperature was kept at 18 °C. A post-column base (400 mM NaOH at the flow rate of 1.0 mL/min) was added in order to improve the detection by pulsed amperometry. Fucose was used as an internal standard.

### **NMR analysis**

The 2D HSQC NMR spectra were acquired at sample concentration of ca 10% either on a Bruker AVANCE 300 MHz spectrometer equipped with BBI probe. The acquisition parameters were performed according to the Balakshin et al (2011) and  $^{13}\text{C}$ -NMR analysis was performed according to Capanema et al. (2007).  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of the lignin preparations in DMSO- $d_6$  were recorded on a Bruker AVANCE 300 MHz spectrometer at 300 K using a 90 ° pulse width, a 1.4 s acquisition time, and 1.7 s relaxation delay. Chromium (III) acetylacetonate (0.01 M) was added to the lignin solution to provide complete relaxation of all nuclei. A total of 20,000 scans were collected.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The effect of lignin-carbohydrate complex (LCC) in the pulping process was investigated in this study. For this, milled wood lignin (MWL) from eucalyptus samples were extracted and analyzed by nuclear magnetic resonance (NMR). Table 1 shows the initial chemical characteristics of wood used in this work, namely: *E. grandis* (G) and the hybrid woods of *E. grandis* X *E. globulus* (GxGL); *E. urophylla* X *E. camaldulensis* (UxC) and *E. dunnii* x *E. grandis* X *E. urophylla* (DGxU).

The lignin content varied from 26.1 to 30.6%, whereas the carbohydrate varied from 57.4 to 61.1%. The lowest S/V ratio was determined in *E. dunnii* x *E. grandis* X *E. urophylla* (DGxU) hybrid wood.

Milled wood lignin (MWL) isolation from wood requires ball milling to degrade the cell wall matrix to an extension that allows extraction of lignin and LCC fragments. Extraction of milled wood with 96% dioxane produces crude milled wood

lignin (MWL). The yield of the preparation is proportional to the energy applied during the ball milling (milling time and intensity). The milling intensity was fixed and the milling time was adjusted to provide MWL preparations with the yield around 60%. The samples with this yield were used to LCC quantification.

**Table 1:** Chemical characteristics and pulping yield of samples

Characteristics		GxGL	UxC	E. grandis	DGxU
<b>Lignin</b>	%	26.1	29.6	28.9	30.6
	Glu, %	45.4	43.5	46.5	39.7
	Xyl, %	13.0	12.2	12.0	14.8
	Gal, %	1.2	1.9	1.0	0.7
<b>Carbohydrates</b>	Man, %	0.6	1.2	0.9	1.2
	Ara, %	0.3	0.3	0.3	0.4
	Rha, %	0.4	0.6	0.3	0.7
	Total, %	60.9	59.7	61.1	57.4
<b>S/V ratio</b>		3.9	3.4	2.9	2.6

### Isolation of MWL from wood eucalyptus

All milled wood lignin (MWL) were chemically characterized in relation to the sugar content and methoxyl content (Table 2). Balakshin et al. (2001) showed that crude preparations MWL always contains some carbohydrates (10-20%) that are chemically bound to lignin. All preparations contain xylan as main sugar constituent. Its amount is about 85% of total sugars in MWL preparations. The sugar content in samples of this experiment was lignin from 10.7 to 12.2%. Approximately 85% of total sugar was from xylose, suggesting that LCC are possibly connected with xylose.

**Table 2:** The yields and sugar composition of MWL preparations

MWL samples	Methoxyl content, %	Sugars, % sample	Sugar composition, % neutral sugars					
			ARA	RHA	GAL	GLC	XYL	MAN
<b>GxGL</b>	21.3	11.9	0.7	1.7	3.6	6.5	87.5	0.0
<b>UxC</b>	21.3	10.7	1.1	1.7	6.9	7.2	82.9	0.3
<b>E. grandis</b>	20.5	12.2	0.6	1.7	3.9	6.2	87.4	0.1
<b>DGxU</b>	20.1	11.6	1.2	2.3	2.2	7.5	86.1	0.7

## Quantification of lignin-carbohydrate complex $^{13}\text{C}$ NMR and HSQC-2D

Previous work characterized MWL and LCC by NMR and this technique was considered to be a powerful tool for providing qualitative and quantitative structural information (CAPANEMA et al., 2005, ZHANG et al, 2010; BALAKSHIN et al., 2011).

