

Campinas, 02 de março de 1994

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida por Marcello Moreira Santos e aprovada pela Comissão Julgadora.



Prof. Dr. Ulf Friedrich Schuchardt

**DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE LIGNINAS
PELO SISTEMA BIOMIMÉTICO GIF**

Marcello Moreira Santos ⁵⁹
Dissertação de Mestrado

1994

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ulf Friedrich Schuchardt ^t

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

UNICAMP

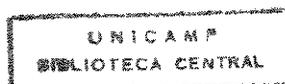
INSTITUTO DE QUÍMICA

**DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE LIGNINAS
PELO SISTEMA BIOMIMÉTICO GIF**

Marcello Moreira Santos
Dissertação de Mestrado

1994

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ulf Friedrich Schuchardt



AGRADECIMENTOS

Sou grato,

Ao Prof. Ulf Schuchardt, pela orientação e pela confiança depositada em mim.

À Direção e aos funcionários do Instituto de Química da UNICAMP, que de forma direta ou indireta, proporcionaram a execução deste projeto.

Ao CNPq, pelas bolsas de estudo

À FAPESP e FINEP-PADCT, pelos recursos concedidos.

Ao Dalmo, pela revisão do trabalho.

À Regina, pela revisão do trabalho.

À Malu, pelas discussões e revisão do trabalho.

Ao Mário Guerreiro, companheiro de batalhas.

Ao Ricardo e Alfredo, pelo auxílio na parte experimental.

Aos Professores José Augusto, Marco-Aurélio e Raquel.

Aos colegas, Ana Elisa, Angélica, Alexandre Tadini, Espeleta, Carlos, Estevam, Marcelo, Márcia, Ricardo, Rogério, Vera e Wilson e todos os outros colegas que pela convivência, colaboram com minha formação.

ÍNDICE

RESUMO	1
SUMMARY	2
INTRODUÇÃO	3
1. Lignina	3
2. Isolamento de Ligninas	7
2.1. Isolamento por extração.....	7
2.2. Isolamento como resíduo	7
2.3. Isolamento como derivados	8
3. Aproveitamento de Ligninas	8
4. Degradação de Ligninas	10
4.1. Degradação de ligninas por reações químicas	10
4.2. Degradação enzimática	12
5. Modelos Biomiméticos	12
5.1. Modelos porfirinícos.....	12
5.2. Modelos com heteropoliácidos	14
5.3. Modelos de complexos solúveis - sistema Gif.....	14
OBJETIVOS	17
PARTE EXPERIMENTAL	18
1. Procedência das Ligninas e dos Reagentes	18
1.1. Ligninas	18
1.2. Reagentes	18
2. Procedimentos Gerais	18
3. Pré-tratamento	19
4. Sistemas Oxidativos	19

4.1 Sistema GoAgg aberto ao ar	19
4.2 Sistema GoAgg sob atmosfera de argônio.....	20
4.3. Sistema GoChAgg aberto ao ar	20
4.4. Sistema GoChAgg sob atmosfera de argônio.....	21
5. Avaliação de Efeito Sinérgico	22
6. Solventes Apróticos	22
7. Obtenção dos Produtos	23
8. Análise	24
9. Determinação do "pH" dos Solventes Utilizados	25
10. Testes de Controle	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
1. Aspectos Gerais.....	26
2. Sistemas Oxidativos "Convencionais"	28
2.1 Sistema GoAgg	28
2.2. Sistema GoChAgg	31
3. Utilização de Sais de Ferro e Cobre Conjuntamente	42
4. Solventes Apróticos	51
4.1. Acetona	51
4.2 Acetonitrila	52
4.3. Dimetilformamida.....	52
4.4. Dimetilsulfóxido.....	53
4.5 terc-butanol	54
Tabela XXV	54
5. Determinação do pH dos Solventes Utilizados.....	55
6. Testes de Controle	56
CONCLUSÕES.....	58

BIBLIOGRAFIA	60
APÊNDICES	64

FIGURAS

Figura 1 - Precursores da lignina	4
Figura 2 - Primeira etapa na formação da lignina, a partir do álcool coniferílico	4
Figura 3 - Formação de dilignóis a partir do acoplamento do álcool coniferílico.....	5
Figura 4 - Estrutura proposta por Nimz para lignina de folhosas.....	6
Figura 5 - Obtenção de insumos químicos a partir de ligninas.....	9
Figura 6 - Estrutura do ferrotetra (2,6-diclorofenil) porfirina	13
Figura 7 - Estrutura do hexacetato de tripiridina μ 3-oxo ferro(II) diferro(III).....	14
Figura 8 - Mecanismo proposto para o Sistema GoAgg ^{II}	15
Figura 9 - Esquema de destilação curta a pressão reduzida.....	24
Figura 10 - Espectros no IV das Ligninas Acetosolv e Organocell.....	26
Figura 11 - Reações radicalares com radical hidroxila.....	35
Figura 12 - Cromatograma e espectros de massa para o experimento 3-O	36
Figura 13 - Cromatograma e espectros de massa para o experimento 4-A	38
Figura 14 - Espectros no IV da lignina Organocell e resíduos de destilação.	40
Figura 15 - Espectros no IV da lignina Acetosolv e resíduos de destilação.....	41
Figura 16 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H ₂ O ₂	43
Figura 17 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H ₂ O ₂	44
Figura 18 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 8 mL de H ₂ O ₂	45
Figura 19 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 8 mL de H ₂ O ₂	46

Figura 20 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 15 h de pré-tratamento e 2 mL de H ₂ O ₂	47
Figura 21 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 15 h de pré-tratamento e 2 mL de H ₂ O ₂	48
Figura 22 - Cromatograma e espectros de massa para o experimento 38-O	49
Figura 23 - Gráfico do pH determinado para py/HCl 1 M (HOAc)	56

TABELAS

Tabela I - Variação da composição do solvente, tipo de lignina, quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e presença de ácido picolínico (Hpic - 1 mmol) em sistema com 1,0 g de lignina, 2 h de pré-tratamento e 1mmol de cloreto férrico.....	19
Tabela II - Variação da composição do solvente, tipo de lignina, quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e tempo de pré-tratamento em sistema com 1g de lignina e 1mmol de cloreto férrico.....	20
Tabela III - Variação da composição do solvente, tipo de lignina e quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em sistema com 1g de lignina, 2 h de pré-tratamento, 1mmol de cloreto cúprico	21
Tabela IV - Variação da composição do solvente, tipo de lignina, quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e tempo de pré-tratamento em sistema com 1g de lignina e 1mmol de cloreto cúprico	21
Tabela V - Relação Fe/Cu empregada nos experimentos para avaliação de efeito sinérgico.....	22
Tabela VI - Variação do tipo de lignina, tipo e quantidade do solvente empregado.....	23
Tabela VII - Condições experimentais alteradas nos sistemas com Fe-Cu e sistemas com diferentes solventes	23
Tabela VIII - Condições de análise CG/EM	24
Tabela IX - Atribuição das principais bandas de absorção das ligninas na região do infravermelho.....	27
Tabela X - Influência da atmosfera reacional em sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 2 h de pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2 , solvente py:HCl 1M (HOAc) 4:1, reação durante 6 h	28

Tabela XI - Adição de ácido picolínico em sistema aberto ao ar , contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 2 h de pré-tratamento, 4x2 mL de H ₂ O ₂ , solvente py:HOAc 4:1, durante 6 h.....	29
Tabela XII - Variação da quantidade de H ₂ O ₂ em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 2 h de pré-tratamento, solvente py:HOAc 4:1, durante 6 h	30
Tabela XIII - Variação do solvente em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 2 h de pré-tratamento, 4x2 mL de H ₂ O, 1 mmol de Hpic, durante 6 h.....	30
Tabela XIV - Variação da atmosfera reacional em sistema, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de CuCl ₂ .2H ₂ O, 2 h de pré-tratamento, 2 mL de H ₂ O ₂ e solvente py:HCl 1M (HOAc) 4:1, durante 6 h.....	31
Tabela XV - Variação da quantidade de H ₂ O ₂ em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de CuCl ₂ .2H ₂ O, 2 h de pré-tratamento, solvente py:HCl 1M (HOAc) 4:1, durante 6 h.....	31
Tabela XVI - Variação do solvente em sistema sob atmosfera inerte, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de CuCl ₂ .2H ₂ O, 2 h de pré-tratamento, 1 mL de H ₂ O ₂ , durante 6 h	32
Tabela XVII - Variação do catalisador em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de catalisador, 2 h de pré-tratamento, 4x2 mL de H ₂ O ₂ , solvente py:HOAc 4:1, durante 6 h.....	33
Tabela XVIII - Atribuição dos picos dos compostos detectados por CG/EM no experimento 3-O	37
Tabela XIX - Atribuição dos picos dos compostos detectados por CG/EM no experimento 4-A	39

Tabela XX - Atribuição dos picos dos compostos detectados por CG/EM no experimento 38-O	50
Tabela XXI - Resultados obtidos no sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 26 mL de acetona, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte	51
Tabela XXII - Resultados obtidos no sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 18 mL de MeCN, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte	52
Tabela XXIII - Resultados obtidos no sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 27 mL de dmf, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte	53
Tabela XXIV - Resultados obtidos no sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 25 mL de dmsO, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte	53
Tabela XXV - Resultados obtidos no sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de FeCl ₃ .6H ₂ O, 33 mL de <i>t</i> -BuOH, 5 mL de HOAc, atmosfera inerte e 35°C.....	54
Tabela XXVI - Valores de pH estimados para cada solvente utilizado	55

SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

CG/EM	Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas
dmf	dimetilformamida
dmsO	dimetilsulfóxido
eV	elétron Volt
HCl 1M (HOAc)	solução 1 molar de ácido clorídrico em ácido acético
HOAc	ácido acético
Hpic	ácido picolínico
I.S.	índice de similaridade
IV	espectroscopia no infravermelho
MeCN	acetonitrila
mfen	massa de produtos fenólicos em miligramas
mlig	massa de lignina dissolvida
mpir	massa de produtos piridínicos
mres	massa de resíduo de destilação
msolv	massa de acoplamento solvente-solvente
m/z	razão massa carga
py	piridina
s	seletividade (mfen/mpir ou mfen/msolv)
<i>t</i> -BuOH	<i>terc</i> -butanol
TPP	tetrafenilporfirina
t _R	tempo de retenção

DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE LIGNINAS

PELO SISTEMA BIOMIMÉTICO GIF

Autor: Marcello Moreira Santos

Orientador: Prof. Dr. Ulf F. Schuchardt

Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas

Caixa Postal 6154 - 13084-100 - Campinas, SP.

Estudou-se a possibilidade de empregar um modelo de metano-monooxigenase [Sistema Gif usando cloreto férrico (GoAgg) ou cúprico (GoChAgg) em piridina/ácido acético] para a degradação oxidativa, com peróxido de hidrogênio, de ligninas obtidas pelo processo Acetosolv a partir de *Eucalyptus grandis* e pelo processo Organocell a partir de *Pinus sylvestris*. As ligninas foram submetidas a um pré-tratamento (refluxo com os solventes) e então empregado o sistema oxidativo. Os produtos obtidos foram destilados, identificados e semi-quantificados por CG/EM. Os resíduos da destilação foram analisados por espectroscopia no infravermelho.

O sistema foi mantido à temperatura ambiente com 6 h de reação, variando-se a atmosfera reacional, o tempo de pré-tratamento e a quantidade de peróxido de hidrogênio. Partindo-se de 1,0 g de ligninas, obteve-se como produtos de degradação compostos fenólicos, principalmente fenol, guaiacol e siringol. Também foi observada a formação de produtos de acoplamento solvente-solvente, principalmente dipiridilas. Para a lignina Organocell, os melhores resultados, foram obtidos no sistema GoAgg sob atmosfera inerte e com 2 mL de H₂O₂, obtendo-se até 100 mg de produtos fenólicos e até 70 mg de produtos piridínicos. Para a lignina Acetosolv, o sistema GoAgg aberto ao ar, com 8 mL de H₂O₂, forneceu os melhores rendimentos em produtos fenólicos e piridínicos, até 100 mg e 400 mg, respectivamente. Para o sistema GoChAgg, os resultados foram inferiores. A massa de resíduo de destilação (1-3 g), tanto para o sistema GoAgg quanto para o GoChAgg, para as duas ligninas, é tipicamente maior do que a massa de lignina utilizada, evidenciando reações de acoplamento entre as ligninas e o solvente. Sob atmosfera inerte, variando-se o tempo de pré-tratamento e a quantidade de H₂O₂, utilizou-se conjuntamente sais de Fe e Cu em proporções variadas para avaliar a existência de efeito sinérgico. Os melhores resultados para a lignina Organocell, obtidos em sistemas com 8 mL de H₂O₂ e relação molar Fe/Cu de 0,5:0,5, foram de até 500 mg de produtos fenólicos e até 200 mg de produtos piridínicos, e para a lignina Acetosolv, nas mesmas condições, até 100 mg de produtos fenólicos e até 60 mg de produtos piridínicos.

Com a finalidade de minimizar a formação de produtos de acoplamento solvente-solvente, bem como lignina-solvente, empregaram-se outros solventes apróticos, porém os rendimentos foram inferiores. Os resultados obtidos mostram que este sistema não é adequado para o branqueamento de polpa celulósica, mas pode, com melhorias, ser utilizado na produção de fenóis, insumos para resinas fenólicas.

OXIDATIVE DEGRADATION OF LIGNINS

BY THE BIOMIMETIC GIF SYSTEM

Author: Marcello Moreira Santos

Supervisor: Prof. Dr. Ulf F. Schuchardt

Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas

Caixa Postal 6154 - 13084-100 - Campinas, SP.

SUMMARY

This study focuses on the possibility of using a methane mono-oxygenase model [Gif system, using iron(III) chloride (GoAgg) or copper(II) chloride (GoChAgg) in pyridine/acetic acid] for the oxidative degradation of lignins obtained by the Acetosolv (from *E. grandis*) and Organocell (from *P. sylvestris*) processes with hydrogen peroxide. The oxidative systems were applied to lignins refluxed in the solvents. The products were distilled, identified and semi-quantified by GC/MS. The distillation residues were analysed by infrared spectroscopy.

The reactions were performed for 6 h, changing the reactional atmosphere, the reflux time and the quantity of H_2O_2 . Phenolic compounds (mainly phenol, guaiacol and syringol) were obtained as degradation products. The formation of solvent-solvent coupling products, mainly bipyridyls, was also observed. For Organocell lignin, the best results were obtained with the GoAgg system, under an inert atmosphere with 2 mL of H_2O_2 , producing up to 100 mg of phenolic compounds and 70 mg of pyridinic compounds. For Acetosolv lignin, the GoAgg system and 8 mL of H_2O_2 open to air gave the best results (100 mg of phenolic and 400 mg of pyridinic products). With the GoChAgg system, the results were worse. The mass of the distillation residues (1-3 g), obtained from the two lignins with the GoAgg and GoChAgg system, is typically higher than the mass of the lignin used, showing that coupling reactions between the lignins and the solvent have occurred. Under an inert atmosphere, and different reflux times and H_2O_2 quantities, iron and copper salts were simultaneously used in several ratios in order to evaluate the existence of a synergistic effect. For Organocell lignin, the best results were obtained using 8 mL of H_2O_2 and a molar ratio of 0,5:0,5 for Fe/Cu (up to 500 mg of phenolic compounds and 200 mg of pyridinic products). Under the same conditions, up to 100 mg of phenolic products and 60 mg of pyridinic products were obtained for the Acetosolv lignin.

In order to minimize the formation of solvent-solvent and lignin-solvent coupling products, other aprotic solvents were used. However, the yields were worse. These results show that the Gif system is not adequate for bleaching cellulosic pulps, but it can be used for the production of phenols as feedstocks for phenolic resins.

INTRODUÇÃO

A biomassa pode ser definida como qualquer matéria de origem vegetal e renovável.[1] Pode-se dividi-la, quanto à origem, em duas classes de vegetais: os vegetais não-madeira, genericamente fibras ou gramíneas (*Graminae*), destacando-se, no Brasil, o bambu e a cana de açúcar, e os vegetais madeira. Os vegetais madeira são classificados em madeiras duras, grupo das dicotiledôneas arbóreas (*Angiospermae*), também conhecidas como folhosas (porosas ou "hardwood") e madeiras moles, grupo das coníferas (*Gymnospermae*), também conhecidas como resinosas (não-porosas ou "softwood"). Como exemplo de madeira dura temos o eucalipto, e de madeira mole, o pinheiro.[2]

A madeira é a principal matéria-prima para pastas celulósicas e papel. Ela é constituída de componentes macromoleculares, como todo material lignocelulósico, além de compostos de baixa massa molecular, chamados extrativos.[3] Nas madeiras, os componentes constituintes macromoleculares se distribuem da seguinte maneira: celulose (de 40 a 45%), hemicelulose (de 20 a 30%) e lignina (de 20 a 30%).[4]

Dentre as variadas maneiras de extração dos constituintes da madeira destaca-se a polpação, que pode ser definida como o processo de separação das fibras da madeira, pelo uso de energia química ou mecânica,[5] para a obtenção de polpa celulósica, fornecendo o papel como produto final. Neste processo, bem como em outros, são obtidas grandes quantidades residuais de lignina.[6]

1. Lignina

A lignina tem como função servir de sustentação entre as fibras polissacarídicas, proporcionar resistência mecânica, atuar no transporte de nutrientes, metabólitos e água, diminuir a permeabilidade das fibras à água e proteger o vegetal do ataque enzimático.[7]

De acordo com o conceito normalmente aceito, a lignina pode ser definida como um material amorfo, polifenólico, obtido por polimerização desidrogenativa iniciada por enzimas a partir de três precursores primários: 1) álcool *trans*-p-cumarílico (álcool propenilidroxifenílico), 2) álcool *trans*-coniferílico (álcool propenilguaiacílico) e 3) álcool *trans*-sinapílico (álcool propenilsiringílico)[8] (Figura 1).

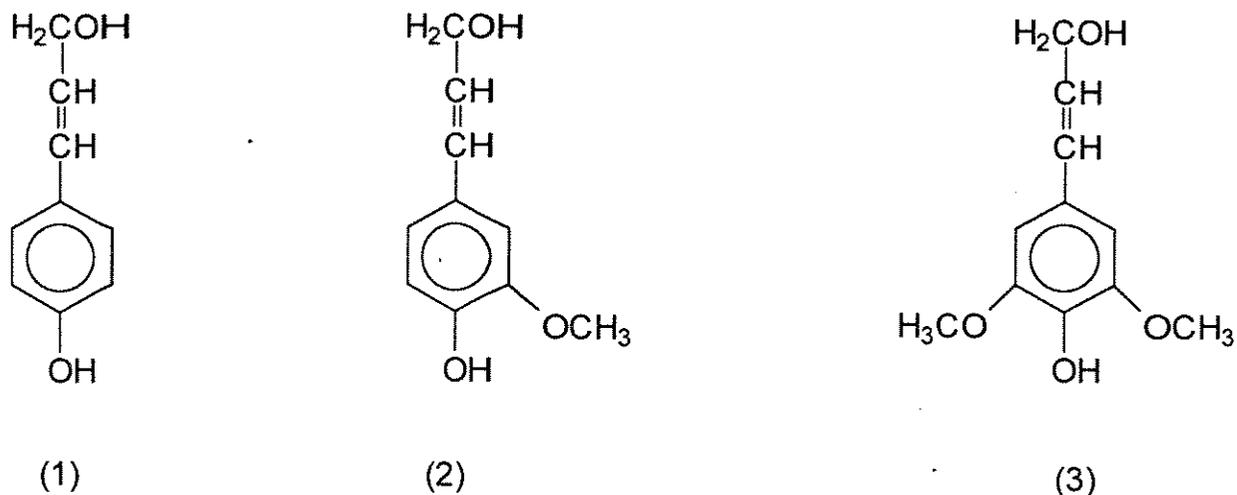


Figura 1- Precursores da lignina

(1) álcool p-cumarílico, (2) álcool coniferílico e (3) álcool sinapílico

A primeira etapa na formação da macromolécula de lignina é a desidrogenação enzimática dos precursores pela transferência de um próton e a abstração de um elétron, resultando na formação de radicais fenóxi, estabilizados por dispersão do elétron não emparelhado no anel aromático. Das espécies mesoméricas, apenas as espécies I, II, e V (Figura 2), estão realmente envolvidas na biossíntese, já que as reações das espécies III e IV são estericamente impedidas ou termodinamicamente desfavorecidas.^[9] A primeira etapa na polimerização é a formação de dímeros (dilignóis), regida pelas diferentes densidades eletrônicas das ligações aril-éter do tipo β -O-4, observadas com maior frequência tanto em ligninas de madeiras duras como de madeiras moles.

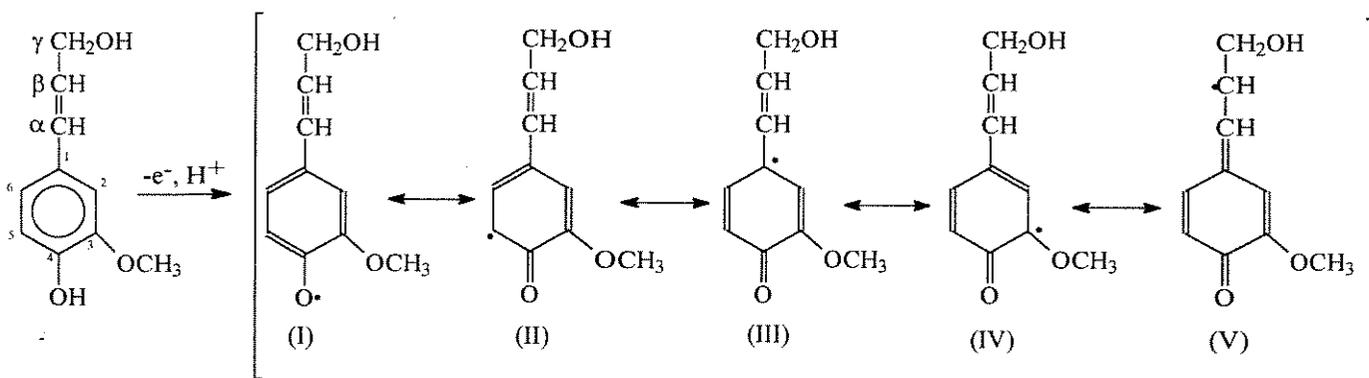


Figura 2 - Primeira etapa na formação da macromolécula de lignina, a partir do álcool coniferílico (precursor (2))

Alguns exemplos de acoplamento dos radicais do álcool coniferílico (Figura 2) para formar dilignóis estão na Figura 3.

