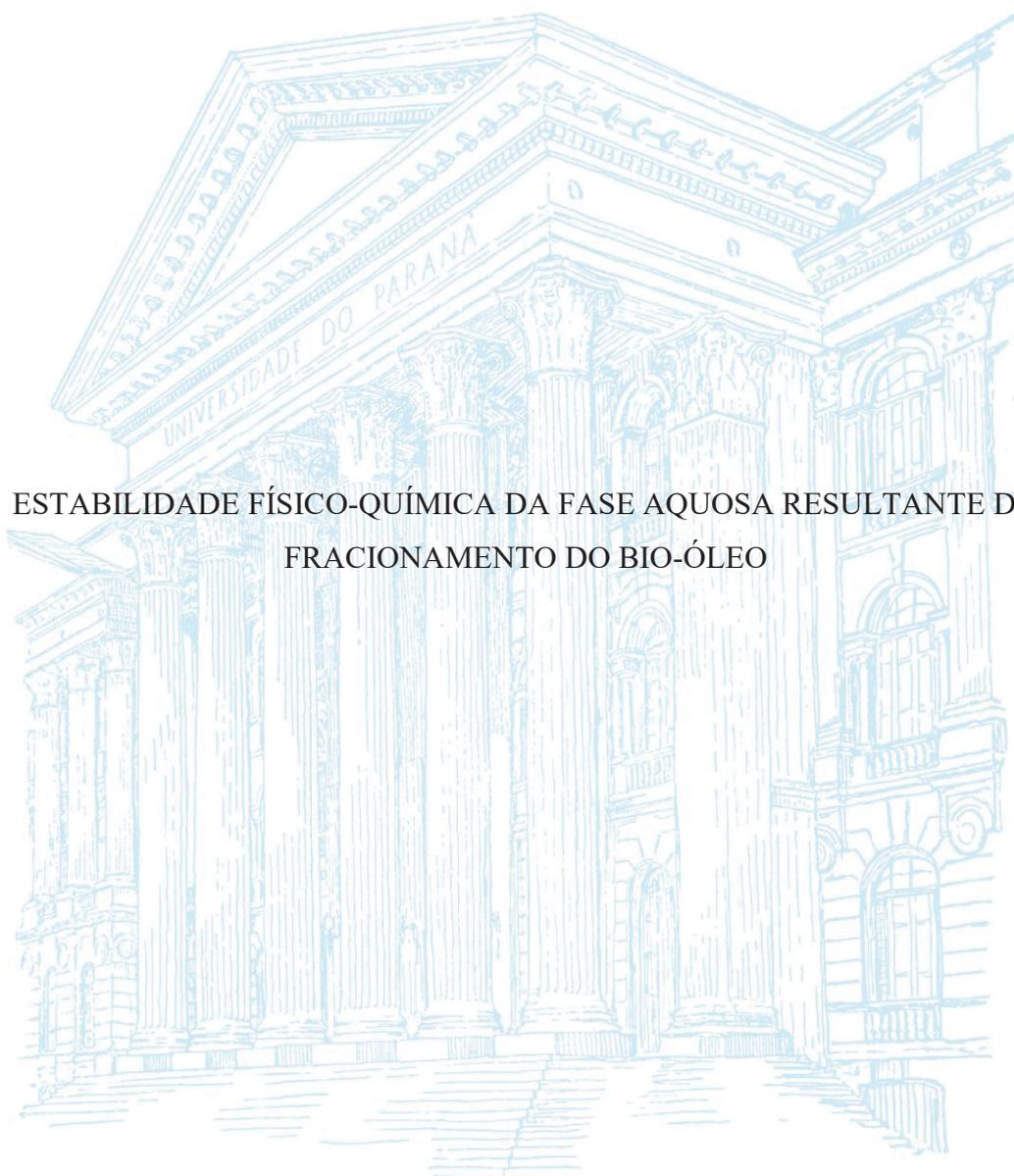


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

IVANA AMORIM DIAS



ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA FASE AQUOSA RESULTANTE DO
FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO

CURITIBA-PR

2021

IVANA AMORIM DIAS

ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA FASE AQUOSA RESULTANTE DO
FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Engenharia Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique
Gonzalez de Cademartori

Coorientador(es): Dra. Cristiane Vieira
Helm

Dr. Washington Luiz
Esteves Magalhães

Dr. Edson Alves De Lima.

CURITIBA-PR

2021

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Florestais e da Madeira - UFPR

Dias, Ivana Amorim

Estabilidade físico-química da fase aquosa resultante do fracionamento do bio-
óleo / Ivana Amorim Dias. – Curitiba, 2021.
93 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Gonzalez de Cademartori

Coorientadores: Dra. Cristiane Vieira Helm

Dr. Washington Luiz Esteves Magalhães

Dr. Edson Alves De Lima.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências
Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal.

Defesa: Curitiba, 28/02/2021.

Área de concentração: Tecnologia e Utilização de Produtos Florestais.

1. Madeira - Química. 2. Pirólise 3. Compostos fenólicos 4. Termoquímica.
5. Lignina. 6. Teses. I. Cademartori, Pedro Henrique Gonzalez de. II. Helm,
Cristiane Vieira. III. Magalhães, Washington Luiz Esteves. IV. Lima, Edson Alves
de. V. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias. VI. Título.

CDD – 634.9
CDU – 634.0.813



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA
FLORESTAL - 40001016015P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA FLORESTAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de IVANA AMORIM DIAS intitulada: ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA FASE AQUOSA RESULTANTE DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO, sob orientação do Prof. Dr. PEDRO HENRIQUE GONZALEZ DE CADEMARTORI, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 26 de Fevereiro de 2021.

Assinatura Eletrônica

26/02/2021 19:12:18.0

PEDRO HENRIQUE GONZALEZ DE CADEMARTORI

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

28/02/2021 08:12:22.0

ANDRÉ LUIZ MISSIO

Avallador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS)

Assinatura Eletrônica

26/02/2021 17:38:34.0

MAYARA ELITA CARNEIRO

Avallador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Avenida Lothário Meissner, 632 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80210-170 - Tel: (41) 3360-4212 - E-mail: pgfloresta@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 78027

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 78027

Dedico este trabalho ao meu pai, Marivaldo Dias (*in memoriam*), cujo cuidado espiritual me manteve firme nos dias mais difíceis.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo. Sem ti, Senhor, eu nada seria.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal (PPGEF) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), por todo aprendizado e suporte neste período.

À Embrapa Florestas e colaboradores, por me permitir desenvolver parte da minha pesquisa em uma infraestrutura de excelência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

À Suzano Papel e Celulose, por ceder gentilmente o material que originou esta pesquisa.

Aos professores Dr. Bruno José Gonçalves da Silva, Dr^a Mayara Elita Carneiro e Dr^a. Giselle Maria Maciel por me permitir acessar os laboratórios sob sua supervisão.

Ao meu orientador, professor Dr. Pedro Henrique Gonzalez de Cademartori, pelos ensinamentos, incentivo e paciência, mas principalmente por ser fonte de inspiração.

Ao meu coorientador Dr. Edson Alves de Lima supervisão na Embrapa Florestas.

Ao meu coorientador Dr. Washington Luiz Esteves Magalhaes, por compartilhar do seu vasto conhecimento.

À minha coorientadora Dr^a. Cristiane Helm, pela doçura em ensinar que me levou a saber qual tipo de profissional que eu quero ser.

Ao Mailson, Rayta, Tatiane, Caio, Fabrício e todos que contribuíram ativamente para que eu conseguisse finalizar o trabalho.

À todos os amigos, os antigos que sempre deram força e vibraram a cada etapa, e aos que fiz ao longo desses dois anos, que fizeram a jornada de uma baiana no sul se tornar mais leve.

À Lucas Miguez, por toda a paciência e cuidado sem os quais tudo teria sido mais difícil.

À minha irmã, Verena Dias e toda a minha família por sempre acreditarem que eu consigo.

À minha mãe, por ter me ensinado acima de tudo resiliência, coragem e força e por fazer meu sonho possível. Eu amo você.

Obrigada!

Crê em ti mesmo, age e verás os resultados. Quando te esforças, a vida também se esforça para te ajudar.

Chico Xavier

RESUMO

O bio-óleo é uma fonte promissora para geração de produtos de maior valor agregado. Uma das formas de simplificar o aproveitamento das diversas potencialidades do bio-óleo é o fracionamento, que consiste na separação de fases que o constituem. A fase insolúvel, denominada lignina pirolítica tem aplicações conhecidas pela literatura, enquanto a fase solúvel resultante carece de informações acerca do comportamento físico-químico, atividade antioxidante e antimicrobiana. Desse modo, o presente estudo objetivou caracterizar quimicamente a fase aquosa (FA) resultante do fracionamento do bio-óleo e verificar sua estabilidade físico-química, bem como seu potencial antioxidante e antimicrobiano. Para tal, o bio-óleo foi fracionado em água fria a 17.000 RPM em três proporções bio-óleo: água, sendo elas 1:100, 1:70 e 1:50. A fase aquosa resultante do fracionamento foi caracterizada em relação as propriedades físico-químicas, composição química via cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, estabilidade físico-química sob condições de envelhecimento, além da potencial capacidade antioxidante e ação biocida contra fungos e bactérias. Os principais resultados do presente estudo mostraram que quanto menor o teor de água utilizado no fracionamento, maior é o rendimento, o qual foi superior (em torno de 60%) para a fração 1:50. Observou-se a presença de classes de compostos químicos na fase aquosa, sendo eles éteres, ésteres, aldeídos, compostos nitrogenados, anidro açúcares, fenóis, álcoois e alcanos, com destaque para o catecol, o 5-hidroximetilfurfural, a vanilina e a levoglicosana. Especificamente, a levoglicosana foi o composto majoritário, atingindo cerca de 44% em área relativa na proporção 1:50. A fase aquosa apresentou relevante capacidade antioxidante em decorrência da sua composição química fortemente fenólica, que somada a outros compostos químicos detectados na fase aquosa resultaram também em uma alta atividade antifúngica contra os fungos *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum*, e contra as bactérias gram-negativa *Escherichia coli* e gram-positiva *Staphylococcus aureus*. De maneira geral, os compostos químicos detectados na fase aquosa se mostraram estáveis quimicamente ao longo de 43 dias de envelhecimento, confirmando que a fase aquosa pode ser considerado uma promissora alternativa para a extração e purificação de químicos de maior valor agregado em um sistema de biorrefinaria, bem como aplicações como agente antimicrobiano e antioxidante.