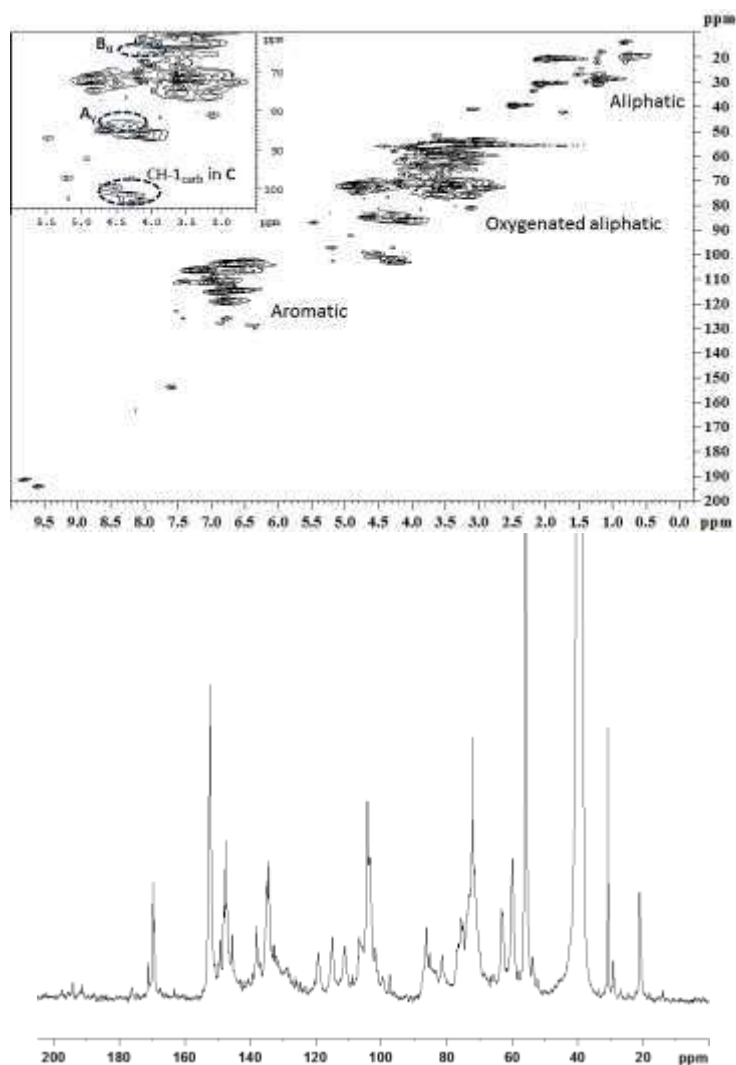
The isolated MWL preparations were analyzed on a spectrophotometer 300 MHz NMR spectrometer (Figure 2). The LCC signals were integrated in the HSQC-2D (Heteronuclear single quantum coherence) (Balakshin et al., 2007, 2011). This technique is very useful in analysis of complex preparations containing lignin and carbohydrate because it allows much better separation of the of carbohydrate and lignin signals and, as consequence, the signal assignment is also better than in the case of 1D NMR techniques.

All samples showed the presence of a glycoside phenyl, benzyl ether and  $\gamma$ -ester LCC linkages, but in different amounts (Table 3.). The HSQC-2D spectrum shows signals in the area of carbohydrates CH-1 carbohydrate at  $\delta_{\text{C}}$  102-99 and  $\delta_{\text{H}}$  4.7-4.2 ppm, which were attributed to CH-1 of various internal carbohydrates units.

Benzyl ether linkages (**B**) were detected in the HSQC-2D spectrum and the results were close to the previous studies of hardwood (BALAKSHIN et al., 2011). The HSQC spectrum showed signals in the area of  $\sim$  81.2-79.3/4.6-4.4 ppm (Figure 2) assigned to  $\alpha$ -CH benzyl ether lignin-carbohydrate (LC) bonds based on data for corresponding model compounds (TOKIMATSU et al 1996.).

No benzyl ester ( $\alpha$ -ester) structure was detected in 75/6.1 ppm in all preparations studied. However, the  $\text{CH}_2$ - $\gamma$  signals of  $\gamma$ -esters were observed in the area of 64.1-63.0/4.2-4.16 ppm and quantified. The amount of  $\gamma$ -esters in the eucalypt MWL preparations was very low compared to previous studies using other species of hardwood (BALAKSHIN et al., 2011).

Phenyl glycoside linkages provide a group of signals of carbohydrate C-1 at 103.2-100.6/5.2-4.9 ppm according to model compounds data (TERASHIMA et al. 1996). A variety of signals indicated the involvement of different types of carbohydrates (different sugars and different acetylation mode, especially for xylan) in phenyl glycoside linkages. Phenyl glycoside linkages can be observed in all eucalypt woods studied in this work. GxGL and DGxU hybrids had the highest amounts of phenyl glycoside linkages in MWL.



**Fig. 2.** HSQC and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of MWL to the hybrid *E. dunni* x *E. grandis* vs *E. urophylla* (DGxU).

**Table 3.** Quantification of LCC and lignin substructures from the spectra acquired at 300 MHz spectrometer

	MWL, amounts, per 100 Ar			
	GxGL	UxC	<i>E. grandis</i>	DGxU
Benzyl ether	1.5	1.5	1.4	1.6
Phenyl glycoside	2.6	1.8	1.8	2.6
$\gamma$ -Esters	0.3	0.2	0.2	0.3
$\beta$ -O-4	60.3	55.2	53.2	50.6
$\beta$ -5	8.0	5.2	5.4	5.3
$\beta$ - $\beta$	4.4	5.8	5.0	6.4

Other structures of the main lignin in the spectra could be detected according to the databases are well known and described in detail in a number of previous publications (BALAKSHIN et al., 2003 and 2011; CAPANEMA et al., 2004 and 2005; IBARRA et al., 2006; Ralph et al., 2006; Yelle et al., 2008; Zhang et al., 2006). As the aim of this paper is focused on LCC structures, we limit the discussion to the amount of the main structures of lignin, such as  $\beta$ -O-4,  $\beta$ - $\beta$ , and  $\beta$ -5.

The connections of the type  $\beta$ -O-4 (**D<sub>1</sub>**, **D<sub>2</sub>**) are the predominant interunit linkages in lignin, the eucalyptus wood showed high amount between 50-60/100Ar. The value was very close when compared to the values found by Guerra et al. (2008) and Evtuguin et al. (2001), respectively, 56/100Ar and 59/100Ar for *E. globulus* woods.