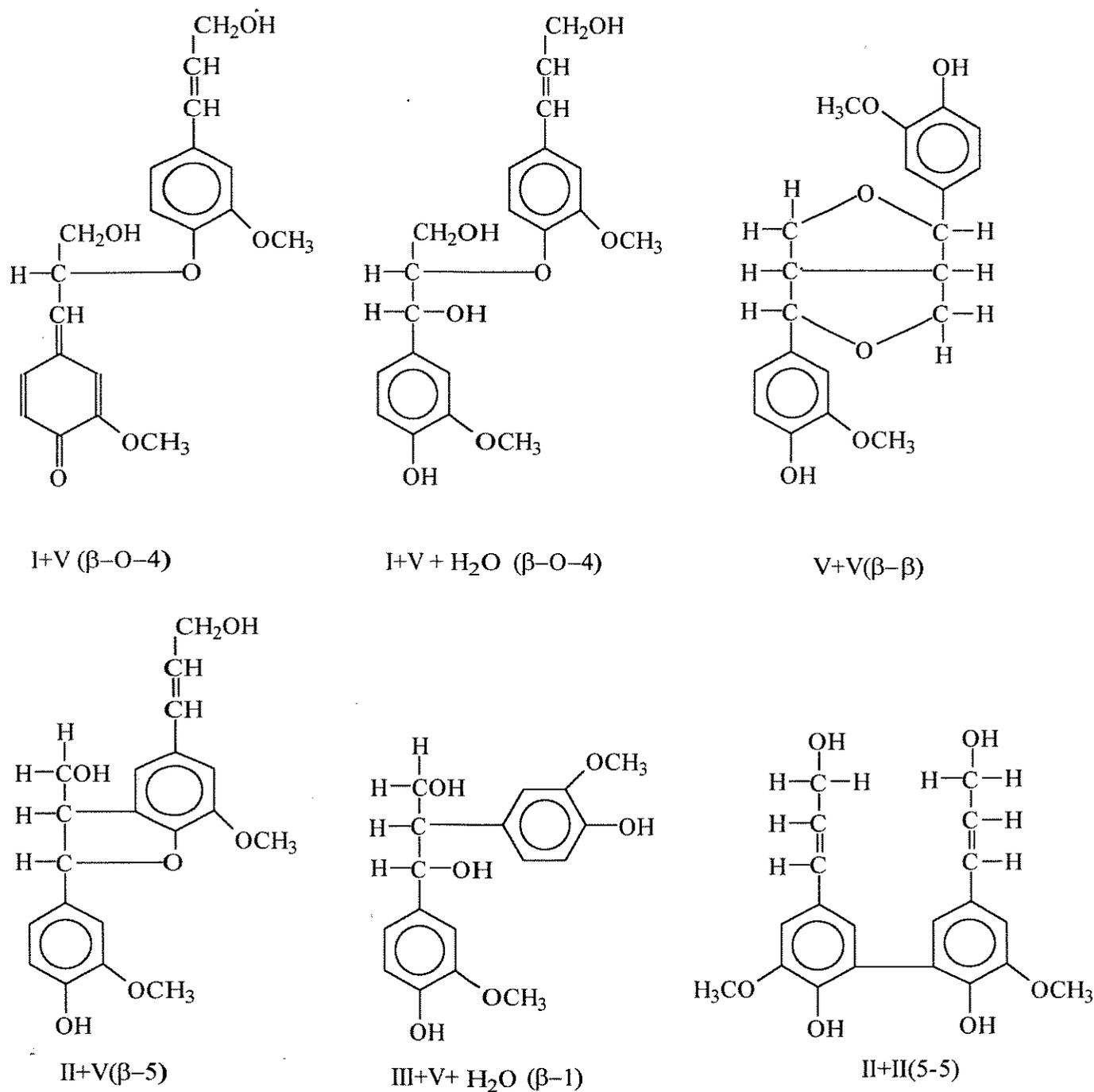


Figura 3 - Formação de dilignóis a partir do acoplamento dos radicais do álcool coniferílico (precursor (2)).

A polimerização continua, formando tri-, tetra-, pentalignóis, etc. até a formação da lignina, uma macromolécula bi e tridimensional.

A lignina é encontrada em todos os vegetais, porém sua constituição difere de espécie para espécie. Portanto, ela não deve ser considerada uma substância química única, mas sim uma classe de materiais correlatos.[4]

Normalmente, na lignina de madeira mole, conhecida como lignina guaiacilica, os elementos estruturais são derivados principalmente do álcool coniferílico (mais de 95%) e as unidades restantes derivadas do álcool p-cumarílico e traços derivados do álcool sinapílico.

Já a lignina de madeira dura, dita lignina guaiacil-siringilica, contém unidades derivadas dos alcóois coniferílico e sinapílico, em variadas proporções. As ligninas de gramíneas também são classificadas como ligninas guaiacil-siringilica; possuem, no entanto, pequenas mas significativas quantidades de unidades derivadas do álcool p-cumarílico.[8]

A Figura 4 apresenta o modelo proposto por Nimz[10] para a estrutura da lignina de folhosas (madeira dura).

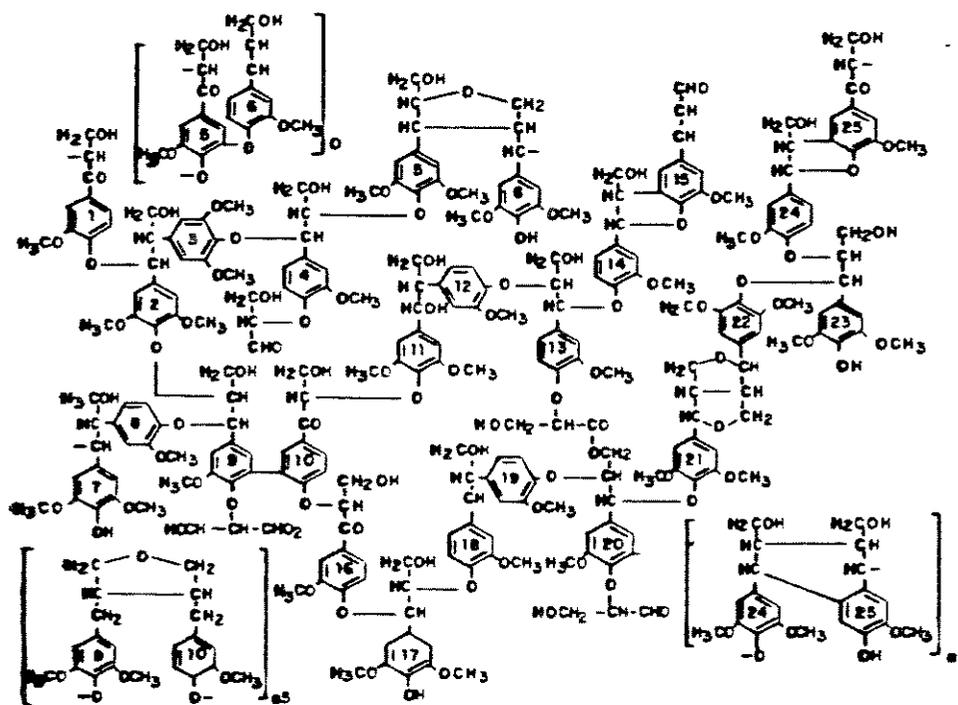


Figura 4 - Estrutura proposta por Nimz para lignina de folhosas[10].

2. Isolamento de Ligninas

Não há nenhum procedimento conhecido que permita a obtenção da lignina da mesma forma que ela se encontra no vegetal (protolignina), já que sempre há interferência entre o procedimento de isolamento e a estrutura da lignina. Existem três processos básicos para a obtenção de ligninas: por extração, isolamento como resíduo e isolamento como derivados.[11]

2.1. Isolamento por extração

Dependendo do processo de extração, a lignina obtida recebe uma denominação:

- Lignina nativa ou de Brauns:[11]

Extração exaustiva da madeira com etanol ou éter etílico e água, com rendimento de 2 a 4% em lignina.

- Lignina de madeira moída (MWL-"milled wood lignin") ou lignina Björkman:[11]

Moagem da madeira em moinho de bolas, sob atmosfera inerte, seguida de extração com mistura de solventes neutros aquosos, como dioxano ou acetona, com rendimento de aproximadamente 50%. Esta lignina é considerada a mais próxima da protolignina.

- Lignina obtida enzimaticamente:[11]

Extração da madeira com éter e água, seguida por digestão em cultura de fungos (glicosidase), que liberam a lignina dos polissacarídeos, com rendimento de 10 a 20%.

2.2. Isolamento como resíduo

Estes métodos baseiam-se na hidrólise dos polissacarídeos do vegetal deixando a lignina como resíduo.

- Com ácido mineral:[11]

Hidrólise ácida do material lignocelulósico. Dependendo do ácido empregado, a lignina obtida recebe uma denominação;

- Lignina Klason

- ácido sulfúrico concentrado

- Lignina Willstätter

- ácido clorídrico concentrado

- Lignina Runkel

- ácidos sulfúrico e bromídrico

- Lignina Fluorídrica

- ácido fluorídrico

- Lignina Trifluoroacética

- ácido trifluoroacético

- Com periodato:[11]

Os polissacarídeos, quando em contato com solução de periodato de sódio ($\text{Na}_3\text{H}_2\text{IO}_6$) em pH 4, são clivados e hidrolisados, deixando como resíduo a lignina denominada lignina Purves.

- Com hidróxido de cupramônio:[11]

Apesar dos polissacarídeos não serem completamente solúveis em solução de hidróxido de cupramônio, sua remoção é quase total quando se utiliza, alternadamente, hidrólise ácida e tratamento com solução básica de $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, deixando como resíduo a lignina denominada lignina Cuoxan.

2.3. Isolamento como derivados[11]

No tratamento químico do material lignocelulósico com certos reagentes, obtém-se derivados da lignina. Obtém-se lignina por hidrogenação, por reação com ácido tioglicólico e por polpação. A polpação pode ser efetuada da forma convencional, com reagentes inorgânicos ou com solventes orgânicos e catalisadores (polpação organosolv).

A lignina derivada da hidrogenação da madeira com hidrogênio molecular recebe a denominação de lignina de hidrogenólise, enquanto que a lignina derivada da reação da madeira com ácido tioglicólico (HSCH_2COOH) é conhecida como lignina tioglicólica.

As ligninas derivadas da polpação são subdivididas em dois grupos, sendo que as mais usuais são as derivadas da polpação com reagentes inorgânicos. Alguns exemplos são:

- | | |
|------------------------------------|---|
| - Lignina Sulfítica | - com SO_3 , HSO_3 |
| - Lignina-álcali | - com NaOH |
| - Tiolignina ou lignina sulfídrica | - com $\text{Na}_2\text{S}/\text{NaHS}$ |
| - Lignina Kraft | - com $\text{NaOH}/\text{Na}_2\text{S}$ |

O outro grupo são as derivadas dos processos organosolv de polpação, sendo exemplos:

- | | |
|----------------------|--|
| - Lignina dioxano | - com dioxano/ HCl |
| - Lignina fenólica | - com fenol/ HCl |
| - Lignina Organocell | - com MeOH/NaOH ou EtOH/NaOH |
| - Lignina Acetosolv | - com HOAc/HCl |

3. Aproveitamento de Ligninas

A partir de biomassa se produz industrialmente papel e açúcar. Como resíduo dos processos para obtenção destes produtos obtém-se lignina solúvel, por polpação, e sólida, como resíduo de hidrólise.[12]

Na indústria papelreira são obtidas principalmente dois tipos de lignina: lignina sulfítica (processo sulfito) e lignina Kraft (processo Kraft ou sulfato). Estas ligninas são utilizadas, normalmente, para a geração de energia e recuperação dos reagentes. Podem também ser purificadas e utilizadas como aglomerantes.^[13] Além destas utilizações, a lignina pode ser convertida em coque metalúrgico ou usada na forma de macromolécula para produção de surfactantes, adesivos, dispersantes e compensados.^[14]

Sendo uma macromolécula fenólica, a lignina pode ser degradada em produtos químicos de variados interesses. A Figura 5 apresenta as principais técnicas empregadas para a obtenção de insumos químicos a partir da lignina.^[15]

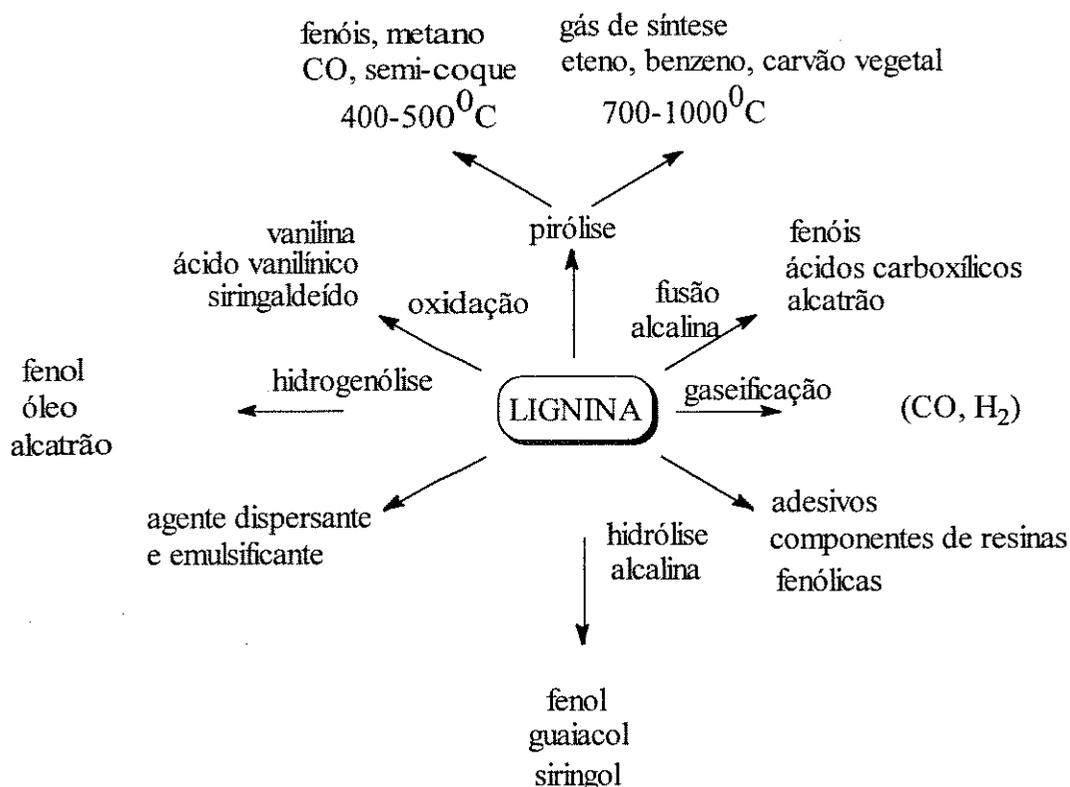


Figura 5 - Obtenção de insumos químicos a partir de ligninas.

Apesar das variadas maneiras de aproveitamento da lignina, sua utilização para a obtenção de insumos químicos requer considerável uso de energia e geralmente apresenta baixos rendimentos.^[16] A maior quantidade da lignina obtida industrialmente, e que não é utilizada para a geração de energia, é considerada rejeito. Como a degradação natural (enzimática por ligninases) é muito lenta, a lignina produzida torna-se um inconveniente.

4. Degradação de Ligninas

A lignina apresenta outro inconveniente na indústria papelreira. Na produção de polpa celulósica há uma quantidade considerável de lignina residual. Objetivando a melhora da pureza química e alvura das pastas celulósicas e conseqüentemente do papel, faz-se necessário o branqueamento das mesmas, que pode se dar pela degradação da lignina residual ou pela reação com seus grupos cromóforos, alterando-os.[17]

Os processos empregados para o branqueamento utilizam, quase que na sua totalidade, agentes clorados (principalmente Cl_2 e ClO_2). Nestes processos, ocorre a formação, mesmo que em pequenas quantidades, de compostos aromáticos clorados (clorofenóis) e dioxina, que são compostos altamente tóxicos.[18]

Outros métodos de branqueamento podem ser utilizados, como por exemplo sistemas enzimáticos (ligninases). Porém, estes métodos se mostram muito lentos.[10] Alternativamente pode-se utilizar métodos com oxigênio ativo (O_3 e H_2O_2), que já são empregados em pequena escala. Existe portanto, um grande interesse no estudo da degradação da lignina visando obter informações a seu respeito. Citamos as duas principais vias neste estudo: a degradação por reações químicas e a degradação enzimática.

4.1. Degradação de ligninas por reações químicas

Os métodos clássicos no estudo da degradação de ligninas proporcionaram uma melhor compreensão da sua estrutura.

4.1.1. Acidólise

O tratamento do material lignocelulósico com ácido (acidólise) era utilizado originalmente para o isolamento da lignina do material e como ferramenta analítica no estudo e determinação da ocorrência de estruturas β -O-4 e β -5 em lignina "pura".[19] A acidólise provoca a quebra seletiva de ligações arilglicerol- β -ariléter e de algumas outras ligações etéreas.[19] A caracterização dos produtos de acidólise de baixa massa molecular é um procedimento para a "determinação" da estrutura da lignina.

4.1.2. Oxidação com nitrobenzeno e oxidação com óxido cúprico

Nitrobenzeno

Na oxidação de lignina com nitrobenzeno, os produtos são aldeídos fenólicos, 4-hidroxibenzaldeído, siringaldeído e, principalmente, vanilina. Estudos com compostos modelo da lignina indicam que os aldeídos são derivados da degradação oxidativa das unidades 4-hidroxifenilpropanos e seus éteres, em particular das ligações, α -O-4 e β -O-4.[20]

Óxido cúprico

O sucesso na conversão de lignina à vanilina e seus análogos, por oxidação com nitrobenzeno, estimulou a busca de um processo economicamente viável de obtenção de vanilina. A utilização de óxido cúprico em meio básico apresentou resultados semelhantes aos obtidos com o nitrobenzeno, formando-se aldeídos fenólicos em menor quantidade e cetofenólicos em maior quantidade.[20]

4.1.3. Oxidação com permanganato

Muito do conhecimento atual sobre a estrutura de ligninas se deve a resultados obtidos por sua oxidação com permanganato. Esse método envolve a degradação seletiva de todas as cadeias alifáticas anexas aos grupos aromáticos da lignina, resultando na formação de uma mistura de ácidos carboxílicos fenólicos.[21] A identificação destes ácidos, bem como suas quantidades individuais, fornece informações sobre o padrão de substituição (de uma lignina em particular) e a frequência com que as ligações ocorrem entre as unidades fenilpropânicas.

4.1.4. Hidrogenólise

A hidrogenação é usada indiscriminadamente para descrever processos que envolvem reações com hidrogênio molecular. Nas reações características de hidrogênio com lignina, dois termos, definidos a seguir, podem ser empregados:

- Hidrogenação: adição de hidrogênio (H_2) numa ligação múltipla.
- Hidrogenólise: um processo de clivagem de ligação C-C ou C-heteroátomo, seguida pela reação com hidrogênio.

Dependendo das condições da reação e do catalisador, um destes processos (ou ambos), pode ocorrer na reação de hidrogênio com lignina.[22]

A hidrogenólise catalítica é um dos muitos métodos para a obtenção de efetivas e valiosas informações sobre a estrutura química da lignina, já que se tem a formação de mono, di, tri e olilignóis, sem a ocorrência de reações secundárias de condensação e polimerização.

4.1.5. Ozonização

Há muito tempo é conhecida a clivagem de ligações duplas e triplas carbono-carbono por ozônio.[23] A lignina é altamente reativa com ozônio à temperatura ambiente, degradando-se a compostos de baixa massa molecular. O uso extensivo de ozônio destrói os grupos aromáticos, enquanto mantém intacta as cadeias alifáticas da lignina. Os produtos obtidos são ácidos carboxílicos alifáticos. Quando se utiliza uma etapa de metilação na ozonização, os produtos são ésteres metílicos.[23]

4.2. Degradação enzimática

A multiplicidade das ligações inter-unidades e grupos funcionais, bem como a heterogeneidade da macromolécula, são as principais razões para a resistência da lignina com relação à degradação enzimática. A lignina não é um substrato uniforme o que facilitaria a biodegradação. Existem diferenças na degradação enzimática da lignina nas diferentes partes do vegetal, bem como na degradação de diferentes tipos de ligninas, de madeira dura (*Gymnospermae*), madeira mole (*Angiospermae*) e gramíneas (*Graminae*).^[24]

Os microrganismos (fungos e bactérias) desenvolvem intrincados mecanismos para a degradação da lignina. Apesar da degradação biológica da lignina ser estudada há bastante tempo, significativos progressos no seu entendimento só foram alcançados recentemente.^[10] Contudo, a complexidade química e bioquímica do processo não está completamente entendido. A degradação de ligninas, tanto por fungos quanto por bactérias, se dá por mecanismos oxidativos.^[25] A análise da lignina tratada com o fungo *Phanerochaete chrysosporum* indica que a lignina é degradada pela quebra das ligações β -ariléter e das cadeias fenilpropânicas entre os carbonos α e β . Uma degradação mais profunda leva à degradação oxidativa nas cadeias alílicas e à quebra do anel aromático. Reações redutivas também estão presentes nestes processos degradativos.^[26]

As enzimas lignina-peroxidase (ligninases), que são hemoproteínas, oxidam os anéis aromáticos não fenólicos da lignina a cátions radicalares. A formação de cátions radicalares é similar à biossíntese catalisada por peroxidases da lignina. Conseqüentemente, reações espontâneas dos cátions radicalares levam a uma variedade de produtos de degradação. Estas reações não específicas envolvem a quebra das ligações C_{α} - C_{β} e β -O-4, abertura do anel aromático, desmetilações, hidroxilações e descarboxilações.^[27]

5. Modelos Biomiméticos

O interesse no estudo de modelos biomiméticos, que imitam oxigenases, tem se desenvolvido por duas razões: fornecer uma base para o entendimento de oxidações enzimáticas e desenvolver sistemas catalíticos que, sob condições brandas, exibam alta seletividade, característica de oxidações enzimáticas.^[28]

Dentre os modelos biomiméticos oxidativos destacamos três classes: modelos porfirínicos de ferro ou manganês, modelos com heteropolíácidos (ou heteropolioxometais) e modelos com complexos solúveis (Sistema Gif).

5.1. Modelos porfirínicos

Enzimas contendo o grupo prostético heme catalisam seletivamente várias reações de oxidação com o mesmo metal de transição (ferro) e o mesmo ligante macrocíclico

(protoporfirina IX). Contudo, em modelos químicos pode-se utilizar diferentes metais e ligantes para se obter uma boa seletividade.