Palavras-chave: Fração aquosa. Conversão termoquímica. Compostos fenólicos. Levoglicosana. Potencial antimicrobiano. Capacidade antioxidante.

ABSTRACT

Bio-oil is a promising source for the generation of higher value-added products. One of the ways to simplify the use of the various potentialities of bio-oil is the fractionation, which consists of the separation of phases through methods such as liquid-liquid extraction, molecular distillation and extraction in cold water, the latter being the most advantageous due to the simplicity of processing. The insoluble phase, called pyrolytic lignin has applications known in the literature, while the resulting water-soluble phase lacks information about physicochemical behavior, antioxidant and antimicrobial activity. Thus, the present study aimed to chemically characterize the FA and verify its physicochemical stability, as well as its antioxidant and antimicrobial potential. For this, the bio-oil was fractionated in cold water at 17,000 RPM in three bio-oil: water ratios, being them 1:100, 1:70 and 1:50. The aqueous phase resulting from the fractionation was characterized in relation to physicochemical properties, chemical composition via gas chromatography coupled to mass spectrometry, physicochemical stability under aging conditions, the potential antioxidant capacity and biocide action against fungi and bacteria. The main results of this study showed that the lower the water content used in the fractioning, the higher the yield, which was higher (around 60%) for the 1:50 fraction. It was observed the presence of chemical compounds in the water-soluble phase, being them ethers, esters, aldehydes, nitrogen compounds, anhydrous sugars, phenols, alcohols and alkanes, with emphasis on catechol, 5-hydroxymethylfurfural, vanillin and levoglucosan. Specifically, levoglucosan was the major compound, reaching about 44% in relative area in the proportion 1:50. The water-soluble phase showed relevant antioxidant capacity, especially due to its chemical phenolic composition. These phenolic compounds, as well as other chemical compounds detected in the water-soluble phase resulted in a high antifungal activity against the fungi *Trametes versicolor* and *Gloeophyllum trabeum*, and against the gram-negative bacteria *Escherichia coli* and gram-positive *Staphylococcus aureus*. In general, the chemical compounds detected in the water-soluble phase have shown to be chemically stable over 43 days of ageing, confirming that the water-soluble phase can be considered a promising alternative for the extraction and purification of higher added value chemicals in a biorefinery system, as well as applications as an antimicrobial and antioxidant agent.

Keywords: Aqueous Fraction. Storage Stability. Phenolic Compounds. Levoglucosan, Antimicrobial Potential. Antioxidant Activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESQUEMA DA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO.	22
FIGURA 2 - PROCESSO DE OBTENÇÃO DA LIGNINA PIROLÍTICA	23
FIGURA 3- ESQUEMA DE BIORREFINARIA USANDO O FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO COMO MÉTODO PARA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS.	26
FIGURA 4- NÚMERO DE PATENTES ACERCA DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO POR ANO.	27
FIGURA 5- SÉRIE TEMPORAL DO NÚMERO DE PUBLICAÇÕES ACERCA DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.	28
FIGURA 6- NÚMERO DE PUBLICAÇÕES POR PAÍS ACERCA DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.	29
FIGURA 7- NÚMERO DA PUBLICAÇÃO ACERCA DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO FRACIONAMENTO DE BIO-ÓLEO POR ANO.	29
FIGURA 8- ESQUEMA DE ETAPAS ESTABELECIDAS PARA O FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.	30
FIGURA 9- ESQUEMA DE ETAPAS ESTABELECIDAS PARA O FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.	31
FIGURA 10- RENDIMENTO DA FASE AQUOSA EM FUNÇÃO DA PROPORÇÃO BIO-ÓLEO: ÁGUA UTILIZADA PARA O FRACIONAMENTO.	40
FIGURA 11- VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO DA FA EM UM PERÍODO DE 30 DIAS.	42
FIGURA 12- COMPOSTOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS PELO CG-EM SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DA FASE AQUOSA.	44
FIGURA 13- CROMATOGRAMA ILUSTRATIVO DA INJEÇÃO CROMATOGRÁFICA DA FA 1:100.	47
FIGURA 14- ÁREA RELATIVA PERCENTUAL DOS PICOS REFERENTES AOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS DURANTE NOVE DIAS EM ENVELHECIMENTO ACELERADO DA FASE AQUOSA DETECTADOS VIA CG-EM, CONSIDERANDO A CLASSE QUÍMICA.	48
FIGURA 15- ÁREA PERCENTUAL DOS PICOS RELATIVOS DE COMPOSTOS IDENTIFICADOS DURANTE O ENVELHECIMENTO ACELERADO DURANTE 43 DIAS DA FA DETECTADOS VIA CG-EM, CONSIDERANDO A CLASSE QUÍMICA (a); E COMPOSTOS QUÍMICOS DE ALTO VALOR AGREGADO DETECTADOS NAS FRAÇÕES DA FA POR ANÁLISE CG-EM (b).	50

FIGURA 16- CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS E SUAS RESPECTIVAS DERIVADAS DA FASE AQUOSA SECA.....	53
FIGURA 17- CRESCIMENTO MICELIAL DOS FUNGOS <i>Trametes versicolor</i> (A) E <i>Gloeophyllum trabeum</i> (B), AO LONGO DE 26 DIAS DIANTE DAS FRAÇÕES 1:100, 1:70 E 1:50.....	58
FIGURA 18- ILUSTRAÇÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS DETECTADOS POR ANÁLISE DE CG-EM NA FASE AQUOSA.....	59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- PRODUTOS E CONDIÇÕES DOS TIPOS DE PIRÓLISE.....	18
TABELA 2- ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO BIO-ÓLEO DE DIFERENTES BIOMASSAS.	20
TABELA 3- PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO BIO-ÓLEO.....	31
TABELA 4- PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DAS FASES AQUOSAS 1:50, 1:70 E 1:100.	43
TABELA 5- CAPACIDADE ANTIOXIDANTE FRENTE AOS RADICAIS LIVRES DHPP, ABTS+, FRAP E TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS DA FASE AQUOSA.....	54
TABELA 6- CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DAS BACTÉRIAS <i>E. coli</i> E <i>S. aureus</i>	61

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Objetivo Geral	17
1.1.2 Objetivos Específicos	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 BIO-ÓLEO.....	18
2.2 TRATAMENTOS PRESERVANTES DA MADEIRA	19
2.3 POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO BIO-ÓLEO	20
2.4 FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO	21
2.5 PRODUTOS DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO	24
2.6 FRAÇÃO POLAR DO BIO-ÓLEO	25
2.7 ESTADO DA ARTE - FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO DE PIRÓLISE RÁPIDA NO CONCEITO DA BIORREFINARIA.....	27
3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL.....	30
3.2 PRODUÇÃO DO BIO-ÓLEO	30
3.3 FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.....	31
3.4 RENDIMENTO.....	32
3.5 pH.....	32
3.6 DENSIDADE	33
3.7 CONCENTRAÇÃO	33
3.8 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	33
3.9 COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR CG-EM.....	33
3.10 ESTABILIDADE QUÍMICA DA FASE AQUOSA SOB ENVELHECIMENTO ACCELERADO	35
3.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	36
3.11.1 Método DPPH	36
3.11.2 Método ABTS	37
3.11.3 Método FRAP.....	37
3.12 TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	37
3.13 POTENCIAL ANTIMICROBIANO	38
3.13.1 Atividade Antifúngica	38

3.13.2	Atividade Antibacteriana	38
3.14	ANÁLISE DOS DADOS	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1	RENDIMENTO.....	40
4.2	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	42
4.3	COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR CG-EM	43
4.4	ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA POR CG-EM	46
4.5	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA.....	52
4.6	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	54
4.7	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FASE AQUOSA	57
4.8	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	61
5	CONCLUSÕES.....	63
	REFERÊNCIAS	64
	APÊNDICE 1	80
	APÊNDICE 2	84
	APÊNDICE 3	89
	APÊNDICE 4	91

1. INTRODUÇÃO

Uma das preocupações ascendentes no cenário produtivo mundial é a geração de resíduo. Seguindo essa tendência, a indústria celulósica vem buscando formas rentáveis de reincluir seus rejeitos na cadeia produtiva, em especial os finos de madeira, em razão do grande volume gerado. Por exemplo, a cada tonelada de papel produzido, 200 kg de finos virão a serem rejeitados por não se adequarem as especificações dimensionais exigidas processos de polpação Kraft. Nesse aspecto, evidencia-se o processo de conversão termoquímica desses finos de madeira residuais, em um reator de pirólise rápida objetivando a produção do bio-óleo, colocando-o como uma alternativa para geração de energia a partir de um biocombustível de segunda geração (BAJPAI, 2015; MATOS et al., 2020).

A pirólise consiste no processo de termoconversão da biomassa com baixas taxas de oxigênio que resulta na produção de carvão (fração sólida), gás (fração gasosa) e bio-óleo (fração líquida), onde a velocidade de conversão da biomassa é influenciada pela temperatura e taxa de aquecimento. Estes parâmetros caracterizam o tipo do processo como pirólise lenta, pirólise rápida ou gaseificação, o que resulta em diferentes rendimentos dos produtos. Especificamente, na pirólise lenta é gerado maior quantidade de fração sólida, o carvão vegetal, enquanto na pirólise rápida há maior rendimento de fração líquida, o bio-óleo (BRIDGWATER, 2003).

O bio-óleo é um subproduto com grande concentração de energia, e maior rendimento quando advindo da pirólise rápida, processo onde há aplicação de temperatura que, embora não haja consenso entre os autores, varia entre 400 e 600°C, a qual acarreta a concentração do carbono no material sólido. Além disso, há volatilização de gases que carregam consigo vapores que após serem condensados separam-se em fase gasosa não-condensável e fase líquida, isto é, o bio-óleo (WANG et al., 2015). Também conhecido como alcatrão pirolenhoso, o bio-óleo é um produto com caráter hidrofóbico de cor escura, e constituído quimicamente de inúmeros compostos oxigenados provenientes da degradação térmica da celulose, hemicelulose e lignina, entre eles metanol, cetonas, aldeídos, ésteres, ácidos, além de água. (HUBER et. al., 2006).