In addition, eucalyptus wood structures showed the presence of  $\beta$ - $\beta$  (**F**) and  $\beta$ -5 (**E**) in preparations of LCC.  $\beta$ - $\beta$  content from eucalyptus wood was relatively low compared to the species of birch (Balakshin et al., 2011), and the  $\beta$ -5 content was 3.6 times more than birch (Balakshin et al., 2011).

### **Effect of lignin-carbohydrate complex in the kraft pulping**

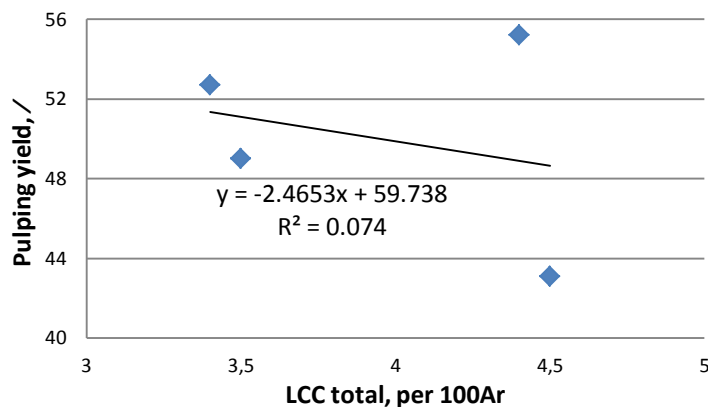
Lignin-carbohydrate complexes were quantified and compared to their kraft pulping yields (Figure 3). Kraft pulping was made in rotary digester, where the pulping conditions were held constant; except for the effective alkali charge was varied to achieve a kappa number around 17.

Lignin-carbohydrate complex content had not much influence on the kraft pulping yield, with an  $R^2$  close to zero. It is known that the complexes are responsible for portion of the residual lignin in the pulp, but this cannot be confirmed in this work, possibly the low LCC content in the samples.

*E. grandis* x *E. globulus* (GxGL) eucalyptus hybrid was higher pulping yield (55.2%) and required low effective alkali charge (14.8% NaOH) for kappa number 17, but the sample obtained highest LCC content, especially of the phenyl glycoside linkage. *E. dunni* x *E. grandis* X *urophylla* (DGxU) hybrid had the worst performance; 43.1% of pulping yield and 23.8% of effective alkali.

By comparing the pulping yield with the content of  $\beta$ -O-4 linkages noted a positive correlation (Table 11 and Figure 22). In this work, the  $\beta$ -O-4 linkages had more significant effect on kraft pulping than the LCC linkages. Note that LCC

content found in MWL was very low ( $\sim 4.5/100\text{Ar}$ ) compared to the levels of  $\beta\text{-O-4}$  linkages ( $60\text{-}50/100\text{Ar}$ ).



**Fig. 3.** Comparison between yield pulping and lignin content of complex-carbohydrate (LCC).

The comparison between yield pulping and syringyl/vanillin ratio (S/V) showed a positive correlation, the variable S/V is also another chemical characteristic more relevant than LCC content on pulping yield.

The type of linkages between the lignin units also affects the kraft pulping yield, as well as, the degree of condensation. Thus, studies of the composition of lignin must be performed to give an explanation of the causes of these clones are so different.

## CONCLUSIONS

1. The use of spectroscopic techniques such as  $^{13}\text{C}$  and HSQC-2D NMR allowed the identification and quantification of benzyl ether, phenyl glucoside and  $\gamma$ -ester of lignin-carbohydrate complex linkages in the woods of eucalyptus hybrid.
2. The study did not confirm a correlation between the lignin-carbohydrate complexes and the kraft pulping yield, it is known that the complexes are responsible for portion of the residual lignin in the pulp, but this cannot be confirmed in this work, possibly because the low LCC content in the samples.

3. The main LCC linkage found in the samples was phenyl glucoside, and  $\gamma$ -ester had the lowest concentration in all MWL analyzed.
4. The xylose content was very high in MWL, suggesting that the connections of the lignin-carbohydrate complex are preferably connected to the xylose.

#### **ACKNOWLEDGMENTS**

We would like to acknowledge the financial support and scholarship provided by the Minas Gerais State Research Foundation (FAPEMIG), CNPq and CAPES.

#### **REFERENCES CITED**

- Akiyama, T., Goto, H., Nawawi, D. S., Syafii, W. Matsumoto, Y., Meshitsuka, G. (2005). "Erythro ratio of  $\beta$ -O-4 structures as an important structural characterization of lignin. Part 4. Variation in the erythro /threo ratio in softwood and hardwood lignins and its relation to syringyl/guaiacyl ratio", *Holzforschung* 59(3), 276-281.
- Akiyama T, Matsumoto Y, Okuyama T, Meshitsuka G. "Ratio of erythro and threo forms of  $\beta$ -O-4 structures in tension wood lignin". *Phytochemistry*, 64 (2003), pp. 1157-1162.
- Amidon, T. E. (1981). "Effect of the wood properties of hardwoods on kraft paper properties," *Tappi* 64(3), 123-126.
- Baker, S.M. "Rapid methoxyl analysis of lignins using gas-chromatography", *Holzforschung*, 50(6), 1996, pp. 573-574
- Bjorkman, A. (1956). "Studies on finely divided wood. Part I. Extraction of lignin with neutral solvents", *SvenskPapperstidn.* 59, 477-485.
- Bose, S. K., Francis, R. C., Govender, M., Bush, T., Spark, A. (2009). "Lignin content versus syringyl to guaiacyl ratio amongst poplars", *Bioresource Technol.* 100, 1628-1633.