Oxidações biológicas catalisadas por enzimas heme podem ser classificadas em: oxigenação do substrato orgânico catalisada pelo citocromo P-450; oxidações catalisadas por peroxidases; halogenações oxidativas catalisadas por cloroperoxidases e oxidações catalisadas por catalase.[29]

Na reação de oxigenação ocorre a incorporação de um (monooxigenase) ou dois (dioxigenase) átomos de oxigênio no substrato, enquanto na reação de oxidação há uma abstração de elétrons (1, 2 ou 4) do substrato e a transferência destes para o oxidante. Se oxigênio molecular é o oxidante de 1, 2 ou 4 elétrons, a oxidação gera o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio ou água, respectivamente. Se peróxido de hidrogênio é o "cofator enzimático" em um processo de 2 elétrons, há geração de água.

Dentre os modelos porfirínicos ilustramos alguns tipos: 1) iodosobenzeno como doador de um átomo de oxigênio e tetrafenilporfirina (TPP) de ferro como catalisador. Este sistema, apesar de ativo, apresenta o problema do catalisador ser rapidamente destruído no meio reacional, por ataque oxidativo ao ligante porfirínico; 2) modelos com a substituição da tetrafenilporfirina por porfirinas polialogenadas (mais resistentes ao ataque oxidativo); 3) modelos com a substituição da fonte de oxigênio, iodosobenzeno, por outras mais simples, para porfirinas de ferro e manganês, utilizando hipocloritos ou óxidos de aminas; 4) modelos porfirínicos que utilizam peróxido de hidrogênio ou oxigênio molecular como fonte de oxigênio.[30] Os modelos porfirínicos para substituir ligninases tem peróxido de hidrogênio como fonte de oxigênio e porfirinas de ferro ou manganês cloradas nas posições 2 e 6 dos grupos fenílicos. A Figura 6 apresenta a estrutura da ferro-porfirina clorada nas posições 2,6 dos grupos fenílicos.

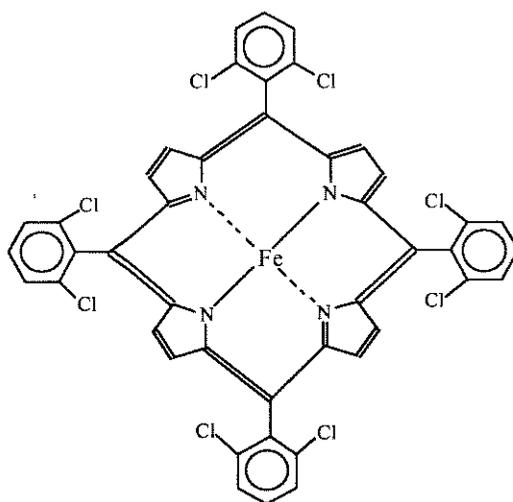


Figura 6 - Estrutura do ferrotetra (2,6-diclorofenil) porfirina

5.2. Modelos com heteropoliácidos

Com a descoberta que ligninases (fungos ou bactérias) são heme peroxidases, uma variedade de sistemas biomiméticos para a degradação de ligninas tem sido preparadas com complexos porfirínicos halogenados solúveis em água. Contudo, estes materiais sintéticos são caros e suscetíveis à degradação oxidativa.

Na busca de catalisadores "oxidativamente robustos", de fácil preparo, baratos e não tóxicos, foram considerados os heteropoliácidos que se enquadraram nestas especificações. Complexos contendo vanádio misturado a heteropoliácidos, tais como vanadiofosfomolibdatos ($\text{Na}_{5-x}\text{H}_x[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]$), podem ser usados diretamente como oxidantes. Na substituição do metal de transição dos heteropoliácidos, estes podem ser vistos como análogos inorgânicos das metaloporfirinas, podendo ser usados como catalisadores na presença de peróxido de hidrogênio ou outros doadores de oxigênio. O branqueamento de polpa celulósica, pela degradação oxidativa da lignina, está sendo estudado com este modelo de vanadiofosfomolibdato.[31]

5.3. Modelos de complexos solúveis - sistema Gif

Um modelo químico denominado Gif, que imita a metano-monooxigenases, foi descoberto por Barton et al.[32], em 1983. O sistema biomimético consistia inicialmente de ferro em pó como catalisador e fonte de elétrons, oxigênio molecular, piridina e ácido acético (ou outro ácido carboxílico) como solvente, além de sulfeto de sódio (Gif^{I}) ou sulfeto de hidrogênio (Gif^{II}), obtendo-se uma ligação ferro-enxofre (Fe-S), como no citocromo P-450. Contudo, foi demonstrado que a ligação Fe-S não é necessária, pois o papel do sulfeto é apenas de ativar a superfície do ferro para o ataque ácido, e que o aquecimento a 40°C já é suficiente para a ativação do sistema (Gif^{III}).[33]

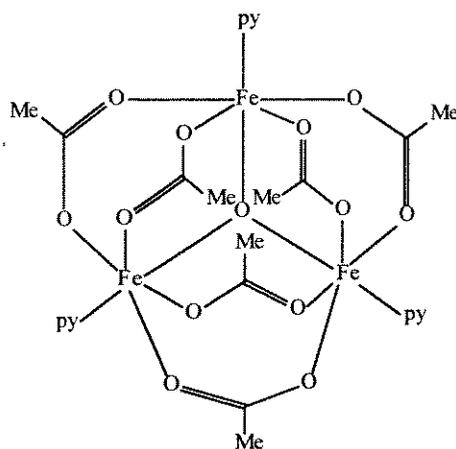


Figura 7 - Estrutura do *Cluster* - "hexacetato de tripiridina μ_3 -oxo ferro(II) diferro(III)

O complexo solúvel $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}(\text{OAc})_6(\text{py})_3]$ denominado *cluster*^[33] (Figura 7), resultante do tratamento de ferro em pó com piridina e ácido acético, na presença de zinco metálico com oxigênio, é capaz de realizar estas reações de oxidação (Gif^{IV}). No sistema Gif^{IV} , o zinco tem a função de reduzir o oxigênio molecular ao íon superóxido, que é a forma de oxigênio ativo no sistema.^[33]

Baseando-se na proposta que a espécie ativa nestes sistemas é um complexo oxoferro em alto estado de oxidação, semelhante à da metano-monooxigenase^[34], um novo sistema biomimético foi desenvolvido. Neste novo sistema o oxigênio molecular e o zinco foram substituídos por superóxido de potássio e o *cluster* (complexo do Gif^{IV}) por um sal simples de ferro(II), (GoAgg^{I}).^[32]

Como a reação do íon superóxido com Fe(II) forma hidroperoxoferro(III), foi proposto um novo sistema que utiliza peróxido de hidrogênio e um sal simples de ferro(III), que também forma hidroperoxoferro(III). Este sistema foi denominado GoAgg^{II} ^[32]. Contudo, este sistema apesar de ativo, se mostrou lento, necessitando a presença de ácido picolínico (Hpic) para o aumento da velocidade de reação. Entretanto, neste caso ocorre uma diminuição na eficiência e seletividade do sistema.^[35]

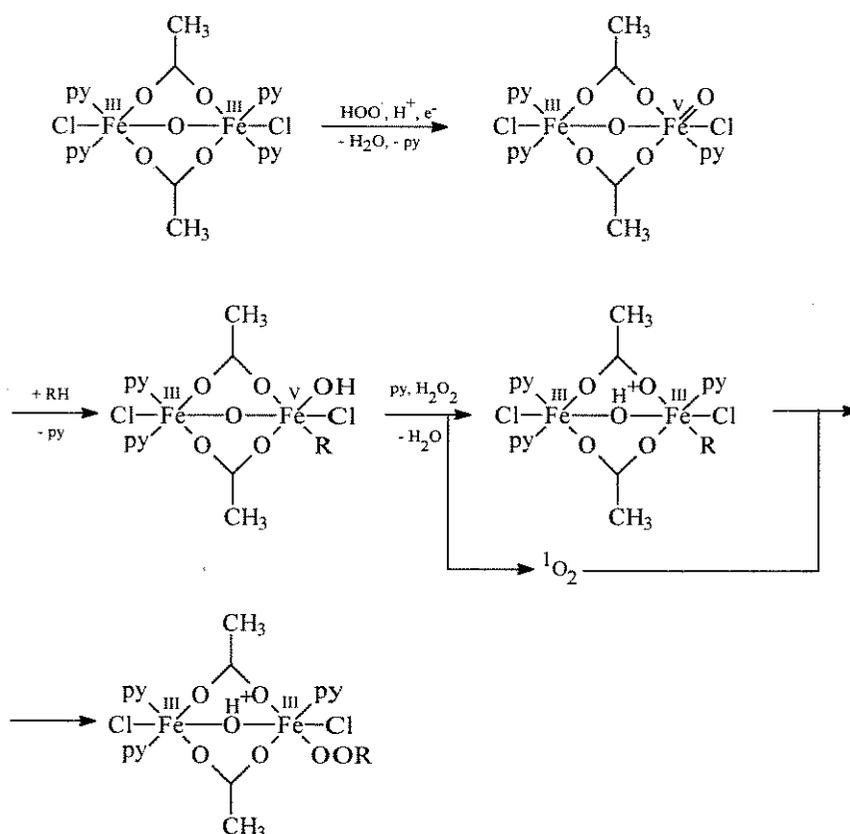


Figura 8 - Mecanismo proposto para o Sistema GoAgg^{II}

O mecanismo proposto implica a formação de um espécie μ -oxodiferro, que reage com peróxido de hidrogênio, levando a oxidação de Fe(III) a Fe(V). O complexo de ferro(V) interage com o substrato RH e, em seguida, com peróxido de hidrogênio, havendo a concomitante redução do Fe(V) a Fe(III) e formação de oxigênio singlete, que se insere na ligação Fe-C, formando peróxido, que a leva à oxidação do substrato.[36](Figura 8)

Há sistemas biológicos que possuem cobre ao invés de ferro. Por isso foi proposto um novo sistema, GoChAgg,[38] que utiliza cloreto cúprico em substituição ao cloreto férrico. Este sistema se mostrou ativo na oxidação seletiva, mesmo na presença de até 20% de água.[39]

OBJETIVOS

Na indústria papeleira, o branqueamento de pastas celulósicas tem como função a melhora da pureza química e, evidentemente, a alvura. O branqueamento se dá pela degradação da lignina residual das pasta celulósicas ou pela sua reação com seus grupos cromóforos. Os processos mais utilizados para a obtenção de pasta celulósica (sulfato ou Kraft e sulfito), empregam para seu branqueamento, quase que na sua totalidade, agentes clorados (principalmente Cl_2 e ClO_2). Nestes processos mais usuais há o inconveniente da formação de efluentes tóxicos contendo uma grande variedade de compostos aromáticos clorados, inclusive dioxina. Métodos alternativos de branqueamento utilizando oxigênio ativo (O_3 e H_2O_2) têm sido estudados e empregados. Outro alvo de estudo é a utilização de sistemas enzimáticos (ligninases). Porém, este método se mostrou muito lento.

O objetivo deste trabalho é utilizar um modelo de metano-monooxigenase na degradação oxidativa de ligninas e avaliar a possibilidade de futuramente este método ser empregado no branqueamento de pastas celulósicas. O modelo a ser utilizado será o sistema Gif (usando cloreto férrico (GoAgg) ou cúprico (GoChAgg) e peróxido de hidrogênio em piridina/ácido acético), variando-se a atmosfera reacional, tempo de pré-tratamento (refluxo) do substrato e quantidade de H_2O_2 , com o intuito de adequar o sistema para a degradação de ligninas. Após a adequação do sistema, a fim de verificar a existência de efeito sinérgico empregaremos sais de ferro e cobre conjuntamente, uma vez que sistemas enzimáticos contendo Fe e Cu são cataliticamente mais ativos.

Por fim, testaremos outros solventes apróticos em substituição à piridina e determinaremos o "pH" de todos os solventes utilizados, para verificar a influência do solvente e de seu pH na reatividade e seletividade do sistema.

Com as informações obtidas, pretendemos colaborar para a compreensão dos mecanismos da degradação de ligninas e discernir se a possibilidade de emprego da proposta inicial é válida.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Procedência das Ligninas e dos Reagentes

1.1. Ligninas

As ligninas utilizadas foram: Acetosolv, obtida pelo processo de polpação acetosolv da madeira de eucalipto (*Eucalyptus grandis*), preparada por nosso grupo de pesquisa, e Organocell, obtida pelo processo de polpação organocell da madeira de pinheiro (*Pinus sylvestris*), fornecida pela Organocell GmbH, Munique, Alemanha.

1.2. Reagentes

Os reagentes foram utilizados na forma que se encontravam, sem prévio tratamento. Contudo, a pureza dos solventes e reagentes foi verificada por cromatografia gasosa.

- piridina p.a. - Merck
- ácido acético glacial 100% p.a. - Merck
- ácido clorídrico 37,5% p.a. - Merck
- cloreto férrico p.a. - Ecibra
- cloreto cúprico p.a. - Carlo Erba
- ácido picolínico p.a. - Aldrich
- acetona p.a - Merck
- acetonitrila p.a. - Riedel-de Haën
- dimetilformamida p.a. - Synth
- dimetilsulfóxido p.a. - Merck
- *tert*-butanol p.a. - Merck
- peróxido de hidrogênio 30% - Carlo Erba

2. Procedimentos Gerais

Todos os experimentos foram realizados em quatro etapas básicas: pré-tratamento (refluxo) da lignina seguida de filtração a vácuo; aplicação dos sistemas oxidativos à temperatura ambiente por 6 h; obtenção dos produtos voláteis por destilação a vácuo, com pesagem das massas dos voláteis e do resíduo sólido obtidos; análise dos produtos destilados em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (CG/EM) e análise dos resíduos de destilação por espectroscopia no infravermelho. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e os resultados obtidos é a média dos dois experimentos.

Foram definidos: massa de lignina dissolvida (m_{lig}), como a diferença da massa de lignina inicial e as massas retidas nas filtrações, após o pré-tratamento e após a aplicação do sistema oxidativo; massa de produtos fenólicos (m_{fen}), calculada a partir da massa de destilados, utilizando os produtos qualificados e semi-quantificados por CG/EM; massa de produtos piridínicos (m_{pir}), calculada a partir da massa de destilados, utilizando os produtos qualificados e semi-quantificados por CG/EM, massa de acoplamento solvente-solvente (m_{solv}), calculada da mesma maneira que m_{fen} e m_{pir}; massa de resíduo da destilação (m_{res}), obtida por pesagem do resíduo sólido final da destilação; reatividade, relacionada com a quantidade de produtos fenólicos obtidos (m_{fen}); e seletividade, definida como a relação entre a massa de fenólicos e massa de piridínicos $s = m_{fen}/m_{pir}$ (para outros solventes = m_{fen}/m_{solv}).

3. Pré-tratamento

Em um balão de 100 mL, adicionou-se 1,0 g de lignina (organocell ou acetosolv) e solvente (28 mL de piridina/5 mL de HCl 1M (HOAc) ou 5 mL de HOAc, 33 mL de piridina, outros solventes na relação molar 4:1 com HOAc (5 mL de HOAc)). Refluxou-se a mistura por 2, 10 ou 15 h. Após o resfriamento, a mistura foi filtrada a vácuo. Determinou-se, por pesagem, a massa de substrato não dissolvido.

4. Sistemas Oxidativos

4.1 Sistema GoAgg aberto ao ar

A Tabela I apresenta as condições dos experimentos realizados:

Tabela I

Variação da composição do solvente, tipo de lignina, quantidade de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e presença de ácido picolínico (Hpic - 1 mmol) em sistema com 1 g de lignina, 2 h de pré-tratamento e 1mmol de cloreto férrico.

organocell	acetosolv	Hpic	H ₂ O ₂ (mL)	solvente 28:5 (v/v) (mL)
1-O	1-A	1mmol	4x2	py:HCl 1M (HOAc)
2-O	2-A	1mmol	4x2	py:HOAc
3-O	3-A	sem	4x2	py:HCl 1M (HOAc)
4-O	4-A	sem	4x2	py:HOAc
5-O	5-A	sem	2	py:HCl 1M (HOAc)
6-O	6-A	sem	2	py:HOAc

Em um Erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 1mmol (270,3 mg) de cloreto férrico e, em alguns casos, 1 mmol (123,1 mg) de ácido picolínico. Transferiu-se a solução do pré-tratamento e adicionou-se a quantidade de peróxido de hidrogênio indicada, quatro vezes 2 mL com intervalo de 1h e 30 min para cada adição, ou 2 mL apenas uma vez, agitando-se o sistema magneticamente por 6h à temperatura ambiente.

4.2 Sistema GoAgg sob atmosfera de argônio

A Tabela II apresenta as condições de realização dos experimentos:

Tabela II

Varição da composição do solvente, tipo de lignina, quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e tempo de pré-tratamento em sistema com 1g de lignina e 1mmol de cloreto férrico

organocell	acetosolv	pré-tratamento (h)	H_2O_2 (mL)	solvente 28:5 (v/v) (33 mL)
7-O	7-A	2	1	py:HCl 1M (HOAc)
8-O	8-A	2	1	py:HOAc
9-O	9-A	2	2	py:HCl 1M (HOAc)
10-O	10-A	2	2	py:HOAc
11-O	11-A	10	1	py:HCl 1M (HOAc)
12-O	12-A	10	1	py:HOAc

Em um Erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 1 mmol (270,3 mg) de cloreto férrico. Transferiu-se as soluções do pré-tratamento e purgou-se o sistema com argônio. Com o auxílio de uma seringa, adicionou-se peróxido de hidrogênio (1 ou 2 mL) e agitou-se o sistema magneticamente por 6h à temperatura ambiente.

4.3. Sistema GoChAgg aberto ao ar

A Tabela III apresenta as condições de realização dos experimentos:



Tabela III

Variação da composição do solvente, tipo de lignina e quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em sistema com 1g de lignina, 2 h de pré-tratamento, 1mmol de cloreto cúprico

organocell	acetosolv	H_2O_2 (mL)	solvente 28:5 (v/v) (mL)
13-O	13-A	4x2	py:HCl 1M (HOAc)
14-O	14-A	4x2	py:HOAc
15-O	15-A	4x2	py
16-O	16-A	2	py:HCl 1M (HOAc)
17-O	17-A	2	py:(HOAc)
18-O	18-A	2	py

Em um Erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 1 mmol (140,7 mg) de cloreto cúprico. Transferiu-se as soluções do pré-tratamento, adicionou-se peróxido de hidrogênio (H_2O_2 4 vezes 2 mL, com intervalo de 1h e 30 min para cada adição, ou apenas uma vez 2 mL) e agitou-se magneticamente o sistema por 6h à temperatura ambiente.

4.4. Sistema GoChAgg sob atmosfera de argônio

A Tabela IV apresenta as condições de realização dos experimentos:

Tabela IV

Variação da composição do solvente, tipo de lignina, quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e tempo de pré-tratamento em sistema com 1g de lignina e 1mmol de cloreto cúprico.

organocell	acetosolv	pré- tratamento (h)	H_2O_2 (mL)	solvente 28:5 (v/v) (mL)
19-O	19-A	2	1	py: HCl 1M (HOAc)
20-O	20-A	2	1	py: HOAc
21-O	21-A	2	1	py
22-O	22-A	2	2	py: HCl 1M (HOAc)
23-O	23-A	2	2	py:HOAc
24-O	24-A	2	2	py
25-O	25-A	10	1	py: HCl 1M (HOAc)
26-O	26-A	10	1	py:HOAc
27-O	27-A	10	1	py

Em um Erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 1 mmol (140,7 mg) de cloreto cúprico, transferiu-se as soluções do pré-tratamento e purgou-se o sistema com argônio. Adicionou-se 1 ou 2 mL de peróxido de hidrogênio, agitando-se o sistema magneticamente por 6h à temperatura ambiente.

5. Avaliação de Efeito Sinérgico

Foram feitos experimentos com diferentes proporções de cloretos férrico e cúprico. A Tabela V apresenta as condições dos experimentos.

Nos experimentos 28-O a 34-O e 28-A a 34-A, procedeu-se da seguinte maneira: em um balão de 100 mL refluxou-se 1g de lignina em 28 mL de piridina e 5 mL de ácido acético por 2 h. Filtrou-se a mistura a vácuo e determinou-se a massa de substrato não dissolvido por diferença. Em um Erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se a solução filtrada, e as quantidades de sais de ferro e cobre especificadas na Tabela. Purgou-se o sistema com argônio, adicionou-se 2 mL de peróxido de hidrogênio (20 mmol) e agitou-se magneticamente o sistema por 6 h à temperatura ambiente.

Nos experimentos 35-O a 41-O e 35-A a 41-A seguiu-se o mesmo procedimento, com a diferença de se adicionar 4 vezes 2 mL de peróxido de hidrogênio em intervalos de 1 h e 30 min para cada adição, perfazendo um total de 8 mL.

Nos experimentos 42-O a 48-O e 42-A e 48-A também seguiu-se o procedimento normal, mas com um tempo de refluxo de 15 h, adicionando-se somente 2 mL de H₂O₂.

Tabela V

Relação Fe/Cu empregada nos experimentos para avaliação de efeito sinérgico

# O e A	# O e A	# O e A	Fe:Cu (mmol)	Fe (mg)	Cu (mg)	Fe:Cu
28	35	42	0:1	0,00	140,70	0:1
29	36	43	0,25:1	54,06	112,56	0,2:0,8
30	37	44	0,5:1	90,10	93,80	0,33:0,66
31	38	45	1:1	135,15	70,35	0,5:0,5
32	39	46	1:0,5	180,20	46,90	0,66:0,33
33	40	47	1:0,25	216,24	28,14	0,8:0,2
34	41	48	1:0	270,30	0,00	1:0

sendo: # O e A = número dos experimentos com as ligninas Organocell e Acetosolv

6. Solventes Apróticos

A piridina utilizada nos sistemas GoAgg, GoChAgg e Fe-Cu foi substituída pelos seguintes solventes: acetona, acetonitrila (MeCN), dimetilformamida (dmf), dimetilsulfóxido

(dmsO) e terc-butanol (*t*-BuOH). A quantidade de cada solvente utilizado, para que se mantivesse a mesma relação molar usada no sistema piridina/ácido acético (4:1), está na Tabela VI.

Tabela VI

Varição do tipo de lignina, tipo e quantidade do solvente empregado

Organocell	Acetosolv	Solvente	(mL) solvente com 5 mL de HOAc
49-51	49-51	acetona	26
52-54	52-54	MeCN	18
55-57	55-57	DMF	27
58-60	58-60	DMSO	25
61-63	61-63	<i>t</i> -BuOH	33

A Tabela VII apresenta as condições empregadas nestes experimentos. Sob atmosfera de argônio, foram utilizados 1,0 g de lignina, 1mmol (270,3 mg) de cloreto férrico, 5 mL de ácido acético e quantidades de solventes da Tabela VI.