No entanto, a utilização do bio-óleo de forma direta como alternativa para geração de energia apresenta uma série de barreiras econômicas e técnicas que o impedem de se tornar competitivo aos combustíveis de origem fóssil, tal como o petróleo. Dentre esses impedimentos, a literatura cita a qualidade do combustível, corrosibilidade, separação de

fases, alta umidade e baixa estabilidade (JAHIRUL et al., 2012; NOMANBHAY et al., 2018). Dessa maneira, alternativas para contornar estas limitações têm sido pesquisadas, tais como a adição de solventes orgânicos como metanol e etanol no bio-óleo em prol de uma maior estabilidade (YU et al., 2007).

Ressalta-se que o bio-óleo também pode ser fonte para geração de produtos de maior valor agregado e de interesse de diversas cadeias produtivas. O processo de fracionamento do bio-óleo surge como forma de mitigar os problemas de utilização do mesmo. Baseia-se na quebra da emulsão que constitui o bio-óleo e posterior arraste dos compostos por afinidade química, isto é, polaridade dos compostos químicos presentes na estrutura da fração líquida. Métodos como extração líquido-líquido, destilação molecular e em água fria, são utilizados para a separação das fases, sendo método de fracionamento em água fria o mais ecologicamente correto (ZHANG et al., 2019). Especificamente, o fracionamento em água fria dá origem a duas fases, uma insolúvel em água e a outra fase solúvel em água.

A fase insolúvel, também denominada como lignina pirolítica é constituída pelos compostos oligômeros fenólicos oriundos da degradação térmica da lignina e responsável por 20% a 30% do conteúdo do bio-óleo. A lignina pirolítica é destinada à produção de biocombustíveis e adesivos, enquanto a fase solúvel tornar-se-á um resíduo (OASMAA; CZERNIK, 1999; HIMMELBLAU et al., 2000).

Embora ainda pouco estudada, a fração polar do bio-óleo tem grande potencial de utilização em razão da presença de aldeídos furânicos e compostos fenólicos, que podem ser aplicados com agentes antimicrobianos; além de ácidos carboxílicos e anidro açúcares, que podem ser extraídos e purificados (REN et al., 2016), gerando produtos de maior valor agregado à cadeia.

Diversos autores dedicaram-se a estudar a fração polar oriunda de processos de extração, dentre eles o fracionamento do bio-óleo, para o refino de compostos químicos de maior valor agregado, como compostos fenólicos e levoglicosana (STANFORD et al., 2018; REN et al., 2016). Wang et al. (2020) descreveram a redução de 2 e 32,5 vezes no impacto ambiental, no que se refere a aquecimento global e esgotamento de recursos, respectivamente, para a extração da levoglicosana a partir da pirólise, em relação á origens não renováveis, demonstrando compatibilidade com a ascendente preocupação acerca da questão ambiental.

Com a ascensão do conceito de economia circular devido ao aumento da preocupação com a sustentabilidade, há um movimento no sentido da inclusão e reaproveitamento de resíduos à cadeia produtiva. Busca-se aumentar a eficiência da produção e utilização de produtos de base florestal, reduzindo a necessidade de produtos primários e, simultaneamente,

proporcionar a redução do desperdício de materiais. Dessa forma, a reintrodução da fase aquosa do bio-óleo na cadeia produtiva se insere no modelo de bioeconomia, esta última cada vez mais crescente em todo o mundo (AZEVEDO, 2015).

Nesse contexto, o conceito de biorrefinaria se enquadra positivamente no âmbito deste trabalho, pois a biorrefinaria propõe a utilização de produtos de origem renovável para fins energéticos e como fonte alternativa para uma vasta gama de compostos químicos refinados de alto valor agregado (SANTOS et al., 2012). Para impulsionar e viabilizar a utilização do bio-óleo de pirólise rápida de forma significativa como produto comercial, faz-se necessário compreender a sua estrutura química, potencialidades e o comportamento da matéria-prima, dentre elas a estabilidade físico-química diante das variações nas condições de fracionamento em função das condições ambientais (GIUDICIANNI, 2006).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Objetiva-se com este trabalho investigar a composição química e caracterizar a estabilidade físico-química da fase aquosa do bio-óleo proveniente da pirólise rápida dentro de um modelo de biorrefinaria no setor florestal.

1.1.2 Objetivos Específicos

Investigar a influência da variação das condições de fracionamento do bio-óleo nas propriedades físico-químicas da fase aquosa.

Caracterizar a estabilidade físico-química da fase aquosa residual oriunda do fracionamento do bio-óleo.

Investigar a aplicação da fase aquosa do bio-óleo quanto à sua ação biocida e sugerir produtos aos quais sua característica química apresentem sucesso de aplicação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIO-ÓLEO

O bio-óleo é um líquido viscoso de cor preta e odor característico, também denominado de óleo de pirólise ou alcatrão pirolenhoso, obtido por meio da pirólise, processo de termoconversão em ambiente inerte. Dependendo das condições utilizadas, a pirólise pode ser classificada em três tipos principais, sendo elas pirólise lenta, pirólise rápida ou gaseificação. A Tabela 1 indica os produtos e condições dos tipos de pirólise.

TABELA 1- PRODUTOS E CONDIÇÕES DOS TIPOS DE PIRÓLISE.

Degradação térmica	Tempo de residência (s)	Temperatura média (°C)	Carvão (%)	Líquidos (%)	Gases (%)
Pirólise lenta	900	550	44-49	26-30	16-22
Pirólise rápida	4	750	13-23	58-64	13-18
Gaseificação	1800	1250	7-11	4-7	82-89

FONTE: Adaptado de Demirbas (2009).

A pirólise lenta é caracterizada pela temperatura em torno de 550 °C, cujo objetivo é condensar a maior parte da energia em carvão vegetal. A taxa de aquecimento varia de 0,1 a 4 °C/min, e o tempo de residência pode variar entre 600 a 6000 segundos. Já a pirólise rápida atinge temperaturas entre 650°C e 950°C, a taxa de aquecimento varia de 10 a 200 °C/s, o tempo de residência é de 0,5 a 5 segundos, e concentra a energia em um produto líquido, o bio-óleo. Acima desta temperatura, a pirólise é chamada de gaseificação em decorrência da volatilização dos componentes da biomassa (BRIDGWATER, 2003; MESA-PEREZ et al., 2005; DEMIRBAS, 2009).

O bio-óleo possui estrutura química complexa, advinda da alta temperatura aplicada a biomassa que provoca ruptura e recombinações químicas, bem como alterações físicas, liberando compostos de carbono concentrado no produto resultante do processo. Assemelha-se ao petróleo tanto visualmente, quanto em potencial energético. Sua densidade energética pode atingir 50% a 60% dos combustíveis fósseis (QIANG, 2009; SÁNCHEZ, 2010; MESA, 2011).

A estrutura fundamental do bio-óleo é ocasionalmente variável em função da biomassa matriz, porém alguns componentes são fixos, visto que a estrutura química da madeira possui elementos comuns, como a celulose, polioses e lignina. Entre esses componentes, há diversos grupos orgânicos, em que mais de 300 compostos já foram descritos, entre eles ácidos, açúcares, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, furanos, fenóis, oxigenados mistos, guaiacol e siringol com diferentes pesos moleculares (HUBER et al., 2006; JACOBSON et al., 2013).

Dentre a vasta gama de compostos presentes no bio-óleo, os mais valorizados industrialmente são os anidro açúcares, incluindo xilose, celobiosana e levoglicosana, com grande abundância no bio-óleo. Estes compostos podem ser hidrolisados, originando a glicose utilizada na produção de etanol (OASMAA; MEIER, 2005). Outros compostos de interesse comercial são integrantes da classe dos fenóis, como guaiacol, cresóis, siringol e fenol devido às suas diversas aplicações como matéria-prima em processos de produção de resinas adesivas e síntese de produtos farmacêuticos, e agente germicida (MANTILLA et al., 2015).

Embora apresente alguns problemas de utilização, como alta acidez (pH 2,5), instabilidade térmica e alta reatividade, o bio-óleo é considerado uma fonte promissora e limpa de compostos químicos de alto valor agregado, salientando os fenóis decorrentes da termodegradação da lignina. Tais componentes podem ser utilizados para diversos fins, entre eles fertilizantes, adesivos, flavorizantes, combustíveis e biocidas (BRIDGWATER, 2003; LU, 2013; ARAUJO, 2018).

2.2 TRATAMENTOS PRESERVANTES DA MADEIRA

A madeira é um material altamente suscetível ao ataque de agentes deterioradores em razão da sua natureza orgânica. Dentre os esses, os microorganismos mais agressivos são os fungos que retiram nutrientes dos componentes da madeira. Dentre as espécies que causam maior prejuízo econômico é possível salientar os fungos *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum* causadores da podridão branca e parda respectivamente (VIVIAN, 2011).

Para garantir a durabilidade dos produtos de madeira, faz-se necessário a aplicação de produtos preservantes que atuam impedindo o ataque de organismos xilófagos, como o creosoto, o pentaclorofenol, e o CCA (Arseniato de Cobre Cromatado), que são produtos altamente eficazes, entretanto tem sua aplicação questionada devido a composição química que apresentam a saúde humana, animal e ao meio ambiente e que, em razão desse risco encontram restrições na sua utilização (DIAS; BARREIROS 2017).

Desse modo, é de suma relevância a substituição dos produtos comumente utilizados como biocidas, pois a existência de incentivos para alteração do modelo de preservação da madeira clássica no Brasil por outros de menor risco toxicológico, demonstrando que existe a possibilidade da implantação de restrições para o uso de preservantes de madeira clássicos em um futuro próximo (CAO; JIANG, 2014).