- Capanema, E. A., Balakshin, M.Yu., Kadla, J. F., Chang, H.-M. (2007). "On isolation of milled wood lignin from eucalyptus wood", *O Papel*, May (N5), 74-79.
- Chang, H.-M., Sarkanen, K. V. (1973). "Species variation in lignin - Effect of the species on the rate of kraft pulping", *Tappi* 56(3), 132-134.
- Chiang, V. L., Cho, H. J., Puumala, R. J. (1987). "Alkali consumption during kraft pulping of Douglas fir, western hemlock e red alder", *Tappi Journal* 70(2), 101-104.
- Collins, D. J., Pilotti, C. A., and Wallis, A. F. A. (1990). "Correlation of chemical composition and kraft pulping properties of some Papua New Guinea reforestation woods", *Appita* 43(3), 193-198.
- Del Rio, J. C., Gutierrez, A., Hernando, M., Landin, P., Romero, J., Martinez, A. T. (2005). "Determining the influence of eucalypt lignin composition in paper pulp yield using Py-GC/MS", *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 74, 110-115.
- Dence, C. W., Lin, S. V. (1992). *Methods of Lignin Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, 33-61.
- Fujimoto, A., Matsumoto, Y., Chang, H., Meshitsuka, G. (2005). "Quantitative evaluation of milling effects on lignin structures during the isolation process of milled wood lignin", *J. Wood Sci.* 51, 89-91.
- Gierer, J. (1980). "Chemical aspects of kraft pulping", *Wood Science and Technology* 14(4), 241-266.
- Gomes, F. J. B., Gouvea, A. F. G., Colodette, J. L., Gomide, J. L., Carvalho, A. M. M. L., Trugilho, P. F., Gomes, C. M., Rosado, A. M. (2008). "Influência do teor e da relação S/G da lignina da madeira no desempenho da polpação kraft", *O Papel* 69(12), 95-105.
- Gomide, J. L., Colodette, J. L., Oliveira, R. C., Silva, C. M. (2005). "Caracterização tecnológica, para produção de celulose, da nova geração de clones de Eucalyptus do Brasil", *Revista Arvore* 29(001), 129-137.

- Gonzalez-Vila, F. J., Almendros, Del Rio J. C., Martin F., Gutierrez A., And Romero J. (1999). "Ease of delignification assesment of wood from different Eucalyptus species by pyrolysis (TMAH)-GC/MS and CP/MAS 13C-NMR spectrometry", *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49, 295-305.
- Guerra, A., Elissetche, J. P., Norambuena, M., Freer, J., Valenzuela, S., Rodriguez, J., and Balocchi, C. (2009). "Influence of lignin structural features on Eucalyptus globulus kraft pulping", *Ind. Eng. Chem. Res.* 47 (22), 8542-8549.
- Kayama, T. (1968). "Relationships between chemical components and morphological properties of tropical woods and pulp properties", *Japan Tappi* 22(11), 581-590.
- Kleinert, T. N. (1966). "Mechanisms of alkaline delignification. I. The overall reaction pattern", *Tappi* 49(2), 53-57.
- Ona, T., Sonoda, T., Ito, K., Shibata, M., Tamai, Y., Kojima, Y., Ohshima, J., Yokota, S., and Yoshizawa, N. (2001). "Investigation of relationship between cell and pulp properties in eucalyptus by examination of within-tree property variation", *Wood Sci. Technol.* 35(3), 229-243.

## ARTIGO IV

# Effect of hydrogen peroxide, copper (II) and refining on enzymatic hydrolysis of hardwood and softwood

Vanessa L. Silva<sup>a</sup>; Hasan Jameel<sup>b</sup>, Jorge L. Colodette<sup>a</sup>, Hou-Min Chang<sup>b</sup>

Contact information: a: Department of Florest Engineering, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 36570-000; b: Department of Wood and Paper Science, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA, 27695-8005.

**Keywords:** enzymatic hydrolysis, softwood, hardwood, hydrogen peroxide, copper (II), refining

## 1. INTRODUCTION

The current need for alternative renewable energies has led to the development of various technologies. The use of biomass as a source for biofuels is an interesting solution because it is one of the most abundant sources of organic material on our planet. Currently, production of biofuels from lignocellulosic materials is prevented by high processing costs. To render lignocellulosic biofuels more competitive, improvements in the enzymatic degradation of cellulose are crucial (HIMMEL et al., 2007; LYND et al., 2008).

Enzymatic hydrolysis of cellulose into soluble sugars has been studied extensively for utilization of plant cell wall materials in bioenergy processes (DUFF and MURRAY, 1996; XUE et al., 2011 and 2012; YU et al., 2011). Of central interest currently is the development of an effective process for conversion of cellulose into ethanol for use as liquid fuel. However, despite intensive research efforts a rapid conversion of cellulose substrates by enzymatic hydrolysis is still difficult to obtain. Several factors prevent an effective utilization of lignocellulose raw materials in a bioethanol process. The hydrolysis rate rapidly decreases during the time course of hydrolysis which leads to decreased yields and long process times (NUTOR and CONVERSE, 1991; WANG and CONVERSE, 1992). High enzyme

concentrations are needed to reach high cellulose conversion, and enzyme recycling is difficult due to adsorption of enzymes to residual lignocellulose.

Various process limitations account for overall slow reaction and decreasing rates as the conversion proceeds, and can be directly related to cellulose properties (insoluble nature, crystallinity, surface area, porosity, degree of polymerization) and enzymatic features (deactivation, inhibition, jamming, clogging, adsorption, processivity) (BANSAL et al., 2009; HALL et al., 2010; ZHANG and LYND, 2004).