Tabela VII

Condições experimentais alteradas nos sistemas com Fe-Cu e sistemas com diferentes solventes.

refluxo (h)	H ₂ O ₂ (mL)
2	2
2	4x2
15	2

7. Obtenção dos Produtos

Após a reação, as misturas reacionais foram transferidas para um balão de 125 mL e o solvente retirado por evaporação, obtendo-se um óleo cuja massa determinou-se por pesagem. Para a obtenção dos produtos voláteis, montou-se um sistema de destilação curta a pressão reduzida (Figura 9). O óleo foi aquecido no balão de 125 mL, sob vácuo de 0,1 mmHg, e coletado em um balão tipo Schlenk de 125 mL, resfriado em nitrogênio líquido. A temperatura foi elevada na taxa de 2°C min⁻¹ até 185 ±5°C. As massas de voláteis e de resíduos foram determinadas por pesagem.

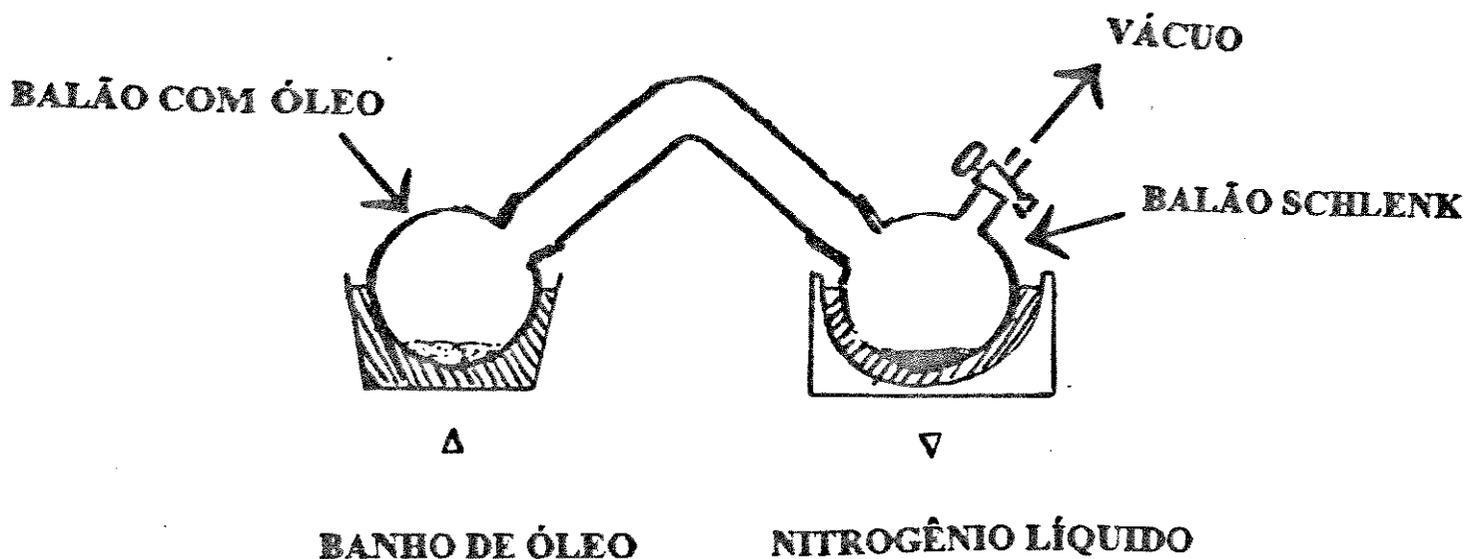


Figura 9 - Esquema de destilação curta a pressão reduzida

8. Análise

Os voláteis obtidos foram analisados num cromatógrafo a gás (HP 5890 Série II), acoplado a um espectrômetro de massas (HP 5970B), com coluna capilar de 25 m x 0,2 mm, HP-1. As condições de análise estão na Tabela VIII.

Tabela VIII - Condições de análise CG/EM

Parâmetros	Condições
Temperatura do injetor	250°C
Temperatura da interface	280°C
Fluxo do gás de arraste (He)	1 mL min ⁻¹
Fluxo de purga do septo	5 mL min ⁻¹
Razão de divisão da amostra	1/35
Programa de temperatura (rampa)	3 min a 40°C 40°C até 150°C (4°C min ⁻¹) 150°C até 250°C (10°C min ⁻¹)
Energia de ionização	70 eV

Os resíduos da destilação foram analisados por espectroscopia no infravermelho, em pastilha de KBr, utilizando um espectrômetro Perkin Elmer, M-80, SPECORD.

9. Determinação do "pH" dos Solventes Utilizados

Determinou-se o "pH" dos solventes utilizados: piridina, piridina/HOAc (28:5, v/v), piridina/HCl 1M (HOAc) (28:5, v/v), acetona/HOAc (26:5, v/v), acetonitrila/HOAc (18:5, v/v), dimetilformamida/HOAc (27:5, v/v), dimetilsulfóxido/HOAc (25:5, v/v) e terc-butanol/HOAc (33:5, v/v), segundo o procedimento descrito abaixo:

Prepararam-se e padronizaram-se [40] soluções de HCl 1N e NaOH 1N. A partir destas soluções prepararam-se soluções diluídas de 0,5; 0,25; 0,1; 0,05 e 0,01 N. A cada 2 mL dos solventes foi adicionado 2 mL das soluções ácidas ou básicas e medido o "pH". Estes pontos foram plotados e por extrapolação estimou-se os valores de "pH" dos solventes.

10. Testes de Controle

Para confirmar se o sistema biomimético realmente estava ativo, realizaram-se testes em todas as condições experimentais. Efetuou-se em alguns casos as reações sem peróxido de hidrogênio, somente com o catalisador (sal de ferro e/ou de cobre) e em outros casos, sem o catalisador, mas com peróxido de hidrogênio, nas proporções experimentais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Aspectos Gerais.

Foram utilizadas as ligninas: "Acetosolv", obtida pelo processo de polpação acetosolv, da madeira de eucalipto e "Organocell", obtida pelo processo de polpação organocell, da madeira de pinheiro.

Inicialmente foram utilizados os sistemas oxidativos diretamente sobre as ligninas, e observou-se que 50 a 70% da massa de lignina não se dissolvia. Não foram detectados produtos de oxidação, mas apenas produtos de acoplamento piridínicos (dipiridilas) e grande massa de resíduo. Desta maneira, tornou-se necessário uma etapa de pré-tratamento visando melhorar a dissolução das ligninas, antes de se empregar o sistema oxidativo. O pré-tratamento utilizado consiste de um simples refluxo das ligninas com os solventes, sendo observada uma dissolução de 70 a 95% da massa das ligninas.

A Figura 10 apresenta os espectros no infravermelho das ligninas Acetosolv e Organocell e a Tabela IX apresenta as principais bandas de absorção das ligninas

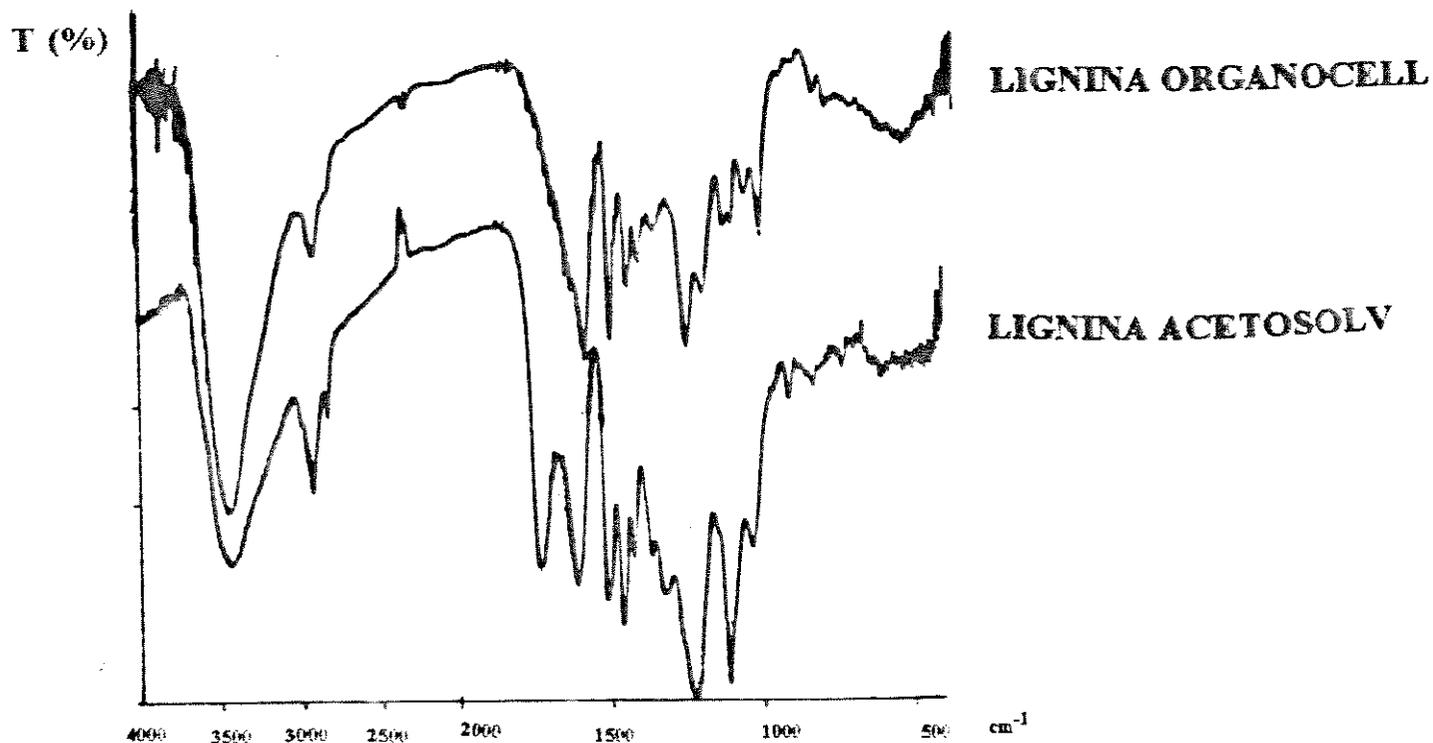


Figura 10 - Espectros no IV das Ligninas Acetosolv e Organocell

Tabela IXAtribuição das principais bandas de absorção das ligninas na região do infravermelho^[4]

Região (cm ⁻¹)	Atribuição
3400-3450	Estíramento OH
2920-3020	Estiramento CH em grupos metila e metilênicos
2850	Estiramento CH de grupos aromáticos
1710	Estiramento C=O de cetonas não conjugadas e grupos carboxílicos
1670	Estiramento C=O de cetonas conjugadas
1610	Vibrações de anéis aromáticos fortemente substituídos por grupos carbonílicos
1530 e 1605	Estiramentos de carboxilatos
1500	Vibrações do esqueleto aromático
1460	Deformação assimétrica de grupos CH ₃
1420	Vibrações do esqueleto aromático em ligninas
1400	Deformação simétrica de grupos CH ₃
1360	Estiramento COR em ésteres e éteres
1325	Pulsção do anel siringílico com estiramento C—O
1280	Pulsção do anel guaiacílico com estiramento C—O
1145	Deformação CH (aromático-guaiacil) no plano
1110	Estiramento C—OH em álcool, COR em éteres alifáticos e deformação CH (aromático) no plano
1070	Deformação C—O em álcoois secundários
1030	Deformação CH (aromático-guaiacil) no plano e deformação C—O em álcoois primários
810-820	Deformação CH (aromático)
710-770	Deformação CH (aromático) fora do plano

Comparando-se os espectros no infravermelho para as duas ligninas, observa-se que há semelhança entre eles, tendo como diferença principal, além da intensidade de absorção, a banda em 1715 cm⁻¹, observada no espectro da lignina Acetosolv, que é atribuída ao estiramento C=O de grupos carboxílicos, comprovando que a lignina Acetosolv é acetilada, devido ao método de polpação, enquanto que a Organocell não sofre esta esterificação.

2. Sistemas Oxidativos "Convencionais"

Utilizamos os sistemas convencionais GoAgg^{II} e GoChAgg, que têm maior embasamento dentre os sistemas aqui estudados. Foram realizadas várias alterações nestes sistemas, com o intuito de otimizá-los. Comparou-se os resultados obtidos, de acordo com estas alterações introduzidas.

2.1 Sistema GoAgg

O sistema GoAgg^{II} aberto ao ar é constituído de cloreto férrico hexaidratado (FeCl₃.6H₂O), py/HOAc 4:1 (mol:mol), peróxido de hidrogênio (H₂O₂ -30%), sendo que o substrato normalmente é um hidrocarboneto. Fizeram-se as seguintes alterações: a) alteração do solvente, utilizando py/HOAc e py/solução de HCl 1M em HOAc, b) variação da quantidade de peróxido de hidrogênio (1, 2 e 4x2 mL de H₂O₂), c) alteração da atmosfera reacional de aberto ao ar para atmosfera inerte e d) aplicação do sistema GoAgg^{III}, quando é acrescentado 1 mmol de ácido picolínico (Hpic) ao sistema GoAgg^{II} alterado pelos parâmetros acima citados. A Tabela X apresenta os resultados comparativos da influência da atmosfera reacional.

Tabela X

Influência da atmosfera reacional sobre o sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de FeCl₃.6H₂O, 2 h de pré-tratamento, 2 mL de H₂O₂, solvente py:HCl 1M (HOAc) 4:1, reação durante 6 h.

Lignina	Atmosfera	#	m _{lig} (g)	m _{res} (g)	m _{fen} (mg)	m _{pir} (mg)	s
ORGANOCELL	aberta ao ar	5-O	0,82	1,2	24,4	18,2	1,3
	inerte	9-O	0,79	1,3	17,1	1,6	10,7
ACETOSOLV	aberta ao ar	5-A	0,95	1,3	14,1	8,1	1,7
	inerte	9-A	0,90	1,1	6,6	3,9	1,7

sendo: m_{lig} = massa de lignina dissolvida, m_{res} = massa de resíduo de destilação, m_{fen} = massa total de produtos fenólicos, m_{pir} = massa total de produtos de acoplamento piridinico e s = seletividade (s = m_{fen}/m_{pir}).

A massa de lignina dissolvida corresponde à diferença entre as massas de lignina de entrada (1,0 g) e as massas retidas nas filtrações após o refluxo e após a aplicação dos sistemas oxidativos. A lignina Acetosolv apresentou maior dissolução do que a lignina Organocell nestes experimentos iniciais. A massa de resíduo de destilação é normalmente maior do que a massa

de substrato e, conseqüentemente, maior do que a massa de lignina dissolvida, demonstrando que há acoplamento substrato-solvente. A massa de produtos fenólicos é a massa de produtos da degradação das ligninas para compostos de baixa massa molecular, tais como: fenol, guaiacol, siringol, etilfenol, etilguaiacol, metilfenol, metilguaiacol, etc, além de fragmentos de olilignóis.

Na Tabela X também se pode observar que a lignina Organocell é mais reativa, levando a uma maior quantidade de produtos fenólicos, e que o sistema sob atmosfera inerte é mais seletivo ($s = 10,7$, enquanto que para o sistema aberto ao ar esse valor é de apenas 1,3). Para a lignina Acetosolv o sistema aberto ao ar é mais reativo, mas a seletividade não depende da atmosfera ($s = 1,7$).

A comparação dos sistemas GoAgg^{III} (com Hpic) e GoAgg^{II} (sem Hpic) está apresentada na Tabela XI.

Tabela XI

Adição de ácido picolínico em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de FeCl₃.6H₂O, 2 h de pré-tratamento, 4x2 mL de H₂O₂, solvente py:HOAc 4:1, durante 6 h.

Lignina	Hpic	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	mpir (mg)	s
ORGANOCELL	1 mmol	2-O	0,82	2,9	23,4	85,2	0,3
	sem	4-O	0,89	2,1	78,9	385,2	0,2
ACETOSOLV	1 mmol	2-A	0,94	2,8	68,6	361,7	0,2
	sem	4-A	0,95	1,9	117,2	255,6	0,5

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos, mpir = massa total de produtos de acoplamento piridínico e s = seletividade ($s = mfen/mpir$).

A lignina Acetosolv apresenta melhor dissolução e maior quantidade de produtos de degradação do que a lignina Organocell. Na oxidação de hidrocarbonetos, utilizando-se o sistema GoAgg^{III}, ou seja, com ácido picolínico (Hpic), observou-se um aumento na velocidade da oxidação com uma diminuição da seletividade do sistema, sem significativa modificação na conversão^[37,41]. Quando empregado a ligninas, observa-se um aumento na massa de resíduo de destilação, indicando haver um aumento no acoplamento substrato-solvente ou um acoplamento substrato-solvente-Hpic. Para a lignina Organocell observa-se uma maior reatividade para o sistema sem Hpic e seletividade semelhante entre os dois sistemas; já para a lignina Acetosolv, há maior reatividade e seletividade para o sistema sem Hpic.

A Tabela XII apresenta a influência da quantidade de peróxido de hidrogênio nos experimentos.

Tabela XII

Variação da quantidade de H_2O_2 em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 2 h de pré-tratamento, solvente py:HOAc 4:1, durante 6 h.

Lignina	H_2O_2	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	mpir (mg)	s
ORGANOCELL	8 mL	4-O	0,89	2,1	78,9	385,2	0,2
	2 mL	6-O	0,70	1,1	8,2	12,9	0,6
ACETOSOLV	8 mL	4-A	0,95	1,9	117,2	255,6	0,4
	2 mL	6-A	0,95	1,3	16,4	3,3	5,0

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos, mpir = massa total de produtos de acoplamento piridinico e s= seletividade ($s = mfen/mpir$).

A lignina Acetosolv apresenta maior dissolução, maior quantidade de produtos fenólicos, é mais reativa e seletiva do que a lignina Organocell, para ambas as quantidades de H_2O_2 utilizadas. Observa-se que há um aumento significativo na quantidade de produtos de degradação com o aumento da quantidade de H_2O_2 empregada, ocorrendo também maior formação de produtos de acoplamento piridinico, isto é, o sistema se mostra mais reativo e menos seletivo.

A influência do solvente utilizado nos experimentos pode ser visualizada pelos resultados apresentados na Tabela XIII

Tabela XIII

Variação do solvente em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 2 h de pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O , 1 mmol de Hpic, durante 6 h.

Lignina	Solvente	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	mpir (mg)	s
ORGANOCELL	py/HCl(HOAc)	1-O	0,79	3,1	18,4	29,5	0,6
	py/HOAc	2-O	0,82	2,9	23,4	85,2	0,3
ACETOSOLV	py/HCl(HOAc)	1-A	0,93	2,6	57,8	363,0	0,2
	py/HOAc	2-A	0,94	2,8	68,6	361,7	0,2

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos, mpir = massa total de produtos de acoplamento piridinico e s= seletividade ($s = mfen/mpir$).

A solução de HCl 1M (HOAc) tem a função de diminuir a quantidade de produtos de sobre-oxidação ou de acoplamento solvente-solvente no sistema GoAgg^[37]. Em nosso caso, isto somente foi observado para a lignina Organocell, que apresenta reatividade semelhante e melhor seletividade com o emprego da solução de HCl 1 M (HOAc). Para a lignina Acetosolv não ocorreu uma diminuição na quantidade de produtos de acoplamento, independentemente do solvente utilizado, ou seja, a reatividade e a seletividade são próximas.

O tempo de pré-tratamento não influenciou significativamente os resultados obtidos, sendo que 2 h de refluxo se mostraram suficientes para a dissolução da lignina.

2.2. Sistema GoChAgg

Quase todas as alterações realizadas para o sistema GoAgg foram aplicadas para o sistema GoChAgg. As comparações destes parâmetros são mostradas a seguir.

A Tabela XIV apresenta os resultados obtidos variando-se a atmosfera reacional.

Tabela XIV

Varição da atmosfera reacional em sistema, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 h de pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2 e solvente py:HCl 1M (HOAc) 4:1, durante 6 h.

Lignina	Atmosfera	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	mpir (mg)	s
ORGANOCELL	aberta ao ar	16-O	0,90	1,0	15,4	32,1	0,5
	inerte	22-O	0,91	1,1	3,3	19,2	0,2
ACETOSOLV	aberta ao ar	16-A	0,92	1,1	9,1	25,7	0,4
	inerte	22-A	0,92	1,2	4,8	6,8	0,7

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos e mpir = massa total de produtos de acoplamento piridínico e s= seletividade ($s = \text{mfen}/\text{mpir}$).

Contrariamente ao sistema GoAgg, no sistema GoChAgg a lignina Organocell apresenta dissolução semelhante nos solventes empregados à da lignina Acetosolv. Similarmente ao sistema GoAgg, também se observa uma maior quantidade de produtos fenólicos e de acoplamento para o sistema aberto ao ar. Contudo, em comparação ao sistema GoAgg, este sistema é menos reativo e menos seletivo.

A influência da quantidade de peróxido de hidrogênio está apresentada na Tabela XV.

Tabela XV

Varição da quantidade de H_2O_2 em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 h de pré-tratamento, solvente py:HCl 1M (HOAc) 4:1, durante 6 h.

Lignina	H_2O_2	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	mpir (mg)	s
ORGANOCELL	8 mL	14-O	0,94	1,4	33,1	215,5	0,2
	2 mL	17-O	0,90	1,0	15,4	32,1	0,3
ACETOSOLV	8 mL	14-A	0,93	1,4	39,2	253,9	0,2
	2 mL	17-A	0,93	1,1	10,8	22,2	0,5

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos, mpir = massa total de produtos de acoplamento piridínico e s= seletividade ($s = \text{mfen}/\text{mpir}$).

As massas de lignina Acetosolv e Organocell dissolvidas apresentam valores mais próximos nestes experimentos, quando comparados com os sistemas GoAgg. O emprego de maior quantidade de peróxido de hidrogênio acarreta um aumento na massa de resíduo de destilação, indicando um maior acoplamento substrato-solvente. Além disso, observa-se uma maior quantidade de produtos fenólicos e maior quantidade de produtos de acoplamento piridínicos. Como no sistema GoAgg, a maior quantidade de H₂O₂ deixa o sistema mais reativo e menos seletivo.

A Tabela XVI apresenta os resultados obtidos no estudo da influência de diferentes solventes: py:HCl 1M (HOAc), py:HOAc e piridina pura.

Tabela XVI

Variação do solvente em sistema sob atmosfera inerte, contendo 1,0 g de lignina, 1mmol de CuCl₂.2H₂O, 2 h de pré-tratamento, 1 mL de H₂O₂, durante 6 h.

Lignina	Solvente	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	mpir (mg)	s
ORGANOCELL	py/HCl(HOAc)	19-O	0,85	1,0	17,0	31,7	0,5
	py/HOAc	20-O	0,88	1,1	11,1	25,3	0,4
	py	21-O	0,83	0,9	0,9	20,4	<0,1
ACETOSOLV	py/HCl(HOAc)	19-A	0,92	1,0	19,7	7,2	2,7
	py/HOAc	20-A	0,93	1,0	13,4	8,5	1,6
	py	21-A	0,93	1,1	0,7	5,7	0,1

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos, mpir = massa total de produtos de acoplamento piridínico e s = seletividade (s = mfen/mpir).