Nesse aspecto a pesquisa e posterior aplicação de produtos de origem natural, que tenham em sua cuja aplicação torne a madeira resistente a ataque de microrganismos deterioradores da madeira de modo a serem menos agressivos a natureza (WANG et al., 2005).

2.3 POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO BIO-ÓLEO

O aumento da resistência de microrganismos aos antibióticos e pesticidas disponíveis tem gerado preocupação na comunidade científica que busca novos materiais com potencial biocida. No que se refere ao tratamento de madeira, existe a tendência da restrição severa para a utilizações dos preservantes comumente empregados no mercado brasileiro devido à toxicidade (LOURENÇON et al., 2016; MATTOS et al., 2019).

Segundo Mattos et al. (2019), o bio-óleo apresenta utilização comercial há mais de 20 anos, todavia o seu potencial antifúngico e antibacteriano tem sido explorado recentemente, conforme sumário descrito na TABELA 2.

TABELA 2- ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO BIO-ÓLEO DE DIFERENTES BIOMASSAS.

Microrganismo	Biomassa	Concentração	Organismo
	Folhas de tabaco	375 mg / ml	<i>P. ultimum</i> <i>C. puteana</i>
	Pinhal	Sem diluição	<i>P. placenta</i> <i>L. lepidus</i> <i>G. trabeum</i>
Fungos	Madeira de pinho, casca de pinheiro, madeira de carvalho, casca de carvalho e suas frações	96-192 kg/m ³	<i>T. versicolor</i> <i>T. palustres</i>
	Choupo amarelo (<i>L. tulipifera</i>)	75-100%	<i>T. versicolor</i> <i>G. trabeum</i>
	Resíduos de madeira de eucalipto	50%	<i>T. versicolor</i>
Bactérias	<i>Densiflora</i>	500-1000 µg/ml	<i>B. cereus</i> <i>L. monocytogenes</i>

		<i>S. Typhimurium</i>
		<i>E. coli</i>
<i>P. glabra, M. ferrea e Parachlorella spp</i>	1,56-6,25 µg/ml	<i>S. aureus,</i> <i>E. coli</i>
Folhas de tabaco e suas frações	375 mg / ml	<i>S. scabies,</i> <i>C. michiganensis</i>
Pó de café e suas frações	Não diluído	<i>S. scabies</i> <i>C. michiganensis</i>

FONTE: Adaptado de Mattos et al. (2020).

Apesar de diferentes espécies e frações da biomassa tenham sido aplicadas ao processo da pirólise rápida, observa-se que todos os autores obtiveram bons resultados diante dos diversos microrganismos estudados em razão da presença de fenóis e ácidos orgânicos na composição química do bio-óleo (KIM et al., 2012). O potencial antimicrobiano do bio-óleo está atrelado principalmente a dois grupos de compostos, sendo eles os ácidos orgânicos e os fenóis. Os ácidos orgânicos são originados a partir da termodegradação da celulose, em que esses compostos têm a capacidade de acidificar o citoplasma celular do microrganismo inviabilizando a produção de ATP (THEAPPARAT; LEELASUPHAKUL, 2015).

Os compostos fenólicos, por sua vez, têm alto potencial antioxidante por meio da neutralização de radicais livres, além de quelar íons metálicos. Esse mecanismo é eficiente para evitar o ataque antimicrobiano pois o principal método de ação dos microrganismos se dá por meio do ataque oxidativo (MOHAN et al., 2008)

Nesse aspecto, o bio-óleo tem grande potencial de utilização como antifúngico e antibacteriano, visto que é um produto de origem renovável capaz de proteger materiais susceptíveis ao ataque de microrganismos, como a madeira. Todavia para este material em específico ainda se necessita de pesquisas como forma de mitigar a lixiviação do mesmo do interior da madeira (LOURENÇON et al., 2016).

2.4 FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO

O bio-óleo apresenta uma numerosa gama de compostos químicos complexos, ocasionando grande dificuldade de extração na sua forma íntegra. Visto isso, o fracionamento apresenta-se como uma forma de simplificar a extração através da polaridade do composto de

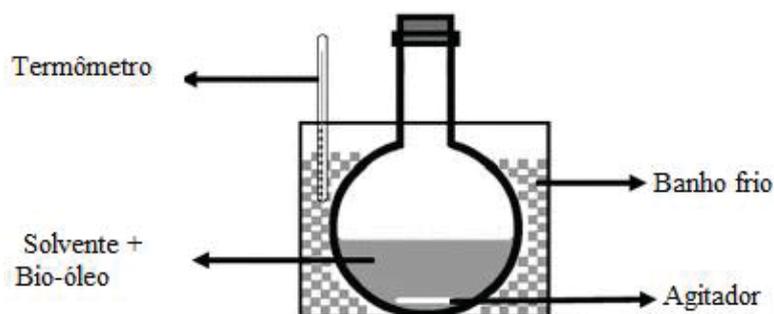
interesse (PRIMAZ, 2014). Arelado a isso, o conceito de biorrefinaria inclui fracionamento para separação dos produtos primários (DEMIRBAS, 2009).

Fracionamento é uma técnica que consiste na desemulsificação do bio-óleo, resultando em duas fases, uma apolar e insolúvel em água, descrita como lignina pirolítica e uma polar, solúvel em água (BRIDGWATER, 2012). Técnicas como extração líquido-líquido, destilação molecular e extração em água vem sendo amplamente empregadas para simplificar a retirada de compostos químicos de interesse presentes no bio-óleo (CHAN, et al., 2020).

O bio-óleo é um produto similar ao petróleo, cuja utilização como fonte energética, térmica e para a extração de produtos químicos é realizada em um sistema de refinaria, com extrações em cadeia. Contudo, para aproveitar a estrutura já existente para o refino do petróleo, necessita-se de adaptações na estrutura química do bio-óleo para a redução ou retirada do oxigênio que favorecerá a redução da corrosibilidade e viscosidade, além do aumento no potencial energético (MAIER; FAIX, 1999). Nesse âmbito, as técnicas de fracionamento do bio-óleo atuam como facilitadoras do sistema de biorrefinaria com menores custos de implantação.

A extração líquido-líquido consiste na separação das fases baseado na afinidade química entre o material e o solvente. Após a extração, as fases são separadas devido a diferença de densidade usando força gravitacional ou centrífugas (FIGURA 1). A separação está intimamente ligada a polaridade da amostra, e inclui vantagens como baixo consumo de energia e não exigência de aplicação de calor, o que é vantajoso, visto que o bio-óleo é reativo diante de temperatura (MANDAL et al., 2015).

FIGURA 1 - ESQUEMA DA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO.



FONTE: Adaptado de Mantilla et al. (2015).

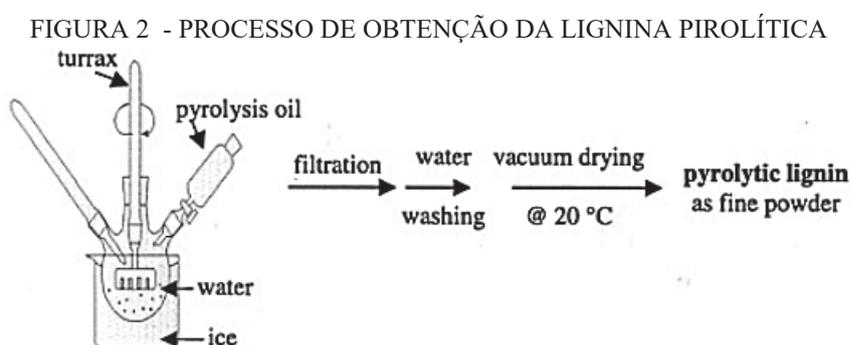
Os principais solventes utilizados na extração líquido-líquido são pentano, tolueno e acetato de etila, entretanto, diversos solventes podem ser utilizados de acordo com o produto

que se deseja obter (ZILNIK; JAZBINSEK, 2012). Gallivan e Matschei (1980) utilizaram etapas de destilação com cloreto de metileno ou éter e NaOH para obter a fração solúvel em um determinado pH para fabricação de resina. Com o mesmo objetivo, Rusell e Riemath (1985) realizaram uma extração sequencial com seis etapas e diferentes solventes.

A destilação comum não é indicada para o bio-óleo devido ao alto teor de compostos oxigenados que geram instabilidade térmica, o que leva facilmente a problemas de polimerização e formação de coque, impedindo o fracionamento do bio-óleo (SCHOLZE; MEIER, 2001; YANG et al., 2015). Todavia, a destilação molecular é uma tecnologia de separação eficiente que utiliza alto vácuo e temperaturas reduzidas, abaixo do ponto de ebulição normal de compostos termicamente instáveis, por meio de adição de vapor de água, permitindo que compostos sensíveis a aplicação de calor, a exemplo dos compostos aromáticos, não sejam degradados. A fração destilada é enriquecida principalmente por ácidos e cetonas com alta atividade, enquanto açúcares e oligômeros fenólicos são reservados na fração residual com baixa capacidade de conversão (WANG et al, 2009; CHEN, et al, 2018; BATISTELLA, 1999).

O método de extração em água, através de agitação mecânica em água fria, é o mais promissor e adequado para investigações analíticas, em razão do seu baixo custo e menor geração de resíduos, resultando em fases de solubilidade bem distintas. A fração insolúvel em água derivada principalmente do material de lignina se deposita no fundo, o que caracteriza uma etapa de decantação (FIGURA 2). Esse material é denominado lignina pirolítica. Enquanto a fase solúvel em água é rica em compostos derivados de carboidratos e se caracteriza pelo restante do material; esta fase solúvel é denominada como fase ou fração aquosa (ZHANG; WU, 2019; CHAN et al., 2020).

Chan et al (2020) listaram as vantagens do fracionamento do bio-óleo em água, dentre eles o menor custo e maior sustentabilidade do solvente e simplicidade do processo.



FONTE: Scholze e Meier (2001).

Os parâmetros de fracionamento utilizados no método influenciam diretamente no rendimento e na composição das frações geradas. BENNETT (2006) descreveu o maior rendimento de compostos polares em menores teores de água. Vitasari et al. (2011) estudaram o efeito da proporção bio-óleo: água e da taxa de agitação no fracionamento e detectaram valor médio de 0,65 para a melhor fase aquosa. Zhang et al. (2019) descreveu maior influência da proporção em relação a temperatura de fracionamento.