This study evaluated the use of chemicals before the pretreatment stage, trying to reduce the demand of enzyme and to become the process economically viable for the ethanol production in an industrial scale. For this, the study used hydrogen peroxide, copper (II) and refining after pretreatment stage, and evaluated the enzymatic hydrolysis conversion of hardwood and softwood.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

### **2.1. Raw materials**

Fresh loblolly pine and mixed southern hardwood chips (mainly poplar and maple) were obtained from a mill in United States. They were stored at 4 °C until used. Uniform sizes of wood chips were prepared by a screening sieve with a 9.5 mm length and 25.4 mm width grid mesh.

Two enzymes Cellic<sup>®</sup>CTec2 and HTec2 were kindly provided by Novozymes North America, Inc. Sodium. (Novozymes, Franklinton, NC).

### **2.2. Pretreatment – Green liquor and autohydrolysis**

Pretreatment was carried out in a 7-liter M&K Digester with 700 OD grams of chips. The chips were cooked with green liquor at 20% of alkali charges (20% TTA as Na<sub>2</sub>O on wood, 25% sulfidity) and the contents pulped to the target H Factor of 600 at a maximum temperature of 170 oC with liquor to wood ratio of 4. After pulping the samples were washed overnight. The yield was measured by centrifuging the chip mass and measuring the consistency and total weight. The chips were then disintegrated using a refiner at .005 inch gap and then screened using a .008 inch screen plate. The rejects were refined with a disk gap of .001 inch and then added back to the accepts. The pulp was then centrifuged and fluffed for further processing.

Autohydrolysis was carried out with water at 170°C for 60 min at liquor to wood ratio of 4.

### 2.3. Refining

Pulp (30 g OD) was refined in a PFI mill at 10% consistency for 5,000 revolutions. After refining, pulp was collected and hydrolyzed with enzyme.

### 2.4. Enzymatic hydrolysis

Enzymatic hydrolysis was carried out with 2 g of pulp at 5% consistency with 5, 10 and 15 FPU at pH ~4.8 (acetate buffer) and 50 °C for 48 hours. After enzymatic hydrolysis, the mixture was centrifuged. The supernatant was collected, boiled for 5 min. and centrifuged again. The aliquot of the supernatant was used for determination of sugar content. The residue from the enzymatic hydrolysis was washed and centrifuged (3 times), freeze-dried in water suspension and weighted for weight loss.

Efficiency of enzymatic hydrolysis was estimated by weight loss (WL) and sugar conversion in enzymatic hydrolysate.

### 2.5. Analytical methods

The sugar contents in acid hydrolysates and enzymatic hydrolysates were analyzed by HPLC (Dionex, Sunnyvale, California) to detect glucose, xylose, galactose, mannose, and arabinose. The column system of HPLC consisted of a Shodex SP0810 column and a de-ashing cartridge pre-column. The temperature was 80 °C, the eluent was H<sub>2</sub>O, and the flow rate was 0.5 mL/min. Lignin content is determined according to the TAPPI Standard Method T222.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

New scientific advances have become the production of cellulosic ethanol reality, but we still need to research a concentrated effort to make it economically feasible on an industrial scale. Currently, the production of biofuel from lignocellulosic material is prevented by the high cost of enzyme that is used in the enzymatic hydrolysis. Thus, to render cellulosic biofuels more competitive, improvements in the enzymatic degradation of cellulose are critical (HIMMEL et al., 2007; LYND et al., 2008).

The compact and complex structure of the wood complicates saccharification of carbohydrate in the enzymatic hydrolysis, necessitating the use of any pretreatment for the production of biofuels. Pretreatment aims mainly the removal of lignin and increase the materials porosity in order to render cellulose susceptible to enzymatic hydrolysis. A variety of pretreatments have been studied recently, including autohydrolysis, alkaline hydrolysis, acid hydrolysis, ozonolysis, AFEX, organosolv, integrated process with the hemicellulose extraction prior to kraft pulp production, and the development of the concept of repurposing a kraft pulp mill for ethanol production (CARROLL and SOMERVILLE, 2009; YE and JIAYANG, 2009; CHIRAT et al, 2010).

In this study, we used different pretreatments and hydrogen peroxide and refining stage, in order to assist the enzymatic process, and thereby reduce the demand for enzymes and total cost of ethanol process production.

For this, *Pinus taeda* wood and a mixed of hardwood (mainly poplar and maple) from mills in United States were characterized and then subjected to pretreatment with liquor green (GL) and autohydrolysis (AH).