A massa de lignina Organocell dissolvida é ligeiramente menor do que a da lignina Acetosolv. A massa de resíduo de destilação, aproximadamente 1,0 g, demonstra que há acoplamento substrato-solvente, mas em menor proporção do que no sistema GoAgg. Pela quantidade de produtos fenólicos, observa-se que a lignina Acetosolv é um pouco mais reativa e bem mais seletiva do que a lignina Organocell. Ao contrário do sistema GoAgg, o emprego de py:HCl 1M (HOAc) como solvente fornece maiores quantidades de produtos fenólicos do que o de py:HOAc. A utilização de piridina pura leva a resultados muito baixos. Observa-se, também, que a reatividade do sistema está correlacionada com a solubilidade do sal de Cu(II) nos solventes, visto que CuCl₂ é mais solúvel em py/HCl 1M (HOAc) do que em py:HOAc e py, respectivamente.

Pelos resultados apresentados, o sistema GoAgg é mais efetivo do que o GoChAgg, o que pode ser observado na Tabela XVII.

Tabela XVII

Variação do catalisador em sistema aberto ao ar, contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de catalisador, 2 h de pré-tratamento, 4x2 mL de H₂O₂, solvente py:HOAc 4:1, durante 6 h.

Lignina	Catalisador	#	m _{lig} (g)	m _{res} (g)	m _{fen} (mg)	m _{pir} (mg)	s
ORGANOCELL	FeCl ₃ .6H ₂ O	4-O	0,89	2,1	78,9	385,2	0,2
	CuCl ₂ .2H ₂ O	14-O	0,94	1,4	33,1	215,5	0,2
ACETOSOLV	FeCl ₃ .6H ₂ O	4-A	0,95	1,9	117,2	225,6	0,5
	CuCl ₂ .2H ₂ O	14-A	0,93	1,4	39,2	253,9	0,2

sendo: m_{lig} = massa de lignina dissolvida, m_{res} = massa de resíduo de destilação, m_{fen} = massa total de produtos fenólicos, m_{pir} = massa total de produtos de acoplamento piridínico e s = seletividade.

A massa de lignina Organocell dissolvida é um pouco menor com a utilização de Fe(III), enquanto que para a lignina Acetosolv as massas são praticamente iguais para os dois sistemas. As massas de resíduo de destilação, produtos fenólicos e de acoplamento piridínicos são maiores quando utiliza-se Fe(III). Contudo, há uma menor proporção entre produtos fenólicos e produtos de acoplamento no sistema com Fe(III) quando comparada com o sistema com Cu(II), ou seja, o sistema com Fe(III) é mais reativo e seletivo do que o sistema com Cu(II).

Pode-se observar que, no sistema à base de Fe(III) a massa de lignina Acetosolv é maior do que a massa de lignina Organocell dissolvida. Isto se deve ao método de obtenção das mesmas. A lignina Acetosolv é obtida utilizando-se HOAc como solvente, enquanto que a lignina Organocell é obtida com etanol ou metanol. Sendo assim, é esperado que a lignina Acetosolv apresente maior dissolução nestes experimentos que utilizam py:HOAc como solvente.

Considerando-se as alterações realizadas para cada sistema, observa-se que: 1) a utilização do sistema aberto ao ar favorece a degradação das ligninas, porém há um aumento da quantidade de produtos de acoplamento piridínicos, aumento da reatividade com diminuição da seletividade; 2) a utilização de maior quantidade de peróxido de hidrogênio também provoca um aumento na quantidade de produtos fenólicos e de acoplamento, comprovada pelo aumento da quantidade detectada de produtos piridínicos, bem como pelo aumento na massa de resíduo, ou seja, produtos de acoplamento solvente-solvente e de acoplamento solvente-substrato, também há aumento da reatividade e diminuição da seletividade; 3) na alteração do solvente empregado observa-se que, para o sistema GoAgg a utilização de py:HOAc leva a melhores resultados, enquanto que para o sistema GoChAgg os melhores resultados são obtidos com o solvente py:HCl 1M (HOAc). Esta diferença pode ser explicada pela melhor dissolução do sal de cobre no solvente. Para o sal de ferro, não foi observada diferença de dissolução nos solventes empregados.

Sendo assim, as condições que favorecem a degradação das ligninas são: sistema aberto ao ar e utilização de maiores quantidades de peróxido de hidrogênio, fatores que nitidamente favorecem a ocorrência de reações radiculares. Esta idéia pode ser confirmada pelo fato do

aumento da quantidade de produtos de degradação sempre estar acompanhado pelo aumento da quantidade de produtos de acoplamento, aumento da reatividade e diminuição da seletividade.

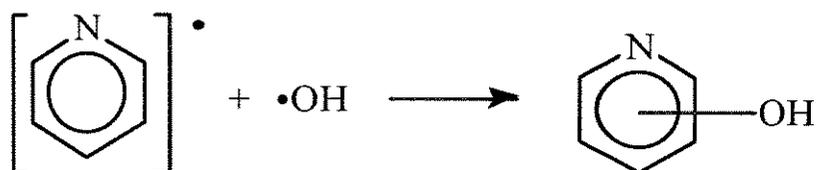
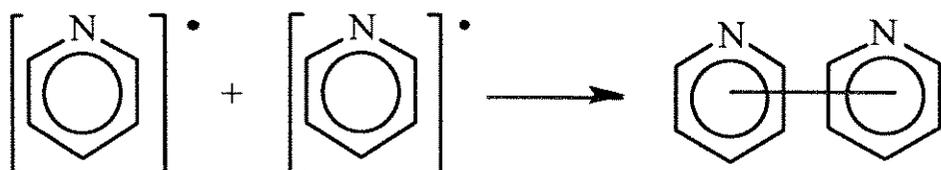
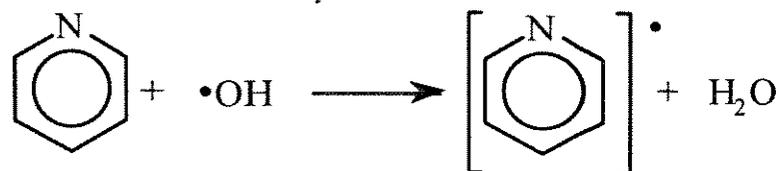
Os modelos Gif, quando aplicados a hidrocarbonetos, mostraram-se não radicalares.[37] Neste estudo, os fatores que notadamente aumentam a reatividade dos sistemas estão relacionados com o propiciamento de reações radicalares. A presença de Fe(III) ou Cu(II) e H₂O₂ deve propiciar a formação de radicais hidroxila (HO·), que levaria a uma variedade de produtos de reações radicalares, como exemplificado na Figura 11, para reações radicalares com piridina, com ácido acético e com lignina.

Todos estes produtos, típicos de reações radicalares, foram observados, principalmente e em maior quantidade nos experimentos com maior quantidade de H₂O₂ e sistema aberto ao ar. A Figura 12 apresenta o cromatograma do experimento 3-O, sistema GoAgg, com 8 mL de H₂O₂ aberto ao ar e py:HCl 1M (HOAc) 4:1 como solvente para a lignina Organocell, juntamente com os espectros de massas de dois picos relevantes, e a Figura 13 apresenta o cromatograma do experimento 4-A, sistema GoAgg, com 8 mL de H₂O₂, aberto ao ar e py:HOAc 4:1 como solvente, para a lignina Acetosolv, e os espectros de massas de três picos.

-ÁCIDO ACÉTICO



-PIRIDINA



- LIGNINA

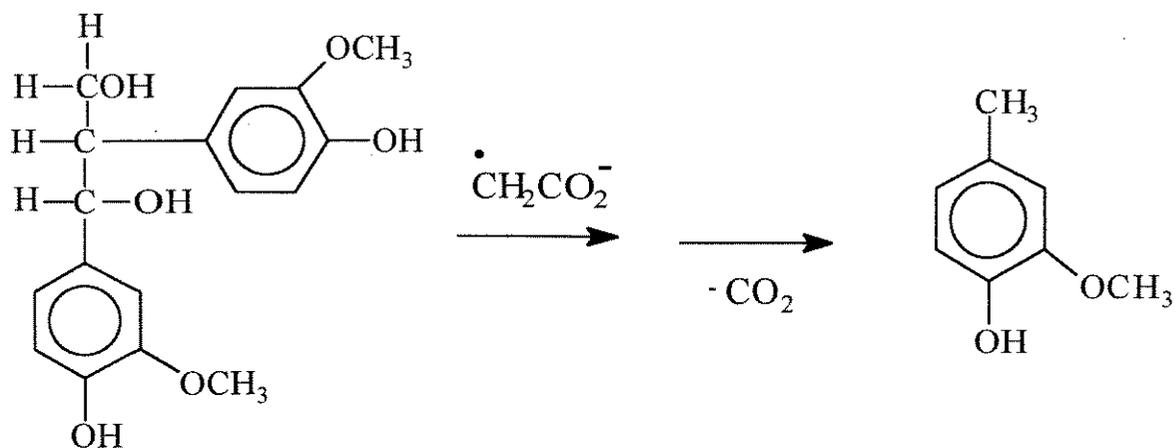


Figura 11 - Reações radicalares com radical hidroxila

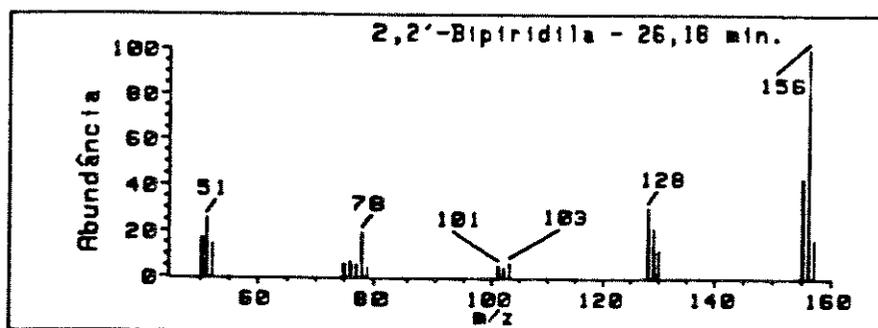
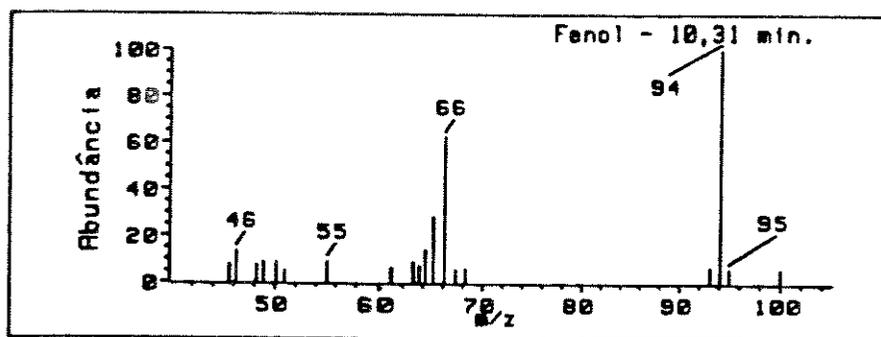
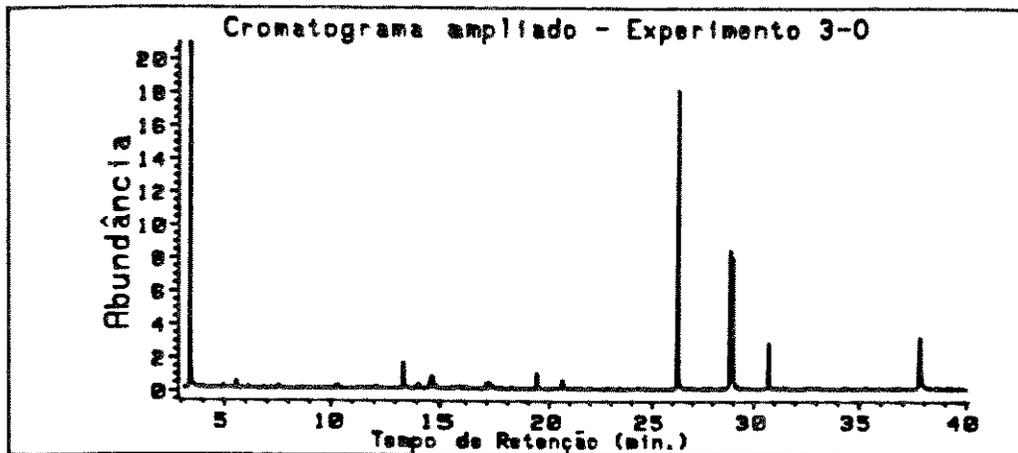


Figura 12- Cromatograma ampliado e espectros de massas de fenol e 2,2'-bipiridila para o experimento 3-O (Sistema GoAgg aberto ao ar, com 2 h de pré-tratamento, 8 mL de H₂O₂, py:HCl 1 M (HOAc) 4:1, aplicado à lignina Organocell)

A Tabela XVIII apresenta as atribuições dos principais picos do cromatograma da Figura 12.

Tabela XVIII

Atribuição dos compostos detectados por CG/EM no experimento 3-O.

#	Atribuição	m/z	t _R	I.S.	%
1	piridina	79	3,54	93	77,3
2	2-metilpiridina	93	4,91	68	0,5
3	fenol	94	10,31	87	0,3
4	fragmento	83	13,40	**	1,1
5	2-acetilpiridina	121	13,48	71	0,6
6	4-piridinona	95	14,64	76	0,4
7	fragmento	122	19,37	**	1,2
8	2,2'-bipiridila	156	26,18	90	12,1
9	2,3'-bipiridila	156	28,77	81	1,7
10	4,4'-bipiridila	156	28,89	85	1,4
11	4,4'-bipiridiléter	172	30,67	92	1,3
12	contaminação (oleato de metila)	292	37,77	99	2,2

sendo: # = número do pico, m/z = razão massa carga, t_R = tempo de retenção, I.S. = índice de similaridade

O I.S. (índice de similaridade) é dado pela comparação dos espectros experimentais com os espectros arquivados em banco de dados eletrônico.^[42] No caso de I.S. abaixo de 70 foram comparados os espectros de massas com o espectro padrão e verificado que a intensidade dos picos principais era semelhante.

Da massa de voláteis destilados (\cong 2,5 g), quase 80% corresponde ao solvente não evaporado. A massa de produtos de interesse (fenólicos) chega a 1,4%, e é uma quantidade razoável, considerando que o método de degradação é pouco drástico. Entretanto, nestas condições o sistema é pouco seletivo, levando à formação de aproximadamente 17% de produtos de acoplamento e sobreoxidação. Os fragmentos com m/z ímpar foram considerados como parte dos produtos fenólicos, pois são provenientes da clivagem de compostos fenólicos, mas não é possível sua qualificação por comparação com os espectros arquivados; os fragmentos com m/z par foram considerados como fragmentos da clivagem dos produtos piridínicos.

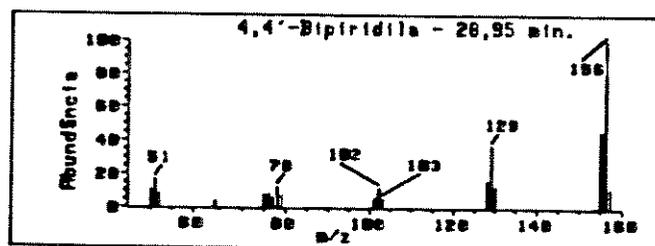
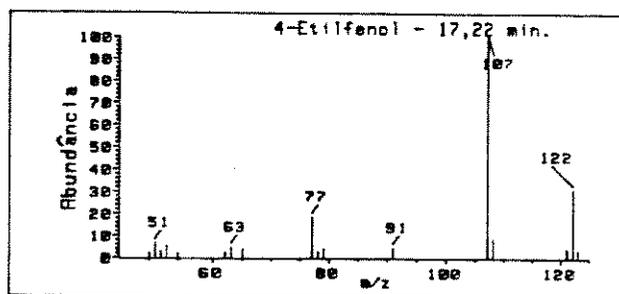
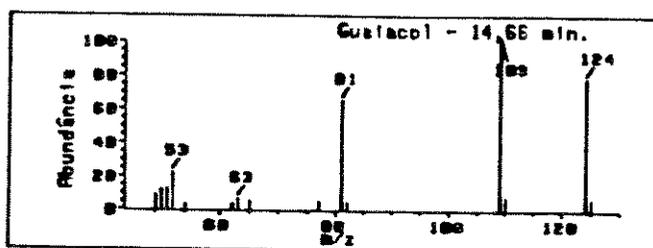
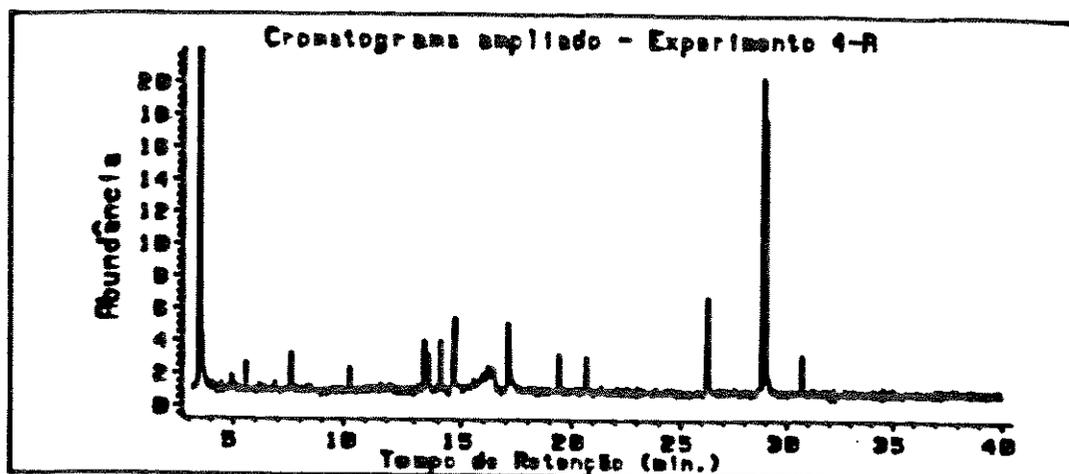


Figura 13 - Cromatograma ampliado e espectros de massas de guaiacol, 4-etilfenol e 4,4'bipiridilas para o experimento 4-A (Sistema GoAgg aberto ao ar, com 2 h de pré-tratamento, 8 mL de H₂O₂, py:HOAc 4:1, aplicado à lignina Acetosolv)

13. A Tabela XIX apresenta as atribuições dos principais picos do cromatograma da Figura

Tabela XIX

Atribuição dos compostos detectados por CG/EM no experimento 4-A

#	Atribuição	m/z	t _R	I.S.	%
1	piridina	79	3,41	91	85,4
2	fragmento	73	5,13	**	0,2
3	2-metilpiridina	93	5,71	63	0,2
4	4-metilpiridina	93	7,65	69	0,3
5	fenol	94	10,26	72	0,2
6	fragmento	83	13,42	**	0,6
7	4-metilfenol	108	14,13	59	0,1
8	guaiacol	124	14,66	82	2,4
9	fragmento	109	16,59	**	1,0
10	4-etilfenol	122	17,22	71	0,5
11	fragmento	122	19,56	**	0,2
12	hidroquinona	110	20,78	83	0,2
13	2,2'-bipiridila	156	26,07	89	1,5
14	4,4'-bipiridila	156	28,95	92	6,3
15	4,4'-bipiridiléter	172	30,72	85	0,9

sendo: # = número do pico, m/z = razão massa carga, t_R = tempo de retenção, I.S. = índice de similaridade

Da mesma maneira que no experimento com a lignina Organocell, a massa de solvente não evaporado é alta. Contudo, nota-se a maior reatividade do sistema para esta lignina, a formação de guaiacol como produto fenólico principal, e maior variedade de produtos fenólicos.

Normalmente a massa de resíduo de destilação no final do processo é maior do que a massa de substrato inicial, 1,0 g, demonstrando haver acoplamento entre o solvente e o substrato. Para efeito comparativo, as Figuras 14 e 15 apresentam os espectros no infravermelho dos resíduos de destilação, bem como das ligninas Organocell e Acetosolv, para os sistemas GoAgg e GoChAgg, aberto ao ar e sob atmosfera inerte

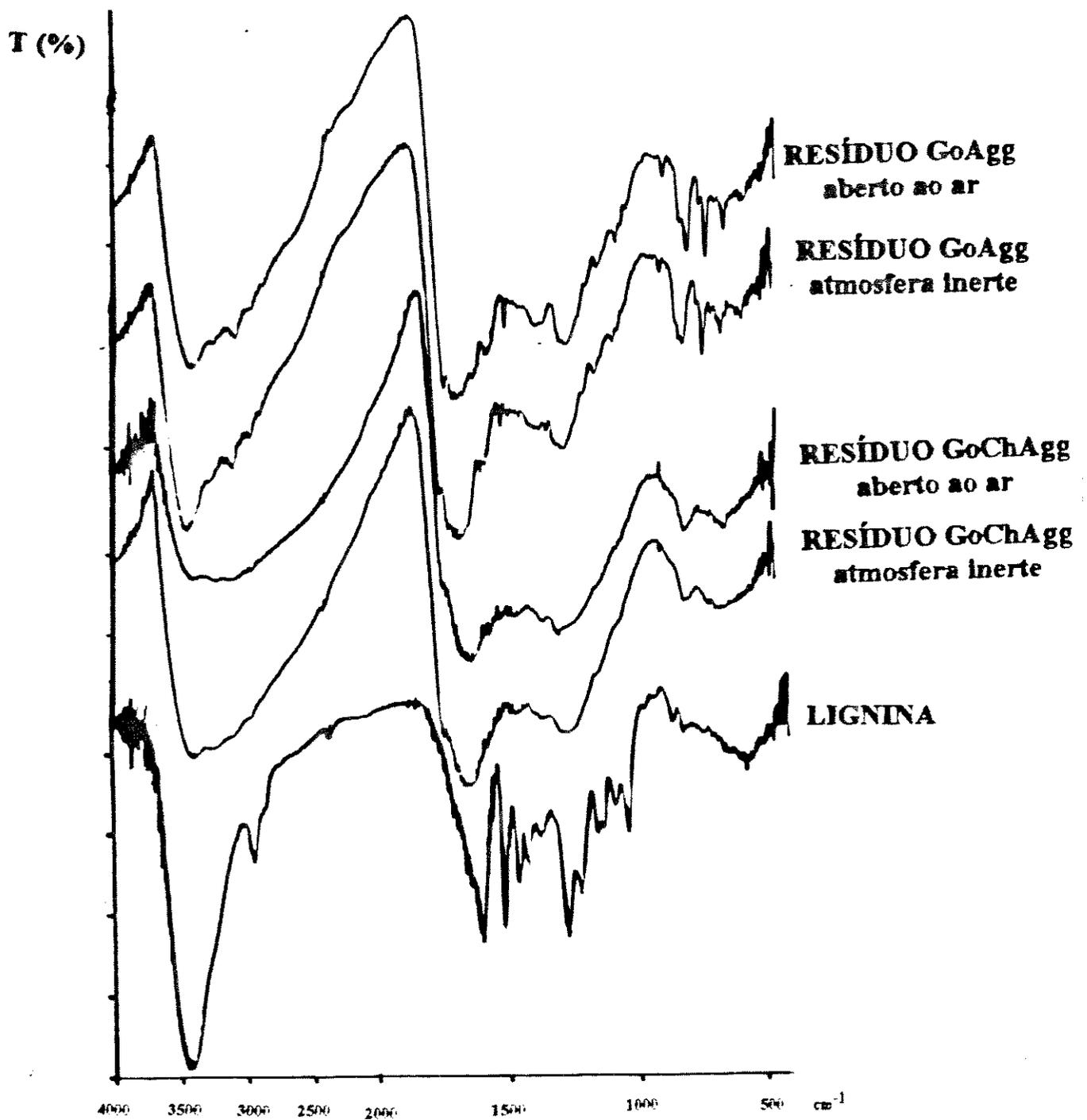


Figura 14 - Espectros no IV da lignina Organocell e resíduos de destilação para os sistemas GoAgg e GoChAgg sob atmosfera inerte e aberto ao ar.