O fracionamento em água resulta na separação de fases e conseqüentemente permite que as fases geradas sejam acessadas separadamente, simplificando o processo de aproveitamento de compostos químicos que possam ser utilizados como matéria-prima ou produtos finais (JACOBSON et al., 2013).

2.5 PRODUTOS DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO

O bio-óleo de pirólise rápida é um produto promissor do ponto de vista da biorrefinaria de base termoquímica, que combina a produção de calor, energia, combustíveis e produtos químicos (VITASARI et al., 2011)

Na perspectiva da extração de compostos químicos, o bio-óleo possui variados componentes de interesse comercial, advindos da degradação térmica dos três componentes majoritários da madeira, celulose, hemicelulose e lignina. Esses compostos estão dispostos fisicamente como uma emulsão, que culmina e em maior dificuldade de extração e purificação, sendo o fracionamento uma importante ferramenta facilitadora na obtenção destes compostos (DIEBOLD; CZERNIK, 1997; CZERNIK; BRIDGWATER, 2004.)

A fração solúvel apresenta componentes polares de alto valor agregado, aos quais diversos autores buscaram conhecer o potencial de obtenção. Chan e Duff (2010) estudaram o potencial e extração de levoglicosana a partir do fracionamento do bio-óleo para a produção de etanol. Žilnik e Jazbinšek (2012) realizaram o fracionamento do bio-óleo para extração de compostos fenólicos. Rasrendra et al. (2011) utilizaram um processo de fracionamento em água para a extração de ácido acético, resultando em 92% de eficiência em relação a extração direta. Vitasari et al. (2011) estudaram a influência de diferentes condições de fracionamento no rendimento de compostos químicos de alto valor agregado como o furfural, furanona, levoglicosana, siringol e guaiacol, num sistema de biorrefinaria.

Definido como um anidro açúcar a levoglicosana pode ser convertida em glicose. Com base na razão estequiométrica, 1,0 g de levoglucosan pode produzir 1,11 g de glicose e conseqüentemente utilizado na produção de etanol. Além disso, a levoglicosana pode ser

aplicada na produção de antibióticos e agentes antiparasitários bem como matéria-prima para a produção de surfactantes, resinas e plásticos.

Durante a pirólise, os monômeros fenólicos e oligômeros produzidos a partir da lignina, são condensados e formam uma mistura complexa junto com açúcares derivados de carboidratos, furanos, ácidos, cetonas e aldeídos no bio-óleo. Este material tende a migrar para a fase hidrofóbica no processo de fracionamento, onde recebe o título de lignina pirolítica, componente insolúvel do fracionamento, que é basicamente composta de unidades fenólicas menores com grupos funcionais reativos, como grupos hidroxila fenólicos, grupos carbonila e grupos vinila (QU et al., 2016).

A lignina pirolítica responsável por até 30% do peso bruto do bio-óleo, bem como pela reatividade do mesmo. Apresenta amplo potencial de utilização, dentre eles como adesivos, resina, bioasfalto, combustível e fibra de carbono. Entretanto, a lignina pirolítica não é útil para posterior separação e purificação de açúcares, visto que essa fração hidrossolúvel se manterá em meio aquoso durante o fracionamento (SCHOLZE; MEIER, 2001; OASMAA; MEIER, 2005; WANG et al., 2015).

2.6 FRAÇÃO POLAR DO BIO-ÓLEO

A fase aquosa derivada do bio-óleo de pirólise compreende compostos derivados de carboidratos do bio-óleo e apresenta a maior concentração (até 90%) de compostos oxigenados oriundos do bio-óleo que migram para a fase aquosa devido a polaridade destes. Em relação a fase insolúvel, a fase solúvel apresenta maior rendimento total, cerca de 69% do conteúdo do bio-óleo após o fracionamento (LINDFORS et al., 2014; PIRES et al., 2019).

Devido à alta composição ácida e o menor conteúdo de carbono, a fração polar apresenta maior volatilidade e menor ponto de ebulição. Desse modo, a temperatura em que se inicia a degradação mantém-se em torno 179 °C. A menor temperatura de degradação também é influenciada pela forte presença de compostos classificados como ácidos carboxílicos, aldeídos, álcoois, cetonas e alcanos, todos com baixo peso molecular (BA et al., 2004; BENNETT, 2006; GUO et al., 2009).

Ba et al. (2004) aplicaram força centrífuga para separar as fases constituintes do bio-óleo e detectaram que a fase aquosa apresentou propriedades semelhantes ao bio-óleo, porém com maior teor de água e cinzas. Guo et al. (2009) utilizaram o método da destilação molecular e detectaram uma fração de coloração amarelo-limão com odor característico e com alto teor

de água, o que impede a combustão desta fração. Comparativamente, as propriedades físico-químicas desta fração em relação ao bio-óleo apresentam maior estabilidade.

Todavia, a fase aquosa apresenta maior concentração de compostos polares, portanto é uma alternativa promissora para a purificação de compostos químicos (FIGURA 3) dentro do conceito da biorrefinaria, pois apresenta a possibilidade de purificar produtos químicos, carboidratos, como levoglicosana, além do ácido acético. Também é passível de utilização para produzir hidrogênio por reforma catalítica (VITASARI, et al., 2011; RESENDE et al., 2015).

FIGURA 3- ESQUEMA DE BIORREFINARIA USANDO O FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO COMO MÉTODO PARA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS.



7

FONTE: Adaptado de Vitasari et al. (2011).

Em razão da presença marcante de compostos químicos de interesse, a fase aquosa oriunda do fracionamento do bio-óleo apresenta interesse comercial, especialmente para a recuperação e posterior fermentação da levoglicosana, aplicada na produção de bioetanol, por exemplo (BENNETT, 2006).

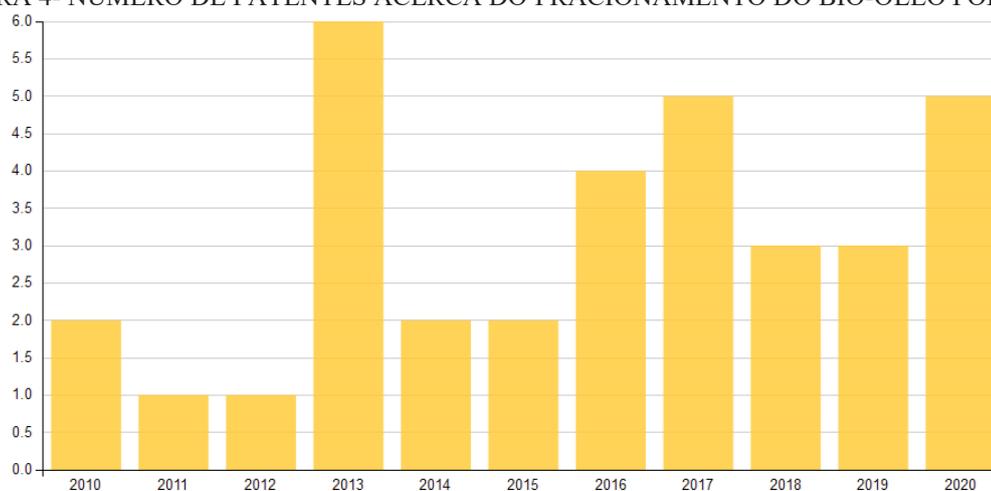
Em consequência da presença de compostos químicos de interesse comercial na fase aquosa, alguns autores buscaram investigar a obtenção destes compostos de maior valor agregado do bio-óleo após o fracionamento, embora ainda não haja aplicações específicas, sendo por este motivo é descartada na maioria dos casos (VITASARI, et al., 2011; LINDFORS et al., 2014; PIRES et al., 2019).

2.7 ESTADO DA ARTE - FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO DE PIRÓLISE RÁPIDA NO CONCEITO DA BIORREFINARIA

Frente a necessidade de acompanhar o desenvolvimento tecnológico acerca do fracionamento do bio-óleo como metodologia para simplificar a utilização do bio-óleo como matéria-prima, bem como técnica para a obtenção de compostos químicos de alto valor agregado, foi realizada um levantamento do cenário científico com base em patentes depositadas nos últimos 10 anos. Para tanto, foram utilizadas as palavras-chave “*fractionation*”, “*bio-oil*”, “*pyrolysis*” e “*biorefinery*” como forma de direcionar a busca aos resultados desejados na plataforma Patent Inspiration.

Foram detectados o depósito de 34 patentes ao longo dos anos analisados, sendo a maior parte relacionadas a produção de combustíveis oriundos da biomassa como substitutos do petróleo e mecanismo de inserção do bio-óleo em sistema de biorrefinaria, para extração de compostos químicos (FIGURA 4).

FIGURA 4- NÚMERO DE PATENTES ACERCA DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO POR ANO.