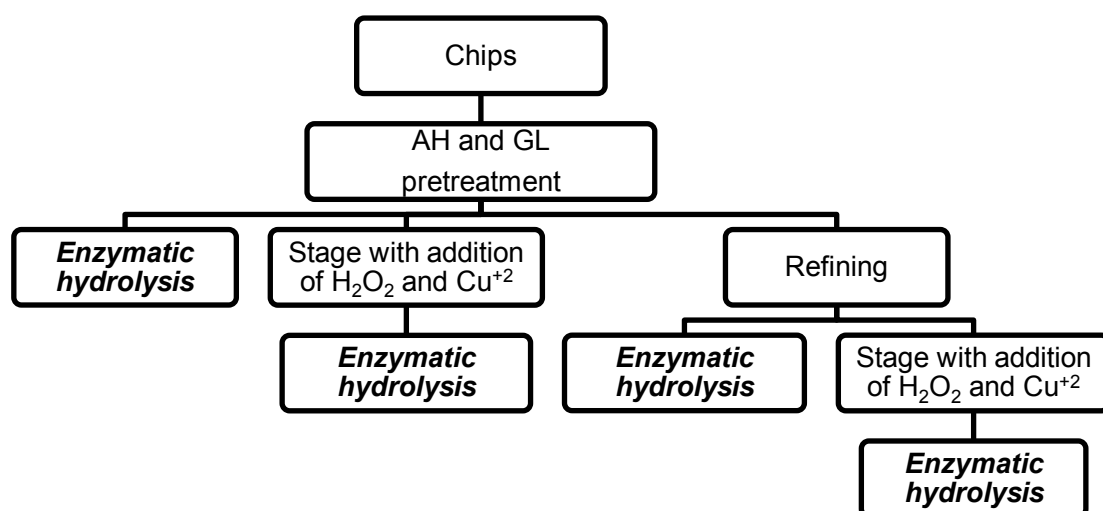
The pine wood is more difficult to be hydrolyzed enzymatically, mainly due to the high degree of fibers polymerization, therefore, pine chips were subjected to stronger pretreatment with green liquor ( $\text{Na}_2\text{S} + \text{Na}_2\text{CO}_3$ ) Hardwood chips, easier to be hydrolyzed, was subjected to autohydrolysis pretreatment (AH) which is a more simple and low cost. Santos et al. (2011) recently published a study comparing several types of pretreatment and its effects on enzymatic hydrolysis and the content of residual lignin in the pulp. Among the types of pretreatment used the green liquor was the most efficient for the removal of lignin, followed by acid hydrolysis, autohydrolysis and ozone. They concluded also that lignin content in the pulp influences the sugar conversion rate in enzymatic hydrolysis.

The chemical compositions of the pulps were determined before and after pretreatment with green liquor and autohydrolysis. As shown in Table 1, the total lignin content of hardwood (HW) was 32.2%. The pine (SW) had a lower total lignin (29.2%). It was noted that glucose and a significant portion of xylose were maintained after the pretreatment.

**Table 1.** Chemical composition of SW (*Pinus taeda*) and HW (mainly poplar and maple), SW-GL, and HW-AH

		HW	SW	HW-AH	SW-GL
Lignin	KL	26.7	28.6	26.1	26.5
	ASL	2.0	0.6	1.8	0.3
	<b>Total, %</b>	<b>28.7</b>	<b>29.2</b>	<b>27.9</b>	<b>26.8</b>
Carbohydrates	GAL	0.1	1.2	0.0	0.7
	GLC	44.8	41.3	51.6	48.3
	XYL	10.3	6.9	6.5	7.5
	ARA +MAN	2.2	8.1	2.1	6.5
	<b>Total, %</b>	<b>57.4</b>	<b>58.3</b>	<b>60.2</b>	<b>63.1</b>
Pretreatment Yield, %		-	-	<b>65.3</b>	<b>76.5</b>

Pupls were pretreated and subjected to refining and treatment with hydrogen peroxide, copper (II) as shown in Figure 1 below.



**Figure 1.** Scheme for enzymatic hydrolysis.

### 3.1. Effect of hydrogen peroxide stage

Hydrogen Peroxide is a chemical well known in pulp bleaching. In bleaching applies to hydrogen peroxide in alkaline generating hydroperoxide anion (HOO<sup>-</sup>), a powerful oxidant bleaching pulp without causing damage to its structure and also acts in its delignification. But some metal ions hinder its effective use, especially manganese, copper and iron. When these ions are in considerable quantities can

cause a catalytic decomposition of hydrogen peroxide, generating hydroxyl radicals which attack the cellulose damaging its structure and reducing its physical properties.

Thus, we aim to evaluate the delignificant action of hydrogen peroxide in pretreated samples and the conversion of sugar in the enzymatic hydrolysis. Treatment of pretreated pulp with hydrogen peroxide was carried out at alkaline pH (11-12) in 70 °C and with different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrations. Enzyme dosages used in enzymatic hydrolysis were also different, 5, 10, and 15 FPU (Filter paper unit) (Table 2).

The results showed decrease of lignin content with increasing hydrogen peroxide dosage for both pretreated pulps. Lignin content in HW-AH pulp was reduced by 8.4% when compared to the initial pre-treated pulp, while for the SW-GL pulp decrease of 5.5%.

Higher sugar conversion in enzymatic hydrolysis was obtained using hydrogen peroxide dosage at 3% in 15 FPU, an increase of 17.2% for the SW-GL pulp and 24.6% of the HW-AH pulp when compared to the initial pretreated pulps. As expected, the hardwood pulps obtained better results in sugar conversion than pine pulps. Sugar conversion reached 93,3% for HW-AH pulp with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage of 3% and 15 FPU.

**Table 5.2.** Lignin content and conversion of sugar in the hydrolysis for the pulps treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , %	Residual lignin, %	Sugar conversion in EH, %		
			5 FPU	10 FPU	15 FPU
HW-AH	-	27.9	41.7	62.9	68.7
	1	27.2	49.7	69.5	80.0
	1.5	26.0	50.2	70.4	79.9
	2	24.2	52.2	70.5	82.2
	3	21.5	59.8	80.0	93.3
SW-GL	-	26.8	30.6	44.8	54.1
	1	25.1	31.9	45.3	57.1
	1.5	23.8	34.4	51.2	59.8
	2	23.4	37.3	53.5	62.8
	3	22.3	44.3	57.5	71.3

Sugar conversion in initial IP-LV pulp was 44.8% at enzyme load of 10 FPU, but can obtain the same conversion with the use of hydrogen peroxide at 2% and enzyme load of 7.5 FPU, ie, 25% savings on enzyme cost.