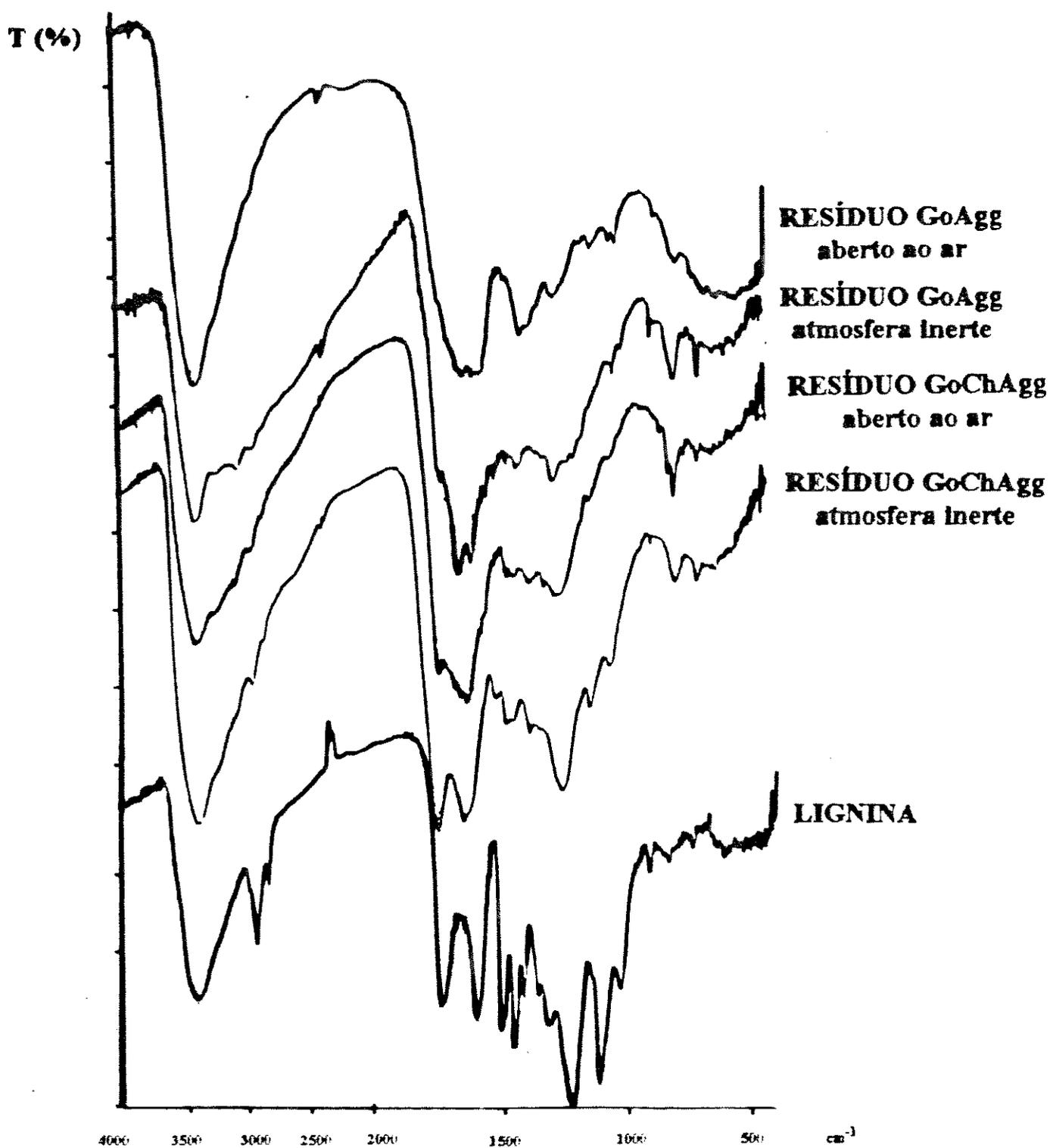


Figura 15 - Espectros no IV da lignina Acetosolv e resíduos de destilação para os sistema GoAgg e GoChAgg sob atmosfera inerte e aberto ao ar

Na Figura 14 (lignina Organocell) observa-se que os espectros no IV dos resíduos são semelhantes entre si e diferentes do espectro da lignina. Esta diferença se deve ao acoplamento substrato-solvente, ou seja, lignina-piridina. As diferenças são mais acentuadas nos espectros dos resíduos do sistema GoAgg, bem como nos sistemas abertos ao ar. Na Figura 15, para a lignina Acetosolv, assim como na Figura 14, os espectros no IV dos resíduos apresentam diferenças quando comparados com o espectro da lignina. Também se observaram diferenças mais acentuadas para os espectros dos resíduos com Fe (GoAgg) e para os espectros dos resíduos dos sistemas abertos ao ar, indicando que o aumento de reações radiculares favorece o acoplamento substrato-solvente.

Notadamente, as diferenças entre os espectros no IV padrão das ligninas e os dos resíduos são o alargamento da banda entre 3400-3450 cm^{-1} (estiramento OH), e a descaracterização das bandas entre 1670-1710 cm^{-1} (estiramento de grupos carboxílicos). Como as principais bandas para a piridina, 3020-3070 cm^{-1} (estiramento de ligação =CH), 1550-1580 cm^{-1} (estiramento de ligação C=N) e 1200 cm^{-1} (deformação no anel de ligação CH) não são observadas nos resíduos, sugere-se que o acoplamento substrato-solvente se dê pela inserção de piridina nos centros mais ativos da lignina, ou seja, nos oxigênios fenólicos e centros carboxílicos.

3. Utilização de Sais de Ferro e Cobre Conjuntamente

Pelos resultados anteriores, tanto o sistema à base de ferro, como o sistema à base de cobre se mostraram ativos, apesar da pequena quantidade de produtos fenólicos formados, e da baixa seletividade dos sistemas. Desta forma, procurou-se aumentar a reatividade dos sistemas empregando-se sais de ferro e cobre conjuntamente, procurando-se avaliar a existência de um efeito sinérgico. Foram realizados experimentos com diferentes proporções de ferro e cobre, em três diferentes condições experimentais: 2 mL de H_2O_2 e 2 h de pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2 e 2 h de pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2 e 15 h de pré-tratamento, todos sob atmosfera inerte (visto que, o sistema sob atmosfera inerte é mais seletivo havendo menor quantidade de produtos de acoplamento piridínicos), com py:HOAc (4:1, mol:mol) como solvente. A média dos resultados dos experimentos feitos em duplicata para cada ponto dos gráficos estão no apêndice.

A Figura 16 apresenta o gráfico obtido para os experimentos com lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂.

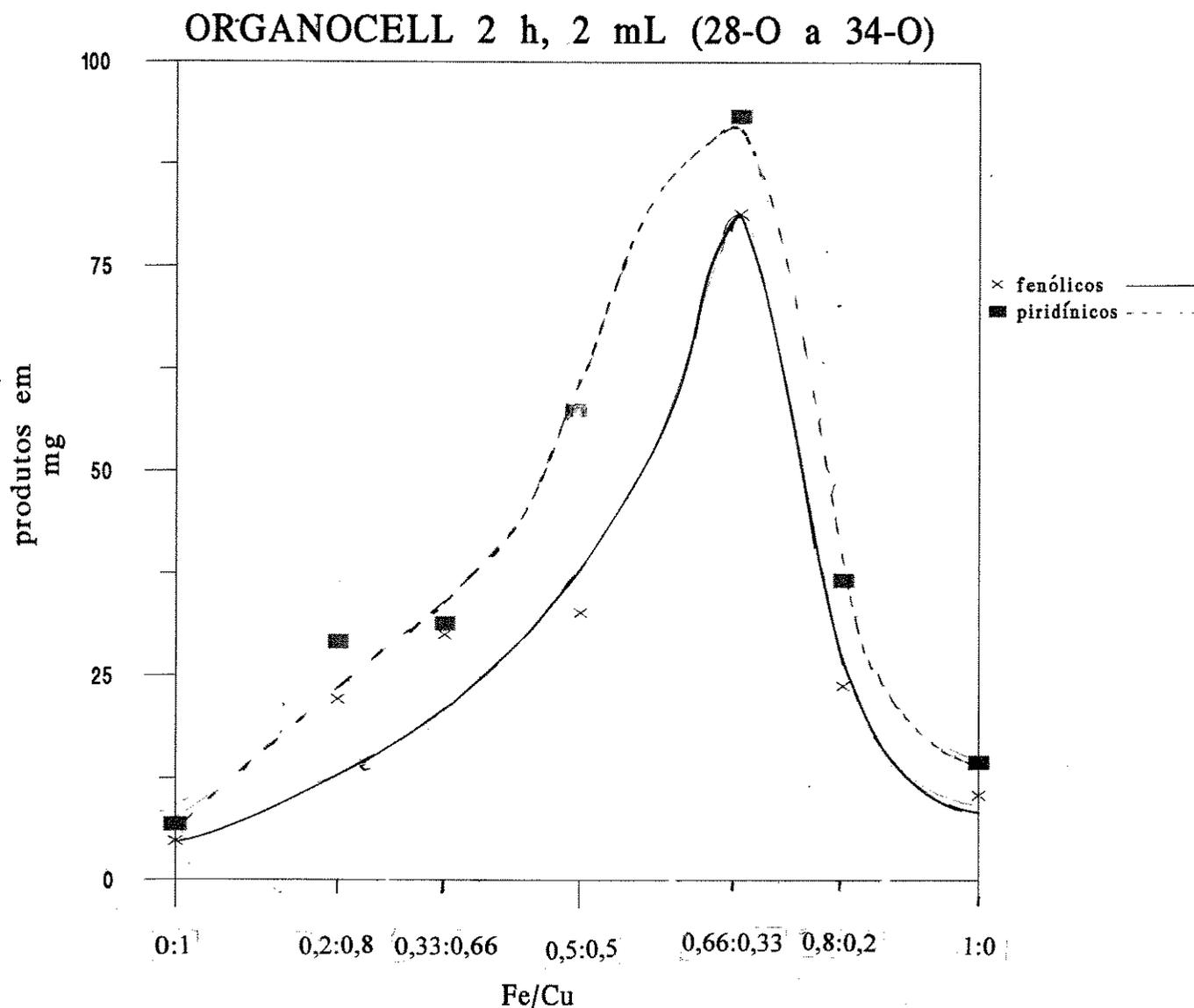


Figura 16 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂

Pelo gráfico da Figura 16 é possível notar que o emprego de Fe e Cu simultaneamente provoca um aumento da quantidade de produtos de degradação da lignina, além de um aumento na quantidade de produtos de acoplamento piridínicos. Pode-se notar um acentuado aumento (picos) na quantidade de produtos, tanto de degradação, quanto de acoplamento quando a relação molar Fe/Cu é 0,66:0,33. Comparativamente aos sistemas à base de Fe ou Cu, o sistema Fe-Cu é mais reativo e seletivo.

A Figura 17 apresenta o gráfico dos experimentos realizados com a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂.

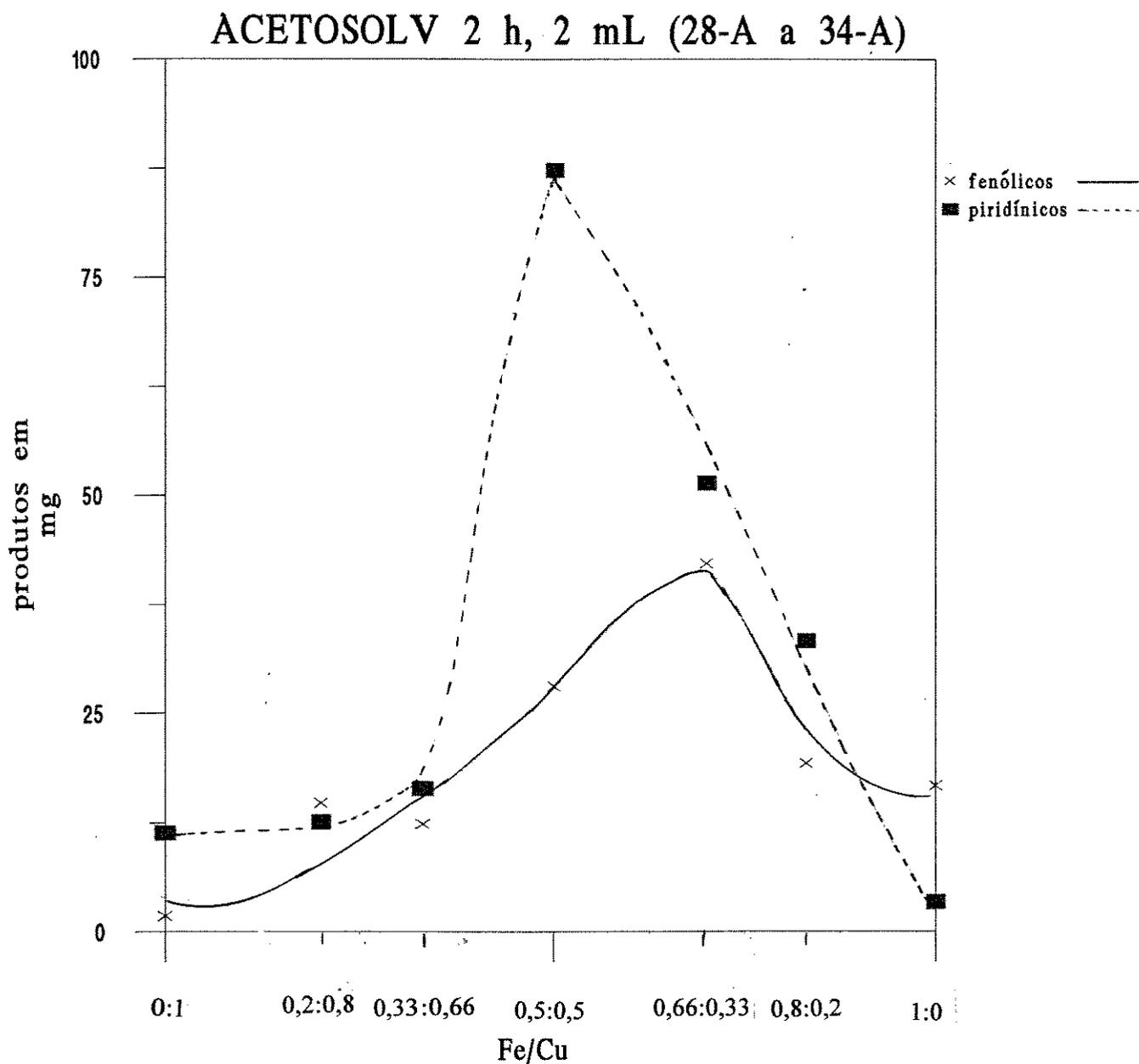


Figura 17 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂

Na Figura 17, observa-se que o aumento acentuado de produtos de acoplamento se dá quando a relação Fe/Cu é 0,5:0,5 e que o pico de aumento na quantidade de produtos de

degradação é observado quando a relação Fe/Cu é 0,66:0,33. Ao contrário da lignina Organocell, para a lignina Acetosolv o sistema mostra baixa reatividade e seletividade.

A Figura 18 apresenta os resultados dos experimentos com lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 4x2 mL de H₂O₂.

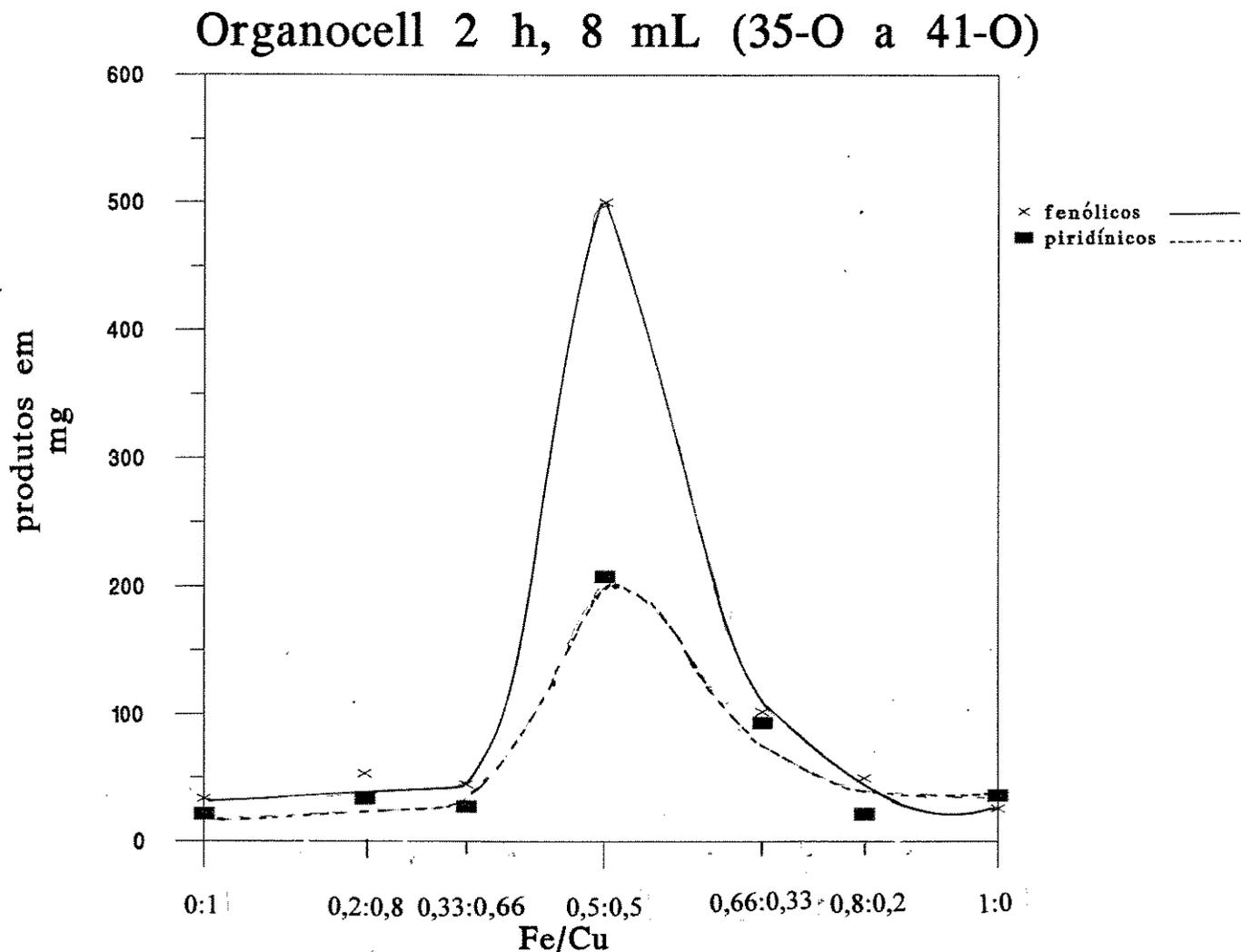


Figura 18 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 8 mL de H₂O₂

Para a lignina Organocell, utilizando-se Fe(III) e Cu(II) simultaneamente, a utilização de maiores quantidades de H₂O₂ leva a um máximo na quantidade de produtos fenólicos e de acoplamento piridínicos para uma relação molar Fe/Cu de 0,5:0,5. Foram os melhores resultados obtidos dentre todos os experimentos, com aproximadamente 50% de produtos de degradação e com seletividade de 2,5, obtendo-se a maior quantidade e variedade de produtos fenólicos.

A Figura 19 apresenta os resultados dos experimentos com a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 4x2 mL de H₂O₂.