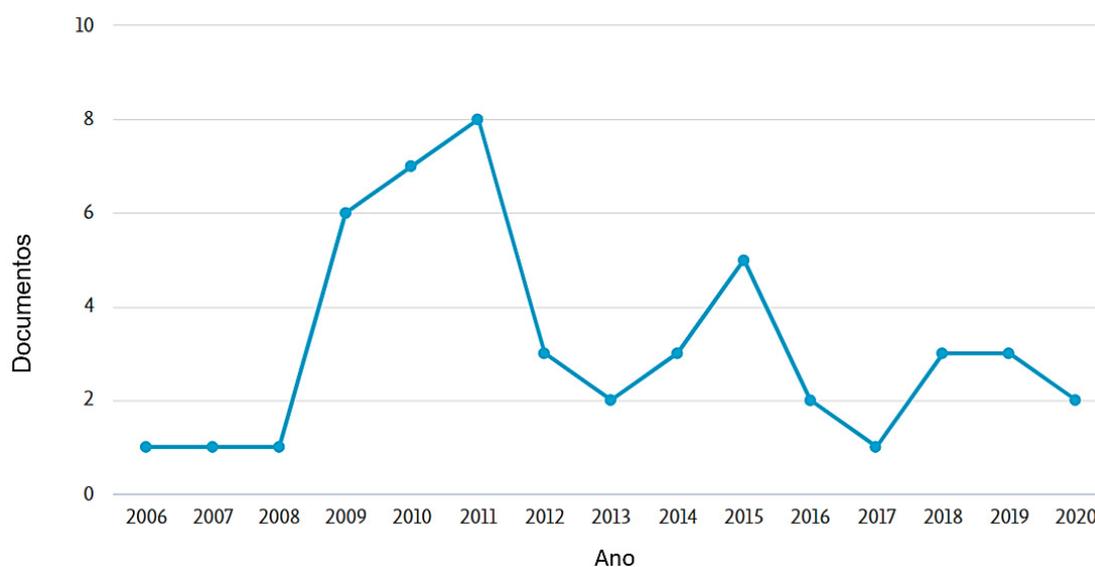
FONTE: PATENT INSPIRATION (2021)

Observa-se interesse ascendente na utilização da pirólise rápida para obtenção do bio-óleo como substituto do petróleo. Em 2020, apesar da restrição da circulação de pessoas e o maior foco da comunidade científica na crise sanitária global, houve a deposição de cinco novas patentes. Segundo Chan et al. (2020), é crescente a preocupação com o aspecto sustentável do processo produtivo, além da crise energética que ameaça o cenário mundial. Nesse aspecto, o bio-óleo e seus derivados, como a fase aquosa, se mostram promissores por

se apresentarem como uma alternativa para os produtos de origem não renovável (CZERNIK; BRIDGWATER, 2004).

No que se refere aos artigos publicados nos últimos 15 anos, na plataforma Scopus utilizando as mesmas palavras-chave, foram detectados 48 artigos publicados sendo o interesse comum das pesquisas a utilização do bio-óleo para os mais diversos fins, aplicando o fracionamento como método de simplificar a utilização (FIGURA 5).

FIGURA 5- SÉRIE TEMPORAL DO NÚMERO DE PUBLICAÇÕES ACERCA DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.

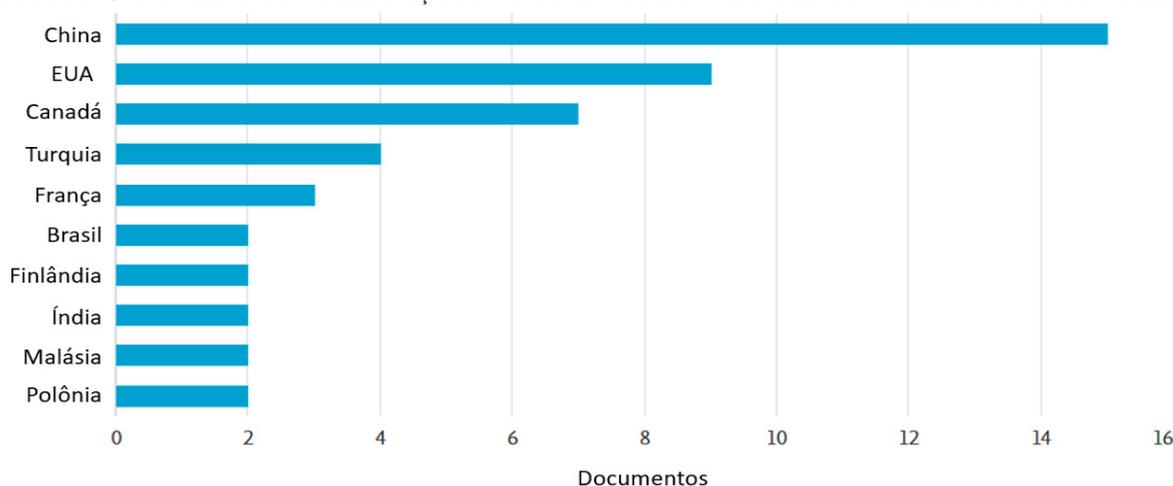


FONTE: Scopus (2021)

Houve um pico de publicações em 2011, com oito artigos. Já nos últimos anos, houve redução no interesse em pesquisas acerca do fracionamento do bio-óleo, embora a temática das publicações se mantenha uniforme com o passar dos anos, demonstrando que o fracionamento do bio-óleo tanto para geração de energia renovável, quanto para purificação de compostos químicos, assegurando a contemporaneidade desta pesquisa.

A maior parte das pesquisas relacionadas ao fracionamento do bio-óleo são originárias da China, seguida dos Estados Unidos da América, com quinze e nove artigos respectivamente. Esses países possuem notório interesse em desenvolvimento de novas tecnologias no que se refere ao fracionamento do bio-óleo utilizando de água e extração líquido-líquido (SEMELSBERGER et al., 2006), conforme descrito na FIGURA 6.

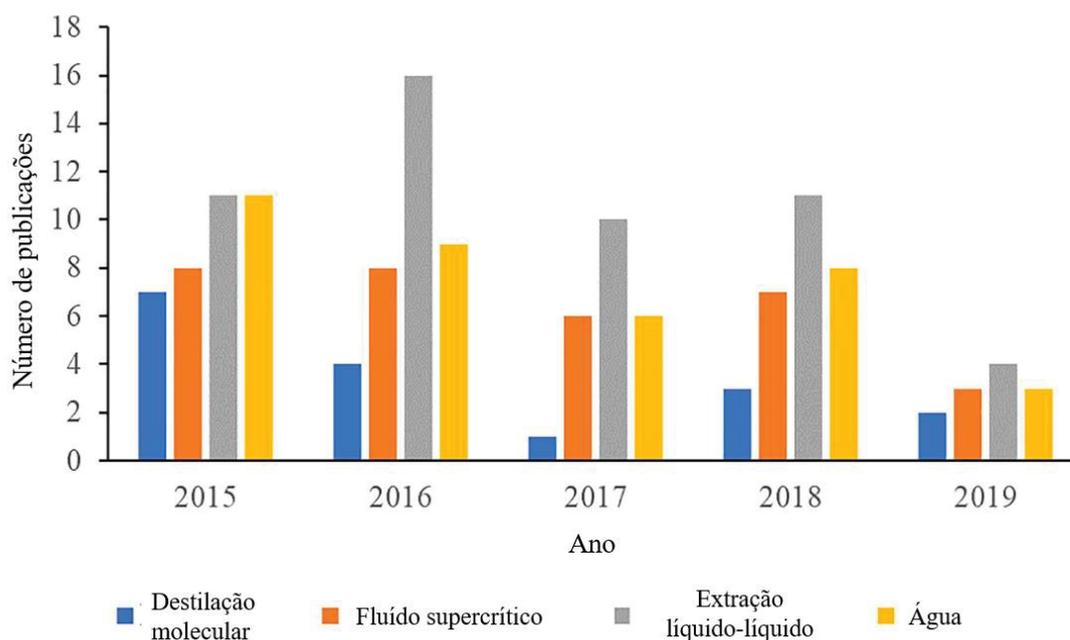
FIGURA 6- NÚMERO DE PUBLICAÇÕES POR PAÍS ACERCA DO FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.



FONTE: Scopus (2021)

Dos países com maior número de publicações, o Brasil se inclui na 6ª posição, com dois artigos publicados em 2009 e 2019. Na sequência, tem-se Finlândia, Índia, Malásia e Polônia, também com dois artigos (FIGURA 7).

FIGURA 7- NÚMERO DA PUBLICAÇÃO ACERCA DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DE BIO-ÓLEO POR ANO.



FONTE: CHAN et al. (2020).

No que se refere ao número de publicações acerca dos métodos de fracionamento aplicados ao bio-óleo entre os anos de 2015 e 2019, há redução no número de pesquisas, todavia a extração em água se mostrou interessante para a comunidade científica. Isso está

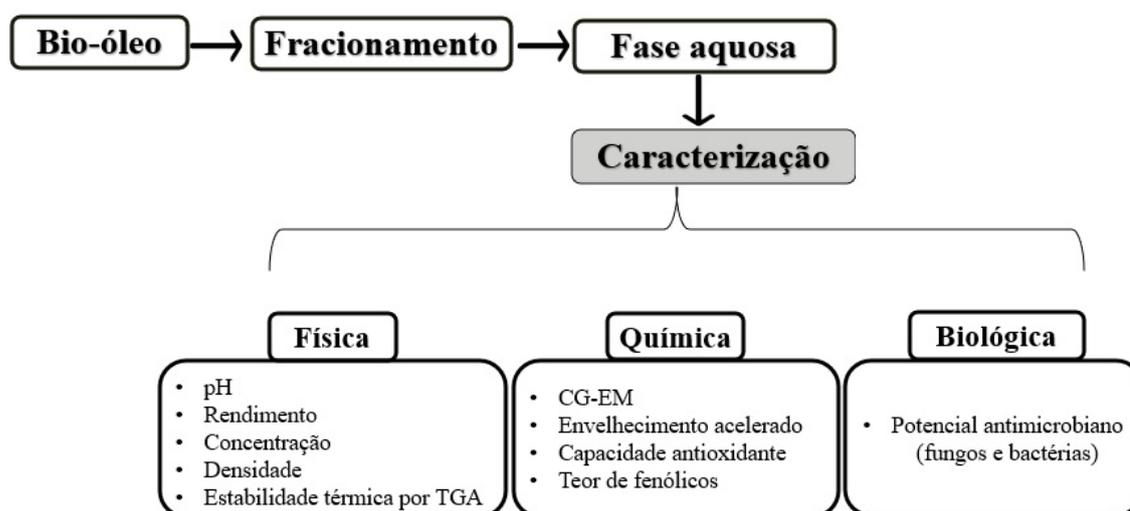
atrelado principalmente ao menor custo e menor dano ao meio ambiente deste método (CHAN et al., 2020).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL

A estratégia metodológica traçada para as análises que constituíram esta pesquisa foi, inicialmente o fracionamento do bio-óleo em água fria e posterior análise da fase aquosa obtida através de análises físicas, químicas e biológicas, conforme descrito na FIGURA 8.

FIGURA 8- ESQUEMA DE ETAPAS ESTABELECIDAS PARA O FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.



FONTE: O autor (2021).