### 3.2. Effect of Hydrogen Peroxide stage with addition of $\text{Cu}^{+2}$

Hydrogen peroxide is a stable and easy to handle at acid pH and without the presence of contaminants. However, in the presence of metal ions such as  $\text{Mn}^{+2}$  or  $\text{Fe}^{+2}$  or  $\text{Cu}^{+2}$  releases the hydroxyl radical ( $\text{OH}\cdot$ ), which is a strong oxidant used in reactions such as cyanide oxidation or phenolic compounds. Therefore, in an attempt to degrade lignin and increase the carbohydrates porosity, that was used  $\text{Cu}^{+2}$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$  in acid pH.

The pH between 4.0-4.5 was chosen due be very close to the enzymatic hydrolysis pH (pH ~4.8), eliminating the NaOH amount added in the alkaline process.

Table 5.3 are showed the results of the treatments carried out with hydrogen peroxide at 1% concentration in acid pH, with addition of copper (II) at temperature of 100 °C. The addition of copper (II) to process reduced the lignin contend by 5.7% for HW-AH pulp and 2.4% for SW-GL pulp.

Regarding the conversion of sugar, it was noted an increase with the addition of copper (II) concentration up to 0.1%, above this copper concentration had no effect on sugar conversion. This can be explained by inhibition of enzyme activity by high  $\text{Cu}^{+2}$  concentration in the reaction.

The best results were obtained by adding  $\text{Cu}^{+2}$  concentration at 0.1%, the sugar conversion was 85.1% for the HW-AH pulp in 15 FPU and 61.2% for SW-GL pulp in 15 FPU.

Despite the sugar conversion was not as high as in the previous experiment in alkaline pH, the economy of reagents was another important factor of this experiment, because there was no addition of NaOH, but there was a little dosage of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Enzyme savings can also be observed for the HW-AH pulp. The sugar conversion of initial HW-AH pulp was 58.0% in enzyme dosage of 10 FPU enzyme, but the same conversion was obtained with the use of hydrogen peroxide at 1%,  $\text{Cu}^{+2}$  at 0.1 % and with enzyme dosage of 6.6 FPU, ie a 34% savings on enzyme cost.

**Table 5.3.** Lignin content and conversion of sugar in the hydrolysis for the pulps treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Cu<sup>+2</sup>

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , %	Cu <sup>+2</sup> , %	Residual lignin, %	Sugar conversion in EH, %		
				5 FPU	10 FPU	15 FPU
HW-AH	1	-	26.9	39.9	58.0	69.2
	1	0.01	24.5	40.9	59.1	72.0
	1	0.1	24.1	49.8	69.6	85.1
	1	0.5	24.2	48.9	70.1	82.9
SW-GL	1	-	26.5	32.3	43.9	52.8
	1	0.01	25.9	34.5	44.7	60.7
	1	0.1	24.4	33.2	47.1	61.2
	1	0.5	24.1	30.2	42.0	54.1

### 3.3. Effect of refining and stage of hydrogen peroxide with the addition of Cu<sup>+2</sup>

The process of refining the pulp consists of applying mechanical forces to the cellulose fibers so as to promote the three physical results: cutting, fibrillation, and hydration. The cellulose refining action opens the fiber walls to break polymer chains, also the refining cause cutting of the fibers, length reduction, which is beneficial for enzymatic hydrolysis. Fibrillation cause fiber hydration, and improves the enzyme accessibility to the fibers of lignocellulosic material.

The refining stage was carried out at 5000 revolutions, and after this step, the pulp was submitted at same treatment conditions above (Section 3.2), with the use of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 1%, and acid pH, but without the concentration of Cu<sup>+2</sup> at 0.5%, this concentration was considered high to enzyme action (Table 4).

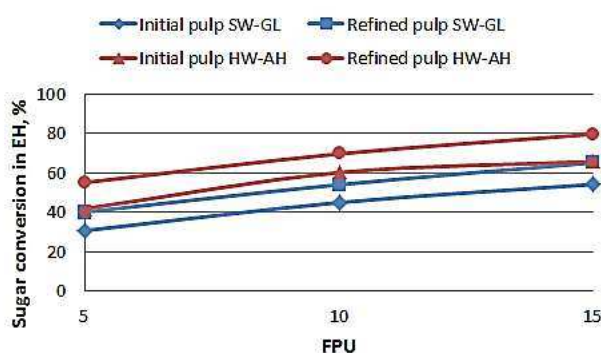
In this experiment the removal of lignin by refining treatments, hydrogen peroxide and copper (II) had a small decrease. The sugar conversion was more pronounced for the SW-GL pulp with increase by 24% when compared with the previous experiment (without refining) at 15 FPU and Cu<sup>+2</sup> concentration at 0.1%. For the HW-AH pulp, the refining stage was not very advantageous. The Cu<sup>+2</sup> concentration at 0.1% had a decrease in the sugar conversion in the enzymatic hydrolysis, again suggesting that the concentration of copper (II) is high and thereby inhibiting the enzyme action.