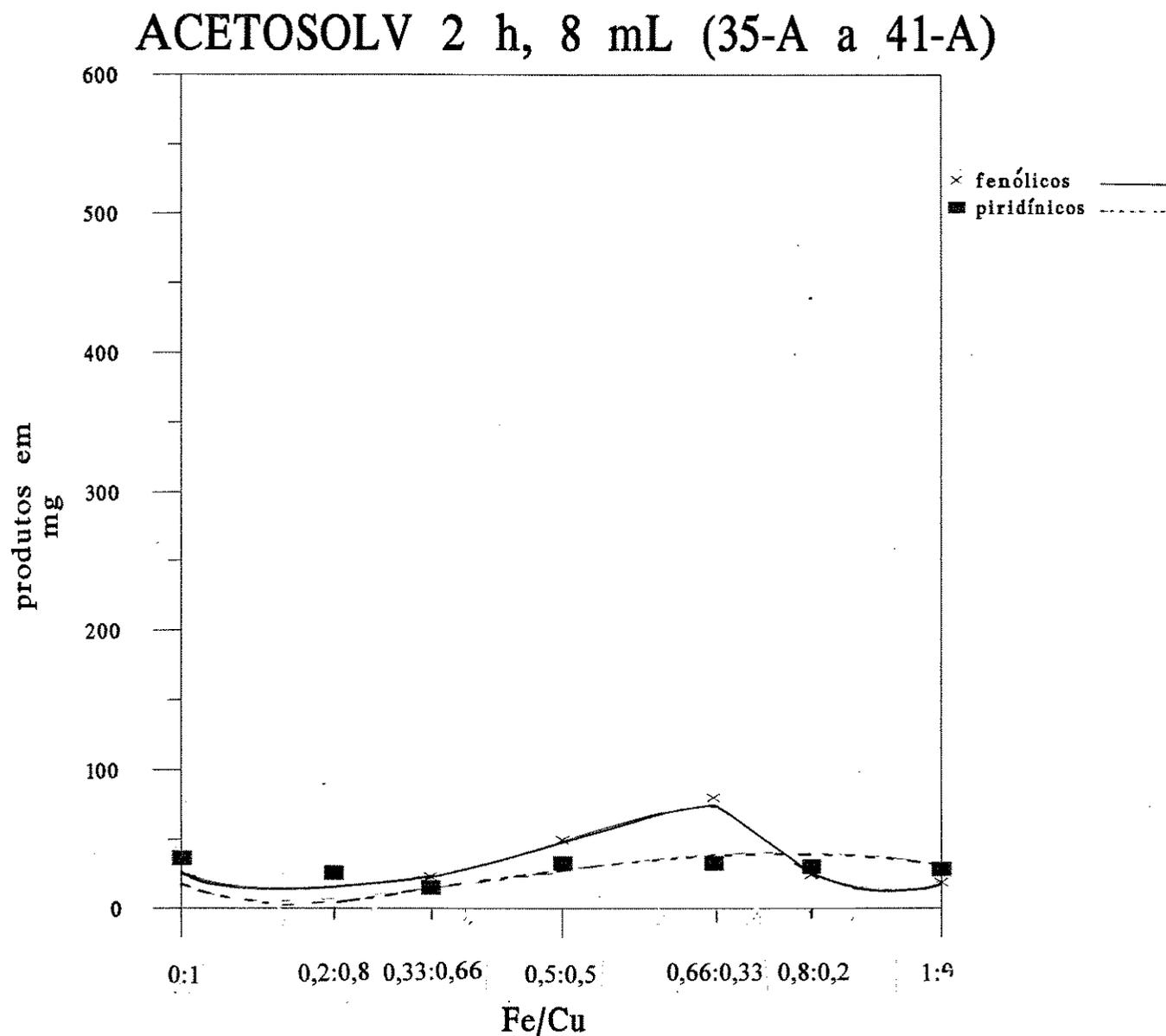


Figura 19 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 8 mL de H₂O₂

Para a lignina Acetosolv, o aumento da quantidade de H₂O₂ não provoca um grande aumento na quantidade de produtos de acoplamento e de degradação se comparado com os experimentos para a lignina Organocell. Mesmo assim, observa-se a formação de 100 mg de

produtos fenólicos quando a relação Fe/Cu é 0,66:0,33 e alta seletividade quando comparados com os sistemas contendo apenas ferro ou cobre.

A Figura 20 apresenta os resultados dos experimentos com a lignina Organocell com 15 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂.

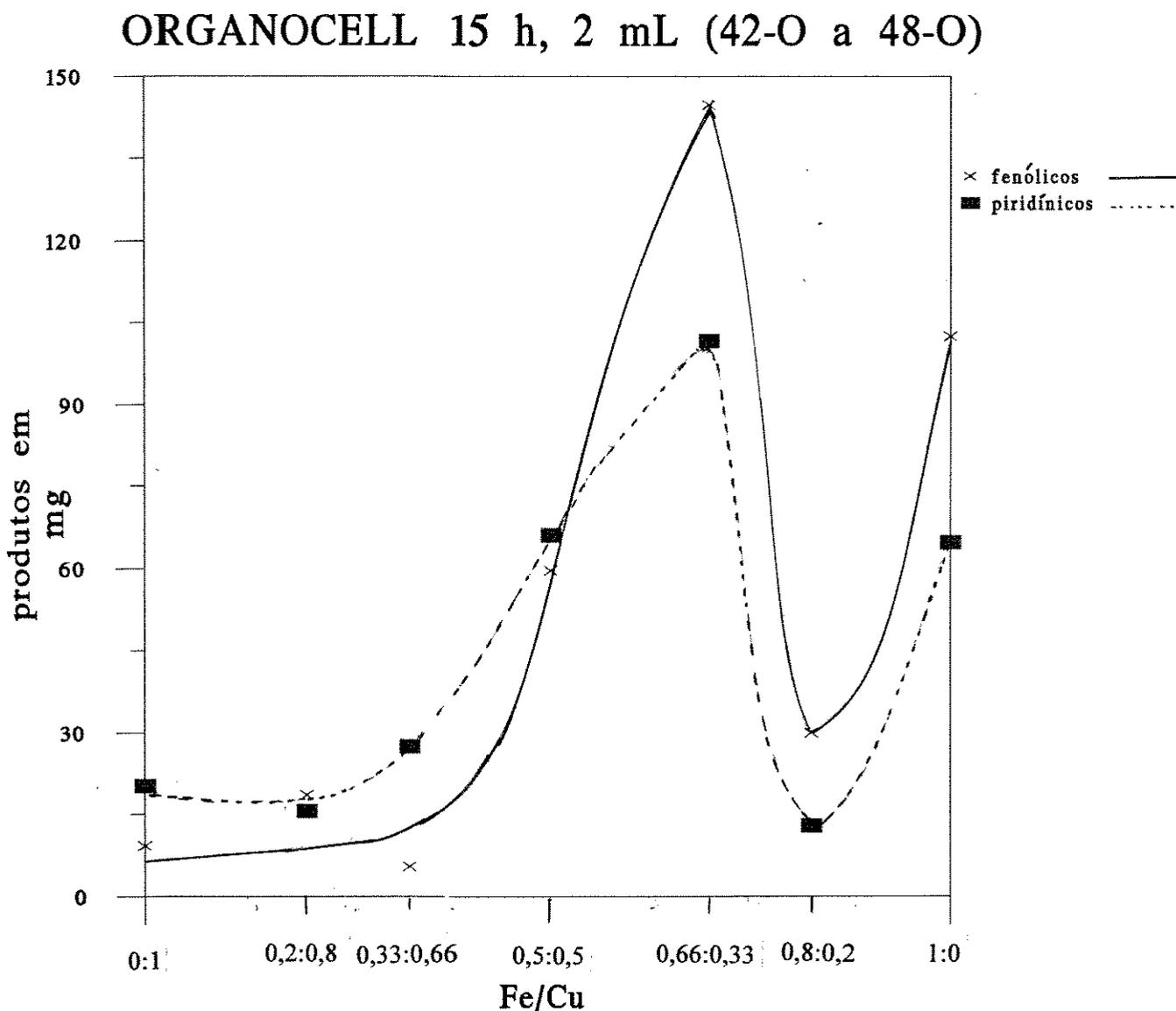


Figura 20 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 15 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂

Pelo gráfico na Figura 20 se observa que, para a lignina Organocell, o aumento do tempo de pré-tratamento causa um pequeno aumento na quantidade de produtos de degradação, quando a relação Fe/Cu é 0,66:0,33. Nesta mesma região há um aumento na quantidade de produtos de acoplamento piridínicos, mas com melhor seletividade do que para o sistema com

menor tempo de pré-tratamento. Também observa-se nestes experimentos que com Fe(III) puro formam-se maiores quantidades de produtos do que o normalmente observado.

A Figura 21 apresenta os resultados dos experimentos com a lignina Acetosolv com 15 h de pré-tratamento e 2-mL de H₂O₂.

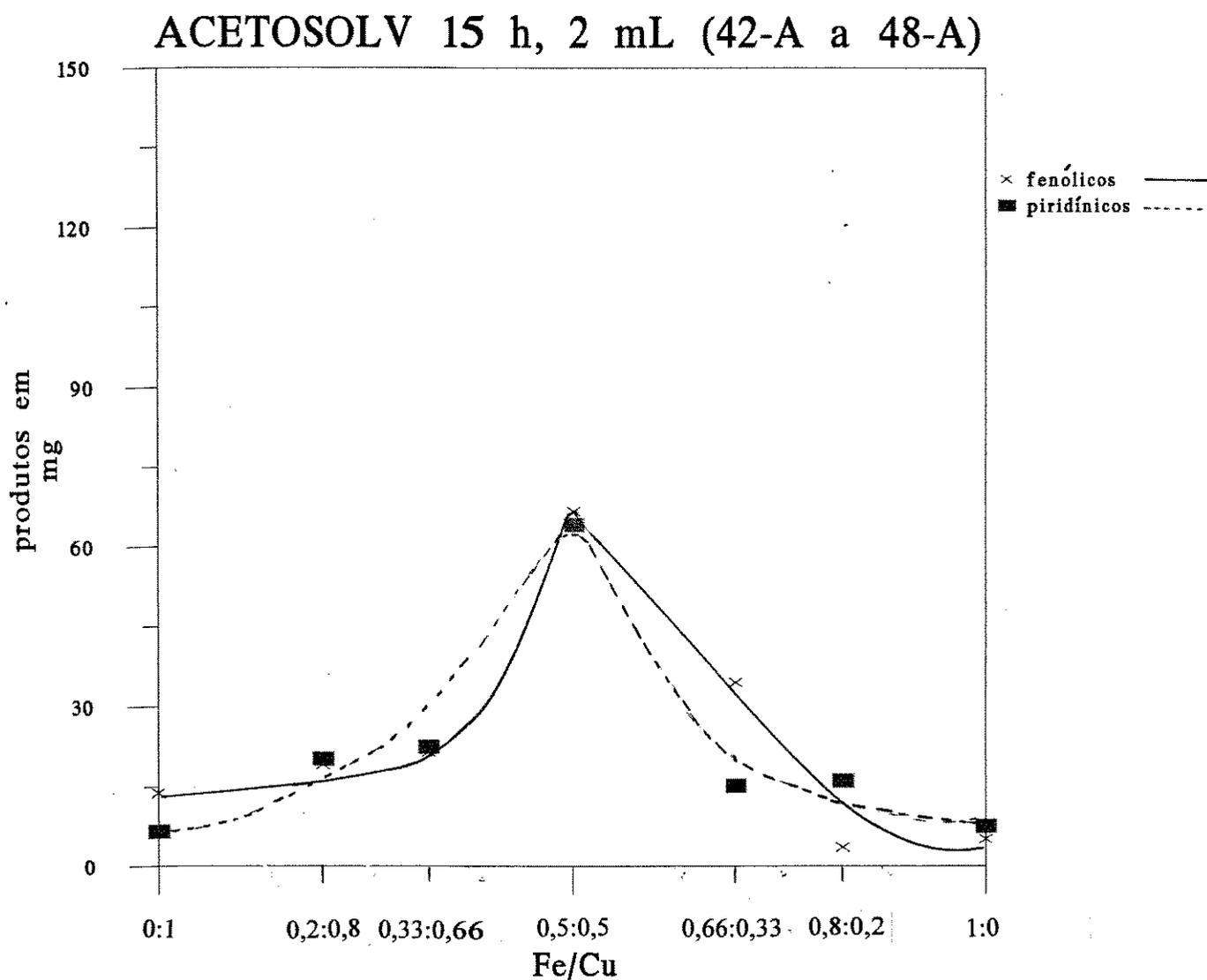


Figura 21 - Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 15 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂

Para a lignina Acetosolv, o aumento do tempo de pré-tratamento leva a um máximo na quantidade de produtos fenólicos e de acoplamento piridínicos quando a relação Fe/Cu é 0,5:0,5, ou seja 1/2 mmol: 1/2 mmol, nessas condições há maior reatividade e seletividade.

De maneira geral, pode-se dizer que a lignina Organocell é mais reativa e seletiva do que a Acetosolv, que o maior tempo de pré-tratamento melhora a reatividade e a seletividade e o aumento da quantidade de H_2O_2 leva aos melhores resultados de reatividade e seletividade para os sistemas Fe-Cu.

A Figura 22 apresenta o cromatograma do experimento 38-O e espectros de massas dos compostos mais relevantes. Experimento realizado com lignina Organocell, sob atmosfera inerte, 8 mL de H_2O_2 , py:HOAc 4:1 e relação molar Fe/Cu de 0,5:0,5 com 6 h de reação.

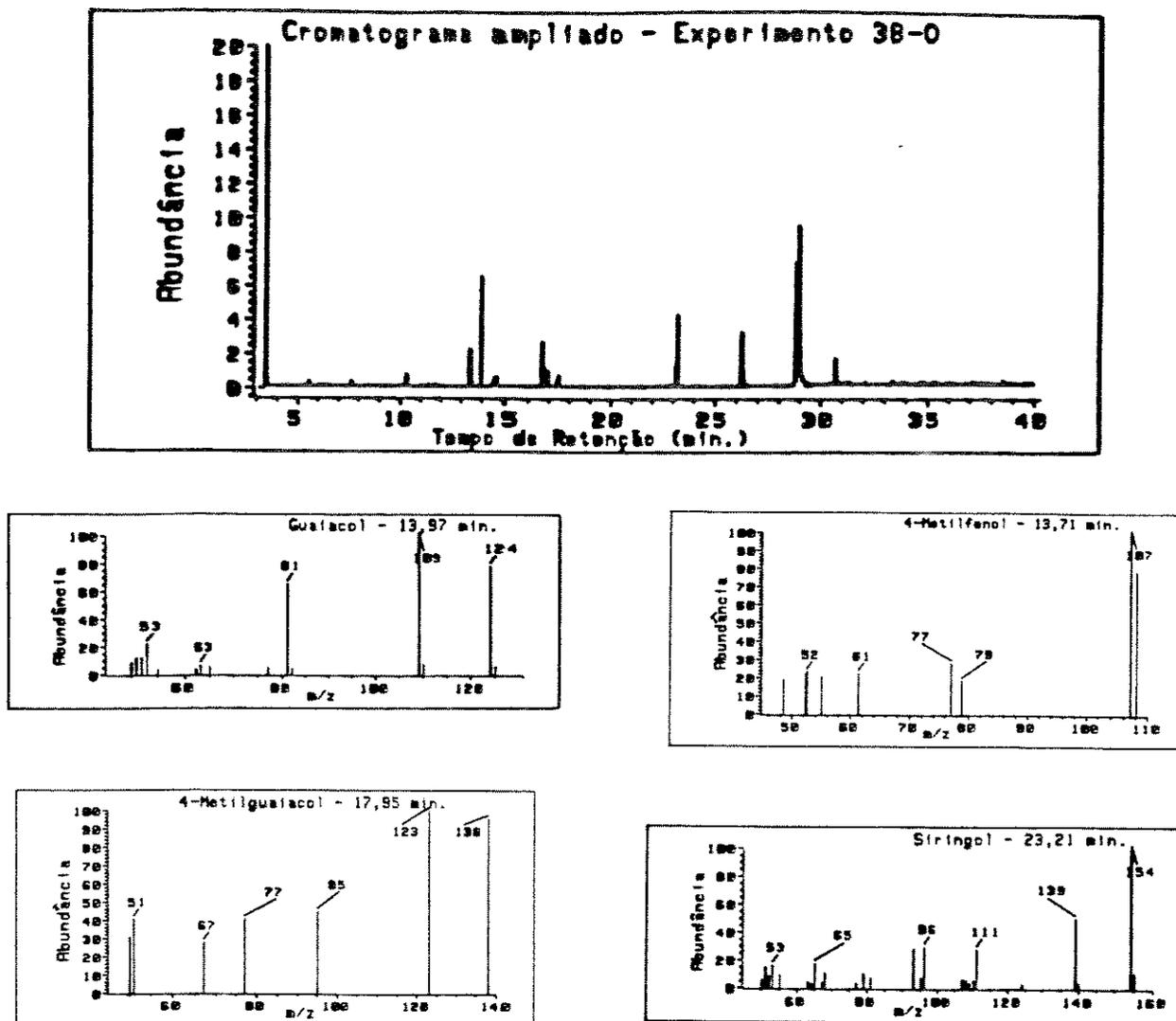


Figura 22 - Cromatograma ampliado e espectros de massas de guaiacol 4-metilfenol, 4-metilguaiacol e siringol para o experimento 38-O (Sistema sob atmosfera inerte, com 2 h de pré-tratamento, 8 mL de H_2O_2 , py:HOAc 4:1, relação molar Fe/Cu de 0,5:0,5, aplicado à lignina Organocell)

A Tabela XX apresenta as atribuições dos principais picos do cromatograma da Figura 22.

Tabela XX

Atribuição dos compostos detectados no experimento 38-O.

#	Atribuição	m/z	t _R	I.S.	%
1	piridina	79	3,42	91	65,2
2	fragmento	73	5,59	**	0,3
3	2-metilpiridina	93	6,05	74	0,1
4	4-metilpiridina	93	7,59	68	0,3
5	fenol	94	10,28	93	0,7
6	2-acetilpiridina	121	11,65	89	0,1
7	fragmento	83	13,34	**	2,2
8	4-metilfenol	108	13,71	48	0,3
9	guaiacol	124	13,97	85	6,4
10	4-piridinona	95	14,64	93	0,6
11	fragmento	109	16,54	**	2,6
12	4-etilfenol	122	17,12	87	0,9
13	4-metilguaiacol	138	17,95	51	0,3
14	4-etilguaiacol	152	21,19	79	1,5
15	2,6-dimetoxifenol (siringol)	154	23,21	83	4,2
16	2,2'-bipiridila	156	26,23	92	3,2
17	4,4'-bipiridila	156	28,77	91	9,4
18	4,4'-bipiridiléter	172	30,66	93	1,5
19	fragmento	149	35,99	**	0,2

sendo: #= número do pico, m/z= razão massa carga, t_R= tempo de retenção, I.S.= índice de similaridade

Espécies enzimáticas, contendo os pares Cu(I)/Fe(III) e/ou Cu(II)/Fe(II), são cataliticamente ativas em vários processos biológicos. É possível que haja a formação de oxigênio singlete pela decomposição de um complexo μ -oxobimetálico.^[43]

Nestes experimento, constatou-se que há um efeito sinérgico quando a relação molar Fe/Cu está entre 0,5:0,5 e 0,66:0,33, formando-se produtos fenólicos (fenol, guaiacol, siringol, etilfenol, etilguaiacol, metilfenol, metilguaiacol, etc, produtos encontrados na hidrólise alcalina de ligninas)^[44], como pode ser visto pelo cromatograma e os espectros de massas da Figura 22. O sistema é mais reativo, tanto pela quantidade como pela variedade de produtos obtidos, e é mais seletivo do que os sistemas só à base de ferro ou cobre.

4. Solventes Apróticos

Com o objetivo de eliminar ou minimizar os problemas de acoplamento substrato-solvente e solvente-solvente, testou-se o emprego de solventes apróticos como: acetona, acetonitrila (MeCN), dimetilformamida (dmf), dimetilsulfóxido (dmsO) e *terc*-butanol (*t*-BuOH), em substituição à piridina, mantendo-se a relação molar solvente/HOAc de 4:1. Os experimentos foram feitos sob atmosfera inerte, 1 mmol de FeCl₃.6H₂O, alterando-se o tempo de pré-tratamento (refluxo) e a quantidade de peróxido de hidrogênio utilizada.

4.1. Acetona

A Tabela XXI apresenta os resultados obtidos com acetona/HOAc como solvente.

Tabela XXI

Resultados obtidos para o sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de FeCl₃.6H₂O, 26 mL de acetona, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte.

Lignina	Alterações	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)
ORGANOCELL	2h pré-tratamento, 2 mL de H ₂ O ₂	49-O	0,83	0,7	1,7
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H ₂ O ₂	50-O	0,78	0,7	1,1
	15h pré-tratamento, 2 mL de H ₂ O ₂	51-O	0,81	0,8	1,8
ACETOSOLV	2h pré-tratamento, 2 mL de H ₂ O ₂	49-A	0,52	0,7	1,8
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H ₂ O ₂	50-A	0,61	0,7	1,0
	15h pré-tratamento, 2 mL de H ₂ O ₂	51-A	0,46	0,8	1,7

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos de degradação

Analisando-se a Tabela XXI, constata-se que há uma diminuição na massa de resíduo de destilação, quando comparada com os experimentos com piridina (> 1,0 g). Há também uma diminuição da massa de lignina dissolvida, principalmente para a lignina Acetosolv, além de uma drástica diminuição da massa de produtos de degradação. Não foram observados produtos de acoplamento solvente-solvente, provavelmente devido à baixa temperatura de ebulição do solvente, que evaporou durante as reações.

4.2 Acetonitrila

A Tabela XXII apresenta os resultados obtidos com MeCN/HOAc como solvente.

Tabela XXII

Resultados obtidos para o sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 18 mL de MeCN, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte.

Lignina	Alterações	#	m _{lig} (g)	m _{res} (g)	m _{fen} (mg)	m _{solv} (mg)
ORGANO CELL	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	52-O	0,66	0,6	2,0	86
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	53-O	0,83	0,5	<1,0	105
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	54-O	0,78	0,5	1,6	54
ACETO SOLV	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	52-A	0,53	0,5	1,8	73
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	53-A	0,74	0,4	1,0	97
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	54-A	0,53	0,3	1,6	59

sendo: m_{lig} = massa de lignina dissolvida, m_{res} = massa de resíduo de destilação, m_{fen} = massa total de produtos fenólicos de degradação e m_{solv} = massa de produtos de acoplamento solvente-solvente

Utilizando-se MeCN, observa-se uma diminuição mais acentuada na massa de resíduo de destilação, além da massa de produtos de degradação também se mostrar muito pequena. Observou-se a formação de produtos que não puderam ser identificados (identificação de produtos por padrões arquivados em banco de dados eletrônico), mas que foram atribuídos produtos de acoplamento solvente-solvente, assim seletividade (s) foi definida como massa de produtos fenólicos pela massa de produtos de acoplamento solvente-solvente (m_{solv}) e, para todos os experimentos com acetonitrila, foi menor do que 0,1, ou seja, o sistema é pouco reativo e pouco seletivo

4.3. Dimetilformamida

A Tabela XXIII apresenta os resultados obtidos com dmf/HOAc como solvente.

Tabela XXIII

Resultados obtidos para o sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 27 mL de dmf, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte.

Lignina	Alterações	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	msolv (mg)
ORGANO CELL	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	55-O	0,86	0,9	6,4	15
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	56-O	0,79	0,8	7,9	31
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	57-O	0,75	0,9	3,2	9
ACETO SOLV	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	55-A	0,72	1,0	2,6	10
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	56-A	0,86	1,0	5,0	18
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	57-A	0,55	1,0	1,3	06

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos de degradação e msolv = massa de produtos de acoplamento solvente-solvente

Não observou-se uma diminuição significativa na massa de resíduo de destilação; o acoplamento substrato-solvente permanece elevado e a massa de produtos de degradação ainda é pequena. Apesar de uma baixa reatividade, quando comparada com os sistemas com piridina, há uma boa seletividade, $s \sim 0,3$, justificando a permanência da elevada massa de resíduo, mostrando que com este solvente, o sistema continua ativo, porém em menor grau do que o sistema com piridina.

4.4. Dimetilsulfóxido

A Tabela XXIV apresenta os resultados obtidos com dmsO/HOAc como solvente

Tabela XXIV

Resultados obtidos para o sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 25 mL de dmsO, 5 mL de HOAc e atmosfera inerte.