3.2 PRODUÇÃO DO BIO-ÓLEO

O bio-óleo e pirólise rápida foi obtido através da empresa Suzano S.A., conforme a metodologia descrita em Matos et al. (2020). Para tal, realizou-se a pirólise rápida de finos de madeira de eucalipto (*Eucalyptus spp.*) em um reator em escala piloto (BIOWARE, Brasil) de leito fluidizado. O reator de pirólise rápida opera com alimentação nominal de 20 kg/h em atmosfera inerte numa temperatura de reação de 500 °C e 100 mmH₂O de pressão estática durante 5s. Para atingir a temperatura da reação, ar pré-aquecido foi injetado, culminando na combustão parcial da biomassa. O reator foi alimentado com gases quentes não-condensáveis

para manter a temperatura da reação constantemente a 500 °C. O bio-óleo utilizado como material experimental desta pesquisa foi caracterizado e os resultados estão resumidos na TABELA 3.

TABELA 3- PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO BIO-ÓLEO.

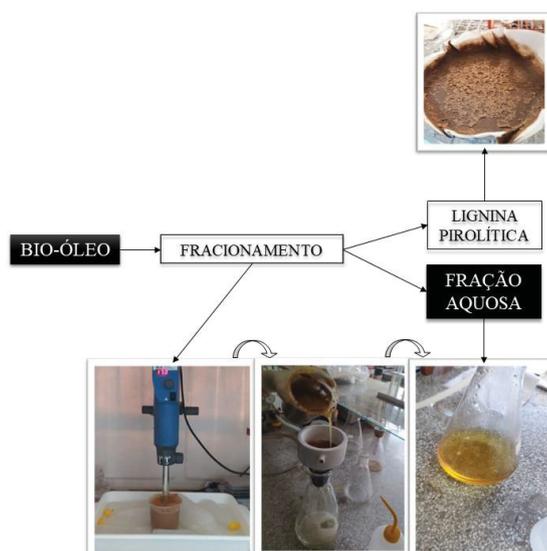
Propriedade	Valor médio
C (%)	53,63
N (%)	0,17
H (%)	7,37
pH (%)	3,3
Densidade (20°C) kg/m ³	1225,6
Teor de cinzas (%)	1,27
Viscosidade cinemática a 40 °C (mm ² /s)	436,13

FONTE: Matos et al. (2020).

3.3 FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO

O bio-óleo foi fracionado em água fria objetivando-se a separação das fases não-solúvel e solúvel em água via agitação mecânica vigorosa a 17.000 RPM em um equipamento Ultra-Turrax®T25 Digital (IKA). A obtenção da fase aquosa (FA) foi realizada a partir de quatro proporções de água fria: bio-óleo (1:35, 1:50, 1:70 e 1:100) para o fracionamento. Isto é, para cada 1g de bio-óleo adicionado, 35, 50, 70 ou 100 ml de água destilada fria foi utilizada como meio líquido para o fracionamento. A metodologia de fracionamento estabelecida para esta pesquisa está representada na FIGURA 9.

FIGURA 9- ESQUEMA DE ETAPAS ESTABELECIDAS PARA O FRACIONAMENTO DO BIO-ÓLEO.



FONTE: O autor (2021).

O bio-óleo foi adicionado com o auxílio de uma seringa descartável, mantendo-se a taxa de adição constante por um período de 10 minutos, em um becker contendo água fria, numa faixa entre 2°C a 5°C, com agitação mecânica constante e vigorosa a 17.000 RPM proporcionada pelo Ultra-Turrax. Após o tempo de adição, o material foi mantido sob a mesma velocidade de agitação por mais 15 minutos. Durante o período de fracionamento sob agitação vigorosa, o becker contendo o bio-óleo e a água destilada foi mantido em um sistema de banho-maria invertido contendo água fria e gelo para manter a temperatura da água dentro da faixa anteriormente estabelecida.

Posteriormente, o material resultante, contendo as duas fases fracionadas foi submetido a filtração a vácuo em um funil de Büchner juntamente com filtros de papel com porosidade de 14 µm. Dessa forma, a fração insolúvel em água, denominada lignina pirolítica, manteve-se retida no filtro de papel, enquanto a fase solúvel que foi filtrada, denominada fase aquosa (FA) foi armazenada sob refrigeração para reduzir um possível efeito de envelhecimento do material. Posteriormente, a FA foi submetida aos testes que se seguiram.

3.4 RENDIMENTO

O material retido no papel filtro nas diferentes condições de fracionamento foi seco em estufa a 90°C para determinação do rendimento de lignina pirolítica e fase aquosa. Foi realizado um cálculo do rendimento do processo de fracionamento, conforme descrito por Zhang et al. (2019), na Equação 1.

$$R_{FA} = \frac{Z_i}{M_f} \times 100\% \quad \text{Equação 1 (adaptada)}$$

Em que: RFA = porcentagem de massa (rendimento) da fase aquosa; (Z_i)= massa do filtro contendo material sólido após secagem; (M_f) = massa da quantidade de bio-óleo utilizada no fracionamento.

3.5 pH

O termo pH refere-se à concentração de íons H^+ em uma solução, indicando solução a acidez ou basicidade da mesma. Esses valores foram medidos em pHmetro digital (LGI Scientific SGI 210) calibrado em solução tampão à 25°C.

3.6 DENSIDADE

A determinação da densidade foi realizada pelo método do picnômetro (ASTM D4052-18), adaptado em um balão volumétrico, onde têm-se volume e massa conhecidos. A temperatura da amostra encontrava-se a 5°C. A densidade foi determinada por meio da equação 2.

$$D = \frac{M}{V} \quad \text{Equação 2}$$

Onde: D= Densidade (g/cm³); M= Massa (g); V= Volume (cm³)

3.7 CONCENTRAÇÃO

A concentração de materiais sólidos presentes em cada proporção de fracionamento da FA foi medida pelo método gravimétrico, em que 2ml da FA foi seco a 30°C sob vácuo durante 12 horas em um equipamento concentrador de amostras *SpeedVac*. Posteriormente, a massa de amostra seca foi coletada e a concentração foi calculada pela razão entre massa seca e volume úmido da FA utilizado.

3.8 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada para analisar o comportamento térmico da FA produzida a partir das diferentes condições descritas no tópico 3.2. As amostras das frações 1:50, 1:70 e 1:100 foram previamente secas em estufa sob temperatura de 80°C durante 24 horas.

As curvas termogravimétricas (TG) e as suas derivadas (dTG) foram obtidas em um equipamento Shimadzu DTG-60. Utilizou-se atmosfera inerte com gás nitrogênio (N₂) com fluxo de gás de 50 ml.min⁻¹, intervalo de temperatura entre 20°C e 800°C e taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹. A massa das amostras variou entre 7 e 12 mg. Os ensaios foram realizados em um cadinho de platina.

3.9 COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR CG-EM

A composição química por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas GC-EM foi realizada nas três frações estudadas para investigar o potencial do FA para a

extração de produtos químicos finos e aplicação como produtos de alto valor agregado. Oito condições de preparo da amostra, em triplicata, foram estabelecidas para proporcionar uma caracterização química detalhada, impulsionando potenciais aplicações do FA: extração líquido-líquido com acetato de etila, hexano, diclorometano e evaporação em um equipamento *SpeedVac*, todas com ou sem derivatização com anidrido acético.

Para a extração líquido-líquido, 1 ml de FA foi transferido para um frasco de 4 ml junto com 1 ml do solvente (acetato de etila, hexano ou diclorometano). A mistura foi agitada em vórtice por 2 minutos e após a separação de fases, 500 μL da camada orgânica superior foram coletados para o processo de derivatização enquanto 200 μL foram transferidos para inserção de frasco para injeção no sistema cromatográfico. A reação de acilação com anidrido acético foi realizada após secagem sob vácuo da fase orgânica da extração líquido-líquido seguida da adição de 840 μL de solução de carbonato de sódio 5% (p / v) juntamente com 30 μL de anidrido acético. A mistura foi agitada em vórtice durante 2 minutos e 500 μL de hexano foram adicionados seguido por 1 minuto de agitação em vórtice novamente. Após a fase de separação, a camada superior de hexano foi coletada (200 μL) e transferida para um inserto cromatográfico para análise por GC-MS. A derivatização do FA sem extração líquido-líquido foi realizada pela adição de 30 μL de anidrido acético e 25 mg de carbonato de sódio a 500 μL de FA. Após agitação em vórtice por 2 minutos, 200 μL foram coletados para evaporação em vácuo.

Para evaporação no *SpeedVac*, 200 μL do FA (após derivatização ou não) foram adicionados em bulas de cromatografia e mantidos sob vácuo a 40 °C por 2 horas para secagem e total remoção da água. Cada amostra foi reconstituída com 200 μL de acetona (grau HPLC) sob agitação de vórtice para posterior análise em cromatografia gasosa.

O sistema cromatográfico utilizado foi o cromatógrafo gasoso GCMS2010 Plus acoplado ao equipamento de espectrometria de massa em tandem triplo quadrupolo TQ8040 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). Hélio (He 5,0 analítico) foi usado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 1,0 ml min⁻¹. A identificação dos compostos químicos foi realizada em coluna capilar DB-5MS (30 m \times 0,25 mm de diâmetro interno \times 0,25 μm de espessura do filme) (Agilent J&W, Palo Alto, CA, EUA) com o volume de amostra de 1 μL injetado com split proporção 1:10. A temperatura da injeção e da fonte de íons foi mantida em 250 °C e a temperatura da interface em 300 °C.

O programa de temperatura do forno foi de 50 °C por 4 min, seguido de um aumento da temperatura até 280 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e mantida nesta temperatura por 3 min, totalizando 30 min. O espectrômetro de massa operou no modo

eletrônico de impacto positivo a 70 eV. Os compostos químicos foram identificados usando o modo de varredura completa de 60 a 400 m / z.