**Table 4.** Lignin content and conversion of sugar in the enzymatic hydrolysis for the pulps refined and treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , %	Cu <sup>+2</sup> , %	Residual lignin, %	Sugar conversion in EH, %		
				5 FPU	10 FPU	15 FPU
	-	-	25.4	51.7	67.6	76.4
HW-AH	1	-	25.2	52.4	66.0	76.7
refinada	1	0.01	24.0	53.0	71.1	83.1
		0.1	23.7	52.6	72.0	82.5
SW-GL	-	-	24.5	40.0	53.9	65.1
refinada	1	-	24.4	39.7	51.8	60.9
	1	0.01	23.1	37.9	53.1	64.7
	1	0.1	23.9	42.7	61.5	75.8

The economy of enzyme can also be observed for both pretreated and refined pulp. Based on sugar conversion of initial pulp at enzyme charge of 10 FPU, it was possible a 45% savings of enzyme dosage for SW-GL pulp and 43% for the HW-AH pulp when compared with the initial pretreated pulp.

Figure 5.2 shows a comparison between the initial pulp and refined pulp, without the addition of chemical reagents. Refining stage increase by 13.3% the sugar conversion for HW-AH pulp, and 9.4% for SW-GL pulp. The refined fibers are more accessible in the enzymatic hydrolysis, can be a helpful step to reduce the enzyme demand on ethanol process production.



**Figure 5.2.** Comparison of the conversion of sugar between the initial and refined pulp without the addition of reagents.

The economic viability of the above processes have been calculated and it was concluded that acid process were more economically viable than basic process. The cost of acid process was 33% lower than basic process at the same hydrogen

peroxide concentration (1%). Another important factor to be considered is the sugar conversion. AH pulp and SW-GL pulp had higher sugar conversion in acid process at 1% of hydrogen peroxide concentration than basic process.

#### **4. CONCLUSIONS**

After evaluating treatments with hydrogen peroxide, copper (II) and refining, we conclude that:

- The pretreated hardwood pulp by autohydrolysis had better conversion of sugar in the enzymatic hydrolysis as compared to pretreated softwood pulp by green liquor.
- The step of refining the improved conversion of the sugar in 9.4% SW-GL pulp and 13.3% for HW-AH pulp in comparison with the initial pretreated pulp.
- The use of hydrogen peroxide, copper, and refining also proved to be a good solution to reduce the cost of the enzyme, with savings of up to 45% of the enzyme.
- The best result for SW-GL pulp (sugar conversion=75.8%) was achieved with the use of refining, hydrogen peroxide(1%), and copper (0,1%) at acidic pH with enzyme charge of 15 FPU.
- HW-AH pulp had the best sugar conversion (93.3%) in reaction with hydrogen peroxide (3%) at basic pH, and enzyme charge of 15 FPU, however, it was the process more expensive.
- The addition of copper in the process had little effect on the pulp of HW-AH, however, it affected strongly sugars conversion of SW-GL pulp.

#### **5. REFERENCES**

BANSAL P, HALL M, REALFF MJ, LEE JH.; BOMMARIUS AS (2009) Modeling cellulase kinetics on lignocellulosic substrates. *Biotechnol Adv* 27, 833–848.

CARROLL, A., SOMERVILLE, C., 2009. Cellulosic biofuels, *Annu. Rev. Plant Biol.* 60, 165-182.

CHIRAT, C., LACHENAL, D., DUFRESNE, A., 2010. Biorefinery in a kraft pulp mill: from bioethanol to cellulose nanocrystals, *Cellul. Chem. Technol.* 44, 59-64.

DUFF, S.J.B.; MURRAY, W.D. (1996). Bioconversion of forest products industry waste cellulosic to fuel ethanol: a review. *Bioresources Technology*, 55:1-33.

HALL M, BANSAL P, LEE JH, REALFF MJ, BOMMARIUS AS. 2010. Cellulose crystallinity—A key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. *FEBS J* 277: 1571–1582.

HIMMEL, M. E.; DING, S-Y.; JOHNSON, D. K.; ADNEY, W. S.; NIMLOS, M. R.; BRADY, J. W.; FOUST, T. D.. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science* 315, 804–807 (2007)

LYND, L. R.; LASER, M. S.; BRANSBY, D.; Dale, B. E.; Davison, B.; Hamilton, R.; Himmel, M.; Keller, M.; McMillan, J. D.; Sheehan, J.; Wyman, C. E. How biotech can transform biofuels. *Nat. Biotechnol.* 2008, 26 (2), 169–172.

NUTOR JRK, CONVERSE AO. 1991. The effect of enzyme and substrate levels on the specific hydrolysis rate of pretreated poplar wood. *Appl Biochem Biotechnol* 28–29:757–772.

WANG SS, CONVERSE AO. 1992. On the use of enzyme adsorption and specific hydrolysis rate to characterize thermal chemical pretreatment. *Appl Biochem and Biotechnol* 34–35:61–74.

XUE, Y.; JAMEEL, PHILLIPS, R., CHANG, H.-M. (2011) Split addition of enzymes in enzymatic hydrolysis at high solids concentration to increase sugar concentration for bioethanol production. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 18:2, 707–714.

XUE, Y.; JAMEEL, H.; PARK, S. (2012) Strategies to recycle enzymes and their impact on enzymatic hydrolysis for bioethanol production. *BioResources* 7(1), 602–615.

YE, S., JIAYANG, C., 2009. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a

review, *Bioresour. Technol.* 83, 1–11.

YU, Z.; JAMEEL, H.; CHANG, H.-M.; PARK, S. (2011) The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*. 102(19):9083-9089.

ZHANG, Y.-H. P.; LYND, L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulose systems. *Biotechnol. Bioeng.* 2004, 88, 797–824.