Lignina	Alterações	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	msolv (mg)
ORGANO CELL	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	58-O	0,95	0,8	8,5	225
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	59-O	0,92	0,7	9,2	317
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	60-O	0,86	0,8	7,3	207
ACETO SOLV	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	58-A	0,84	0,7	4,4	198
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	59-A	0,82	0,8	6,0	285
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	60-A	0,79	0,8	5,2	174

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos de degradação e msolv = massa de produtos de acoplamento solvente-solvente

Para este solvente, observa-se uma maior dissolução das ligninas, semelhante aos resultados obtidos para piridina, com menor massa de resíduo de destilação e pequena quantidade de produtos de degradação. Também se observam uma grande quantidade de produtos de acoplamento solvente-solvente (sulforosos), principalmente dimetildissulfeto, sendo que, dentre os solventes testados para substituir a piridina, dmsO apresentou a melhor reatividade, embora a seletividade seja menor do que 0,05.

4.5 *terc*-butanol

A Tabela XXV apresenta os resultados para este solvente

Tabela XXV

Resultados obtidos no sistema contendo 1,0 g de lignina, 1 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 33 mL de *t*-BuOH, 5 mL de HOAc, atmosfera inerte e 35°C.

Lignina	Alterações	#	mlig (g)	mres (g)	mfen (mg)	msolv (mg)
ORGANO CELL	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	61-O	0,36	0,5	<1,0	54
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	62-O	0,37	0,6	1,0	75
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	63-O	0,28	0,5	<1,0	60
ACETO SOLV	2h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	61-A	0,35	0,5	<1,0	42
	2h pré-tratamento, 4x2 mL de H_2O_2	62-A	0,41	0,6	<1,0	81
	15h pré-tratamento, 2 mL de H_2O_2	63-A	0,29	0,5	<1,0	53

sendo: mlig = massa de lignina dissolvida, mres = massa de resíduo de destilação, mfen = massa total de produtos fenólicos de degradação e msolv = massa de produtos de acoplamento solvente-solvente

A pequena massa de lignina dissolvida demonstra que este solvente não é adequado para a degradação de ligninas. A massa de resíduo de destilação é alta em comparação à lignina dissolvida, sugerindo haver acoplamento substrato-solvente, provavelmente devido ao alto ponto de ebulição do solvente. A massa de produtos de degradação é muito pequena e há uma grande quantidade de produtos de acoplamento solvente-solvente, principalmente fragmentos da clivagem do solvente, demonstrando que o sistema é pouco reativo e seletivo.

De maneira geral, todos os experimentos apresentaram massa menor de resíduo de destilação, aparentando haver uma diminuição do acoplamento substrato-solvente. Entretanto, também é observada uma diminuição na massa de lignina dissolvida, e queda drástica na quantidade de produtos de degradação. Sendo assim, nenhum solvente testado apresentou melhores resultados do que a mistura de py:HOAc (4:1).

5. Determinação do pH dos Solventes Utilizados

Objetivando interpretar a influência do pH dos solventes utilizados, empregou-se um método que permite estimar o pH, visto que, sendo solventes apróticos, não há a possibilidade de sua direta determinação. Desta forma, os solventes, piridina pura, piridina/HOAc, piridina/HCl 1M (HOAc), acetona/HOAc, MeCN/HOAc, dmf/HOAc, dmsO/HOAc e *t*-BuOH/HOAc, todos na proporção 4:1 (mol:mol), foram diluídos 1:1 com soluções de HCl e NaOH em diferentes concentrações e medido o pH das misturas com um pHmetro. Os resultados foram plotados, exemplo na Figura 23, (pH x concentração) e, por extrapolação (concentração zero), estimado pH de cada solvente. Como não há a necessidade da determinação exata dos valores de pH e sim da relação entre eles, este método pode ser empregado.

A Tabela XXVI apresenta os valores de pH extrapolados para diluição infinita de cada solvente utilizado.

Tabela XXVI

Valores de pH estimados para cada solvente utilizado

Solvente	pH
piridina (33 mL)	9,4
py/HOAc (28/5 mL)	5,6
py/HCl 1M (HOAc) (28/5 mL)	4,1
Acetona/HOAc (26/5 mL)	2,2
MeCN/HOAc (18/5 mL)	1,9
dmf/HOAc (27/5 mL)	2,6
dmsO/HOAc (25/5 mL)	2,5
<i>t</i> -BuOH/HOAc (33/5 mL)	2,3

Observou-se que os solventes mais ácidos ($\text{pH} < 3,0$) levam a uma menor massa de lignina dissolvida, menor massa de resíduo de destilação e menor quantidade de produtos de degradação. Portanto, existe uma influência do pH na dissolução da lignina, que se reflete no acoplamento substrato-solvente e na reatividade do sistema. Para modelos de complexos solúveis (Gif), na tentativa de substituição de piridina por outros solventes, na oxidação de hidrocarbonetos foi observado que valores de pH menores desfavorecem a reatividade e seletividade da oxidação, sendo necessário a tamponagem do sistema para melhorar sua atividade.[45]

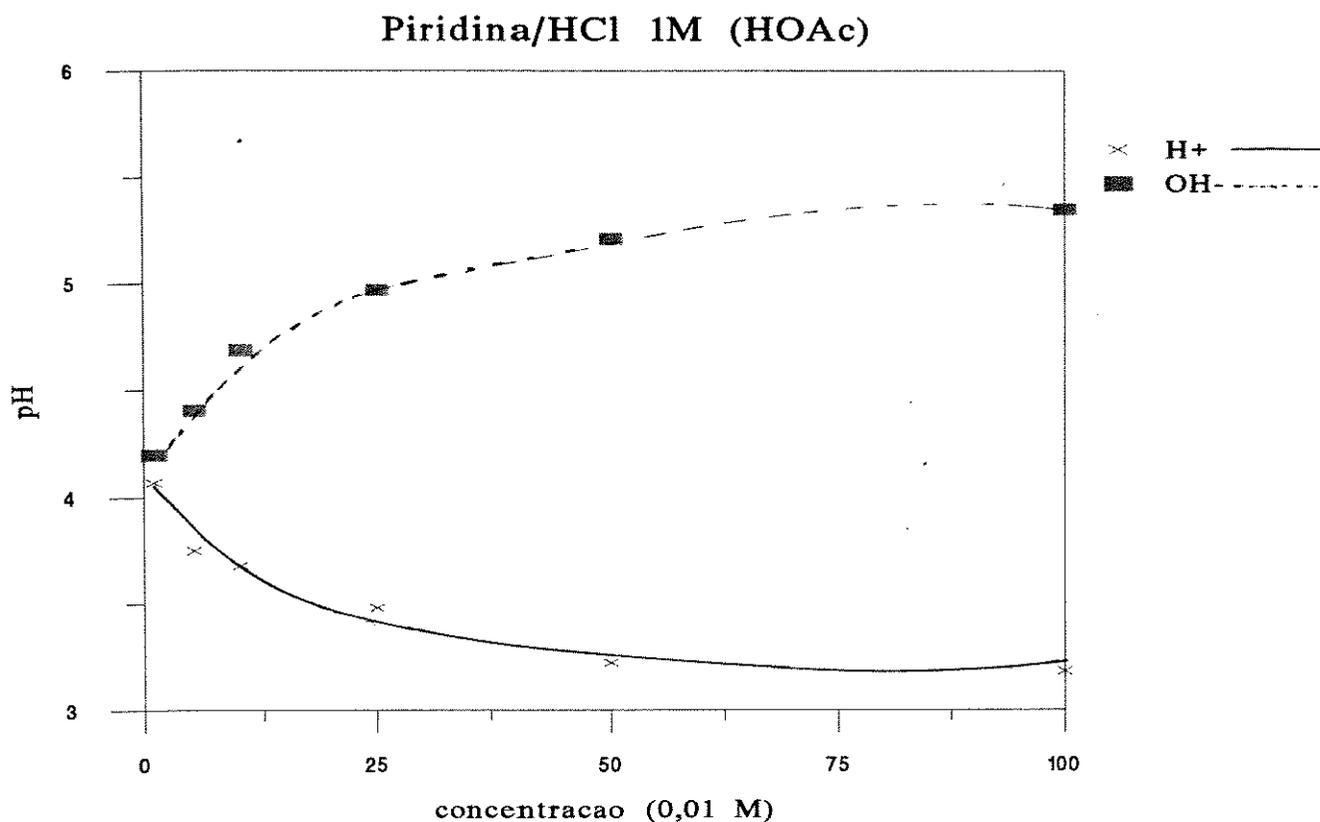


Figura 23 - Gráfico do pH determinado para py/HOAc nas misturas em diferentes concentrações das soluções de NaOH e HCl

6. Testes de Controle

Para se determinar a atividade dos sistemas oxidativos foram realizados testes de controle com a supressão de um ou mais componentes dos sistemas. No primeiro caso foram realizados experimentos sem catalisador (sais de Fe e/ou Cu) e sem oxidante (peróxido de hidrogênio 30%). Os substratos (ligninas) foram simplesmente refluxados com os solventes, em três tempos diferentes 2, 10 e 15 horas, evaporando-se o solvente após filtração a vácuo. Os resíduos da evaporação foram submetidos à destilação sob baixa pressão. Em nenhum experimento foi observada a presença de produtos de degradação das ligninas ou de acoplamento com os solventes, sendo que apenas foi observada a dissolução das ligninas e a reprecipitação após a evaporação do solvente.

Testes de controle com sais de Fe e/ou Cu sem o emprego de oxidante (H_2O_2 30%) foram realizados, não sendo observado em nenhum experimento produtos de degradação das ligninas, ou de acoplamento, ocorrendo somente um aumento na massa de resíduo da destilação, já que o mesmo deve conter a lignina reprecipitada e parte do catalisador.

Finalmente, foram realizados testes de controle com o emprego de 1, 2 e 4x2 mL de peróxido de hidrogênio, sem a presença de catalisador (sais de Fe e/ou Cu). Nestes experimentos não foram detectados produtos de degradação das ligninas. Entretanto, observou-se produtos de acoplamento piridínicos (dipiridilas), além de um aumento na massa do resíduo de destilação, principalmente para os experimentos com maior quantidade de H₂O₂. As quantidades encontradas de produtos de acoplamento solvente-solvente (dipiridilas) e substrato-solvente são menores do que nos experimentos com o sistema completo.

Pelos testes de controle ficou evidente que o solvente somente tem a função de solubilizar o substrato (lignina). Verifica-se, também, que o catalisador sem peróxido de hidrogênio não degrada a lignina e que o H₂O₂ sem catalisador apresenta baixa atividade mesmo utilizado em maiores quantidades. Desta forma, o sistema só é ativo quando completo, mostrando que para se obter maiores quantidades de produtos de degradação das ligninas é necessário a ativação do H₂O₂ pelo catalisador.

CONCLUSÕES

A aplicação de um modelo biomimético (Gif) em ligninas foi uma inovação no sentido da utilização deste sistema em substratos mais complexos, visto que o mesmo se mostrou efetivo para substratos mais simples, como hidrocarbonetos. Foram testados os sistemas GoAgg e GoChAgg (com Fe(III) e com Cu(II)), sendo que alguns parâmetros foram alterados visando otimizá-los. Foi observada uma maior reatividade da lignina Acetosolv, que teve maior dissolução, e melhor seletividade para a lignina Organocell. Para o sistema GoAgg, obteve-se uma maior quantidade de produtos de degradação e de acoplamento do que para o sistema GoChAgg, sendo mais reativo e seletivo.

Nos sistemas com Fe(III) e Cu(II) conjuntamente, foi observada uma inversão na reatividade das ligninas, sendo a lignina Organocell mais reativa, permanecendo mais seletiva. Observou-se também um aumento na quantidade de produtos de degradação e de acoplamento quando a relação molar Fe/Cu estava na faixa 0,5:0,5 a 0,66:0,33, verificando-se a existência de um efeito sinérgico.

A substituição dos solventes empregados nos sistemas GoAgg, GoChAgg e com Fe(III) e Cu(II) por outros solventes apróticos levou a uma diminuição acentuada na quantidade de produtos de degradação, demonstrando que estes solventes não são adequados.

A determinação do pH dos solventes demonstrou haver uma relação entre a basicidade, solubilidade e reatividade da lignina.

Os fatores que favorecem a degradação das ligninas são: a solubilidade da lignina, que está relacionada com a basicidade do solvente empregado, além de parâmetros que propiciem reações radicalares, tais como: sistema aberto ao ar, maior quantidade de H_2O_2 , sendo fatores que levam à ativação mais efetiva do H_2O_2 .

A degradação de ligninas deve ocorrer por mecanismos radicalares. Portanto, o emprego do sistema Gif não é adequado, pois este se mostra eficiente para a oxidação seletiva por mecanismos não-radicalares. Comparando-se os resultados obtidos com o sistema aplicado a ligninas e com o sistema aplicado a hidrocarbonetos, tem-se baixa reatividade e seletividade, mesmo em condições que propiciem um aumento na quantidade de produtos. O mecanismo envolvido nos experimentos deve ser complexo, visto que não deve ocorrer somente um mecanismo radicalar, mas sim um mecanismo híbrido entre o radicalar e o não-radicalar, como os testes de controle e efeito sinérgico comprovaram.

Os resultados obtidos demonstram que este sistema não é adequado para o branqueamento de pastas celulósicas, mas pode, com melhorias, ser utilizado na produção de fenóis, insumos para resinas fenólicas

Os resultados para os sistemas GoAgg e GoChAgg foram apresentados na 16ª Reunião Anual da SBQ [Resumos, QI-043, (1993)] e os resultados para efeito sinérgico serão submetidos à apresentação na 17ª Reunião Anual da SBQ.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M.E.T. Koga em "Celulose e Papel", P. Philipp e M.C.O. D'Almeida (eds.), IPT/SENAI, 2° Ed., São Paulo, 1988, p.14-44.
- [2] I.S. Goldstein em "Organic Chemistry from Biomass", I.S. Goldstein (ed.), CRC Press, Boca Raton, 1981, p.9-18
- [3] M.L.O. D'Almeida em "Celulose e Papel", P. Philipp e M.C.O. D'Almeida (eds.), IPT/SENAI, 2° Ed., São Paulo, 1988, p.45-106
- [4] D. Fengel e G. Wegener, "Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions", Walter de Gruyter, Berlin-New York, 1989, p.132-181
- [5] R.M.V. Assumpção, M.R.R. Pinho, R. Cahan e P. Philipp em "Celulose e Papel", P. Philipp e M.C.O. D'Almeida (eds.), IPT/SENAI, 2° Ed., São Paulo, 1988, p.169-319
- [6] E. Sjöström, "Wood Chemistry - Fundamentals and Applications" Academic Press, New York, 1981, p.190-207
- [7] K. V. Sarkanen, C.H. Ludwig em "Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions", Wiley-Interscience, New York, 1971, p.19-25
- [8] C.W. Dence e S.Y. Lin em "Methods in Lignin Chemistry", S.Y. Lin and C.W. Dence (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1993, p.3-19
- [9] K.Ve. Sarkanen em "Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions", Wiley-Interscience, New York, 1971, p.95-155
- [10] W. Zimmermann, *Chimia*, **43**, 1989, 396-403
- [11] D. Piló Veloso, E.A. Nascimento e S.A.L. Morais, *Quím. Nova*, **16**, 1993, 435-448
- [12] R.N. Detroy em "Organic Chemicals from Biomass", I.S. Goldstein (ed.), CRC Press, Boca Raton, 1981, p.19-44
- [13] H.L. Chum, "The Economic Contribution of Lignin to Ethanol Production from Biomass", Solar Energy Research Institute, Golden-CO, 1985, p.1-90

- [14] E.A. Nascimento e U. Schuchardt, *Quim. Nova*, **10**, 1987, 93
- [15] D.W. Goheen em "Organics Chemicals from Biomass", I.S. Goldstein (ed.), CRC Press, Boca Raton, 1981, p.143-161
- [16] J.G. Gierer e O. Lindeberg, *Acta Chem. Scand. B*, **34**, 1980, 161
- [17] R.M. Danilas em "Celulose e Papel", P. Philipp e M.C.O.D'Almeida (eds.), IPT/SENAI, 2° Ed., São Paulo, 1988, p.427-512
- [18] P.S. Rajan, T.-Y. Xie, R. Wang, C. -L. Chen e J.S. Gratzl, em Abstracts. 3rd Braz. Symp. Chem. Lignins and Other Wood Components., Belo Horizonte, 1993, p. 34
- [19] K. Lundquist em "Methods in Lignin Chemistry", S.Y. Lin and C.W. Dence (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1993, p.287-300
- [20] C.-L. Chem em "Methods in Lignin Chemistry", S.Y. Lin and C.W. Dence (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1993, p.301-319
- [21] G. Gellerstedt em "Methods in Lignin Chemistry", S.Y. Lin and C.W. Dence (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1993, p.322-333
- [22] A. Sakakibara em "Methods in Lignin Chemistry", S.Y. Lin and C.W. Dence (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1993, p.350-36
- [23] K.V. Sarkanen, A. Islam e C. D. Anderson em "Methods in Lignin Chemistry", S.Y. Lin and C.W. Dence (eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1993, p.387-406
- [24] K. Freudenberg, *Science*, **148**, 1965,595
- [25] D.W. Ribbons, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A*, **321**, 1987, 485-494
- [26] C.-L. Chem, H.-M. Chang em "Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components", T. Higuchi (ed.) Academic Press, New York, 1985, p.535
- [27] J.A. Buswell, E. Odier, *CRC Crit. Rev. Biotechnol.*, **6**, 1987, 1-6
- [28] R.A. Sheldon, J.K. Kochi "Metal-Catalyzed Oxidation of Organic Compounds", Academic Press, New York, 1981, p.253

- [29] B. Meunier, *Chem. Rev.*, **92**, 1992, 1411-1456
- [30] D. Mansuy, *Adv. Appl. Microbiol.*, **26**, 1980, 741-746
- [31] I.A. Weinstock, J.L. Minor e R.H. Atalla, em "The Activation of Dioxygen and Homogeneous Catalytic Oxidation", D.H.R. Barton, A.E. Martell e D.T. Sawyer (eds.), Plenum Press, New York, 1993, p.487
- [32] D.H.R. Barton e D. Doller, *Acc. Chem. Res.*, **25**, 1992, 504-512
- [33] D.H.R. Barton, J.Boiuin, M. Gastiger, J. Morzycks, R.S. Hay-Motherwell, W.A. Motherwell, N. Ozbalish e K.M. Schwartzentruber, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1986, 947-955
- [34] D. Mansuy, *Pure Appl. Chem.*, **59**, 1987, 759-770
- [35] U. Schuchardt, C.E.Z. Krähenbühl e W.A. Carvalho em Preprints do II World Congress on New Developments in Selective Oxidation, V. Cortés Corberán e S. Vic. Bellón (eds.), Banalmádena, Espanha, 1993, p.19-1
- [36] U. Schuchardt, W.A. Carvalho e E.V. Spinacé, *Synlett*, **10**, 1993, 713-718
- [37] W.A. Carvalho, Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 1992
- [38] Y.V. Geletti, D.R.H. Barton e D. Doller, *Mendeleev Commun.*, 1991, 115-116
- [39] R. Pereira e U. Schuchardt, em Anais do 7º Seminário Brasileiro de Catálise, IBP, Rio de Janeiro, 1993, vol. 2, p. 135-143
- [40] N. Baccan, J.C. Andrade, O.E.S. Godinho e J.S. Barone, "Química Analítica Quantitativa Elementar", 2º Ed., Editora Edgar Blücher Ltda./Editora da UNICAMP, São Paulo, 1985, p.174-180
- [41] D.H.R. Barton, E. About-Jaudet, E. Csuhai e N. Ozbalik, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 1990, 1657-1660
- [42] Wiley/NBS Database (PBM Format), John Wiley & Sons, Inc., 1986
- [43] M. Kakagawa, S. Kato, S. Kataoka e T. Hino, *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 1979, 3136

- [44] A.R. Gonçalves, Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 1991.
- [45] U. Schuchardt, W.A. Carvalho e R. Pereira, "The Activation of Dioxygen and Homogeneous Catalytic Oxidation", D.H.R. Barton, A.E. Martell e D.T. Sawyer (eds), Plenum Press, New York, 1993, p.243-255

APÊNDICES

Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂ (Figura 16).

Fe:Cu	mfen (mg)	mpir (mg)	s
0:1	4.8	6.9	0,7
0,2:0,8	22.1	29.2	0,8
0,33:0,66	30	31.4	0,9
0,5:0,5	32.6	61.3	0,5
0,66:0,33	81.4	93.4	0,9
0,8:0,2	23.8	36.7	0,6
1:0	10.4	14.5	0,7

Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂ (Figura 17).

Fe:Cu	mfen (mg)	mpir (mg)	s
0:1	1.8	11.4	0,1
0,2:0,8	14.7	12.6	1,2
0,33:0,66	12.3	16.4	0,8
0,5:0,5	28.1	87.3	0,3
0,66:0,33	42.1	51.4	0,8
0,8:0,2	19.2	33.3	0,6
1:0	16.7	3.4	4,9

Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 2 h de pré-tratamento e 8 mL de H₂O₂ (Figura 18).

Fe:Cu	mfen (mg)	mpir (mg)	s
0:1	33.4	21.7	0,2
0,2:0,8	53.2	34	1,6
0,33:0,66	44.7	27.6	1,6
0,5:0,5	500.3	207.9	2,5
0,66:0,33	101.8	93.5	3,0
0,8:0,2	49.7	21.8	2,3
1:0	25.9	36.6	0,7

Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 2 h de pré-tratamento e 8 mL de H₂O₂ (Figura 19).

Fe:Cu	m_{fen} (mg)	m_{pir} (mg)	s
0:1	36.6	36.7	1,0
0,2:0,8	25.8	26	1,0
0,33:0,66	22.7	15.2	1,5
0,5:0,5	49.7	32.7	1,5
0,66:0,33	80.1	32.9	2,4
0,8:0,2	24.4	30.6	0,8
1:0	18.7	28.4	0,6

Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Organocell com 15 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂ (Figura 20).

Fe:Cu	m_{fen} (mg)	m_{pir} (mg)	s
0:1	9.2	20.4	0,4
0,2:0,8	18.6	15.8	1,2
0,33:0,66	5.4	27.6	0,2
0,5:0,5	59.6	66.2	0,9
0,66:0,33	144.8	101.7	1,4
0,8:0,2	30	13.1	2,3
1:0	102.5	64.8	1,6

Quantidade de produtos fenólicos e piridínicos em função da relação molar Fe/Cu para a lignina Acetosolv com 15 h de pré-tratamento e 2 mL de H₂O₂ (Figura 21).

Fe:Cu	m_{fen} (mg)	m_{pir} (mg)	s
0:1	13.8	6.6	2,1
0,2:0,8	19.1	20.3	0,9
0,33:0,66	21.5	22.6	0,9
0,5:0,5	66.7	64.3	1,0
0,66:0,33	34.5	15.2	2,3
0,8:0,2	3.5	16.2	0,2
1:0	5.1	7.6	0,7