Como forma de avaliar a presença de ácidos que podem influenciar no potencial antibacteriano e antifúngico da FA, foi realizado uma análise GC-EM seguindo o método que consiste na aplicação de uma alíquota de 20 μL do extrato ácido e mais 20 μL de 5 α -colestano (padrão interno, 0,2 mg ml⁻¹ em acetato de etila) foram transferidas para um tubo de eppendorff cônico (1,5 ml), sendo após seco sob vácuo no *SpeedVac* (Concentrador plus - Eppendorf) durante uma hora, e posterior congelado até as derivatizações. A metoximação foi realizada adicionando no extrato seco 50 μL de uma solução preparada em piridina contendo 20 mg ml⁻¹ de cloridrato de metoxiamina, e misturada em vórtex por 30 segundos. A reação aconteceu em durante 90 minutos sob temperatura de 40 °C. Após o tempo de incubação, foram adicionados à solução 50 μL do agente de sililação MSTFA, sendo a solução misturada em vórtex por 30 segundos e incubados sob temperatura de 40 °C durante 90 minutos. Logo após, os tubos eppendorfs foram centrifugados sob 14.000 rpm por 5 minutos e uma alíquota de 80 μL transferida para vial de vidro com fundo cônico (0,5 ml), e levados para análises por GC-MS.

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando injeção automática (TripPlus AS, Thermo) em um cromatógrafo gasoso (Focus GC, Thermo) acoplado a um espectrômetro de massas de íon trap (Polaris Q, Thermo). As amostras foram injetadas com divisão de fluxo 1:25 (1 min), e separadas através de coluna cromatográfica modelo DB-5 (30 m x 0,25 mm Thermo). A separação dos compostos foi feita com a temperatura do injetor à 230 °C, linha de transferência 250 °C, gás de arrase hélio a 1,5 ml.min⁻¹, com fluxo constante e compensação à vácuo. Programação de temperatura do forno: 70 °C, isoterma de 1 min, aquecimento até 320 °C na taxa de 8 °C min⁻¹, com isoterma final de 18 min. O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo com ionização por impacto de elétrons à 70 eV, com temperatura da fonte de íons a 200 °C.

3.10 ESTABILIDADE QUÍMICA DA FASE AQUOSA SOB ENVELHECIMENTO ACELERADO

O envelhecimento acelerado durante nove dias da FA objetivou determinar a sua estabilidade química. Para isso, foram realizadas três análises CG-EM através método da secagem em *SpeedVac*. Para tanto, o bio-óleo foi fracionado e a FA obtida foi seccionada em três tubos *falcons* contendo 10ml cada.

A primeira amostra seguiu para a primeira análise cromatográfica para detectar o comportamento da FA imediatamente após o fracionamento. As demais amostras foram acondicionadas em estufa sob temperatura de 40 °C. A segunda amostra foi analisada após quatro dias de envelhecimento acelerado, enquanto a terceira amostra foi mantida em estufa sob mesma temperatura até o nono dia, quando ocorreu a última análise. As condições de operação e posterior análise por CG-EM seguiram os procedimentos previamente descritos no tópico 3.9.

Após o envelhecimento acelerado durante 9 dias, e baseado nos resultados preliminares, decidiu-se por investigar a estabilidade química e o comportamento da FA na fração 1:50, maior teor de compostos de alto valor agregado, durante 43 dias em envelhecimento acelerado sob temperatura de 40 °C. Esta fração foi escolhida em razão da maior porcentagem relativa de compostos de maior valor agregado, de modo a observar o comportamento dos carboidratos, em especial a levoglicosana.

Foi realizado um fracionamento e em seguida a FA foi dividida em três alíquotas de 10ml em tubos *falcons*. As amostras foram encaminhadas para a análise CG-EM em dias distintos, sendo a primeira no primeiro dia após o fracionamento, não permanecendo sob ação de temperatura. A segunda amostra no 30° dia e a terceira amostra no 43° dia. As duas últimas amostras foram mantidas em estufa a 40° C durante o período de envelhecimento acelerado que precedeu a análise cromatográfica.

3.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.11.1 Método DPPH

A técnica foi adaptada de Magalhães et al. (2018) e se baseia na redução do radical livre DPPH• (1,1-difenil-2-picrilidrazila), pela transferência de próton do antioxidante. Brevemente, 0,1 ml das FA foram adicionadas a 3,9 ml de solução de DPPH em metanol. Foram coletadas absorbâncias em 515 nm ao longo do tempo em um espectrofotômetro UV-Vis, até a observação de absorbância constante. Foi realizado controle apenas com solução de DPPH (3,9 ml) e solvente (0,1 ml). Os resultados foram expressos em concentração de eficiência (EC₅₀) e concentração inibitória (IC₅₀).

3.11.2 Método ABTS

A atividade antioxidante da FA através da capacidade de eliminação do radical catiônico ABTS^{•+} foi determinada conforme descrição da metodologia de Rufino et al. (2006), com pequenas adaptações. Em resumo, o radical catiônico ABTS^{•+} foi preparado através da reação de 5 ml de ABTS (7 mM) com 88 µL de persulfato de potássio (140 mM). A reação foi realizada a temperatura ambiente, no escuro e por 16 h. Após a reação, 1 ml da solução obtida foi dissolvida em etanol até obter absorvância de $0,700 \pm 0,050$ a 734 nm em um espectrofotômetro UV-Vis. Para a avaliação da atividade antioxidante foram realizadas 3 diluições de cada amostra. Em ambiente escuro, uma alíquota de 30 µL da diluição foi adicionada a 3,0 ml de solução de radical. A absorvância foi medida a 734 nm após 6 minutos de reação. Etanol foi utilizado como branco. Utilizou-se Trolox como padrão antioxidante e os resultados foram expressos em termos da capacidade antioxidante do composto equivalente ao Trolox (µM trolox/g).

3.11.3 Método FRAP

O ensaio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi realizado de forma adaptada, de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2006). Em ambiente escuro, uma alíquota de 90 µL de cada repetição da diluição da FA (40, 20 e 10 mg ml⁻¹) foi misturada com 270 µL de água destilada e 2,7 ml de reagente FRAP. A reação foi realizada a 37 °C por 30 minutos. A absorvância foi determinada a 595 nm em um espectrofotômetro UV-Vis, usando o reagente FRAP como branco. Sulfato ferroso (FeSO₄) foi utilizado como padrão. A capacidade de redução de íons férricos da FA foi expressa em equivalente a sulfato ferroso.

3.12 TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

A determinação dos fenólicos totais seguiu uma adaptação da metodologia descrita por Swain e Hills (1959). Para cada amostra de FA, 0,5 ml da amostra foi adicionada a 6 ml de água deionizada e 0,5 ml do reagente Folin-Ciocalteu. A solução foi homogeneizada, e após 3 minutos acrescentou-se 1 ml de solução saturada de carbonato de sódio (Na₂CO₃). Para o branco, adicionou-se 6 ml de água destilada, 0,5 ml de Folin Ciocalteu e 2 ml de Na₂CO₃. Após 1 hora, foram realizadas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro UV-Vis a

760 nm. Ácido gálico ($C_7H_6O_5$) foi utilizado como padrão. Os resultados foram expressos em equivalente ao ácido gálico.

3.13 POTENCIAL ANTIMICROBIANO

3.13.1 Atividade Antifúngica

Os fungos *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum* utilizados na análise foram gentilmente fornecidos da colação da Embrapa Florestas. Foram realizados repiques dos fungos em placas de petri contendo ágar batata dextrose (BDA), os quais permaneceram durante 7 dias a uma temperatura de 25 ± 1 °C para o desenvolvimento da colônia.

Em decorrência da dificuldade de gelificação do ágar em contato com a FA, uma alíquota de 8,4g de BDA, o dobro da indicação do fabricante, foi diluída em 100 ml de cada fração da FA, além de uma amostra controle onde o BDA foi diluído em água destilada.

As amostras e o controle foram autoclavados e subsequentemente vertidas em placas de petri para inoculação dos fungos que ocorreu no mesmo dia, em quintuplicata. O repique dos fungos para a inoculação foi feito em tamanho uniforme para cada placa de petri, com 14 mm de diâmetro. As placas com o inóculo foram acondicionadas em estufa com temperatura estabelecida em 25 °C, propícia para o crescimento fúngico, durante os dias em que o crescimento foi observado.

O controle do crescimento da massa micelial fúngica na placa de petri (81 cm de diâmetro) foi feita com o auxílio de um paquímetro digital. Para cada dia, foi medido o quanto a colônia se estendia em um período total de 26 dias. Os resultados foram expressos em crescimento percentual do micélio dos fungos sobre a FA em comparação com as amostras controle.

3.13.2 Atividade Antibacteriana

A capacidade antibacteriana foi medida por meio de microdiluição seriada em placa de 96 poços. Todos os materiais a serem utilizados foram previamente autoclavados para garantir a esterilidade. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Curitiba, PR).

As análises foram realizadas com duas bactérias representantes do grupo das gram-negativas e gram-positivas, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* respectivamente. Para

assegurar a viabilidade das cepas, as mesmas foram ativadas 24 h antes do ensaio em BDA estéril vertido em uma placa de petri. No dia seguinte, algumas colônias foram coletadas e suspensas em 4 ml de solução de NaCl a 0,9% e a turbidez ajustada a $1,5 \times 10^8$ conforme o índice McFarland. Foram montadas placas de 96 poços com diluição seriada da FA,

Uma alíquota de 200 μ l da FA foi adicionada no primeiro poço, e nos poços seguintes foi adicionado 100 μ l do caldo Mueller-Hinton (MH). Seguidamente, fez-se a diluição seriada da FA com caldo, retirando 100 μ l de cada poço e injetando no poço seguinte, descartando o último.

Para o controle positivo, foi aplicado 100 μ l de antibiótico eficaz contra a *S. aureus* e *E. coli*, amoxicilina e Trimetoprima, respectivamente. Foi aplicado apenas o caldo MH para o controle negativo.

Após a preparação da placa, uma alíquota de 100 μ l a solução das bactérias foi inoculada na diluição seriada da FA, que foi encubadas em estufa sob temperatura de 37 °C por 24 h. Após decorrido o tempo de encubação, foi aplicado 50 μ l de resazurina a 0,05% em cada poço para avaliar a mudança de coloração do reagente após 2h mediante atividade bacteriana, e determinação da concentração mínima inibitória (MIC) da FA frente as bactérias utilizadas na análise.

3.14 ANÁLISE DOS DADOS

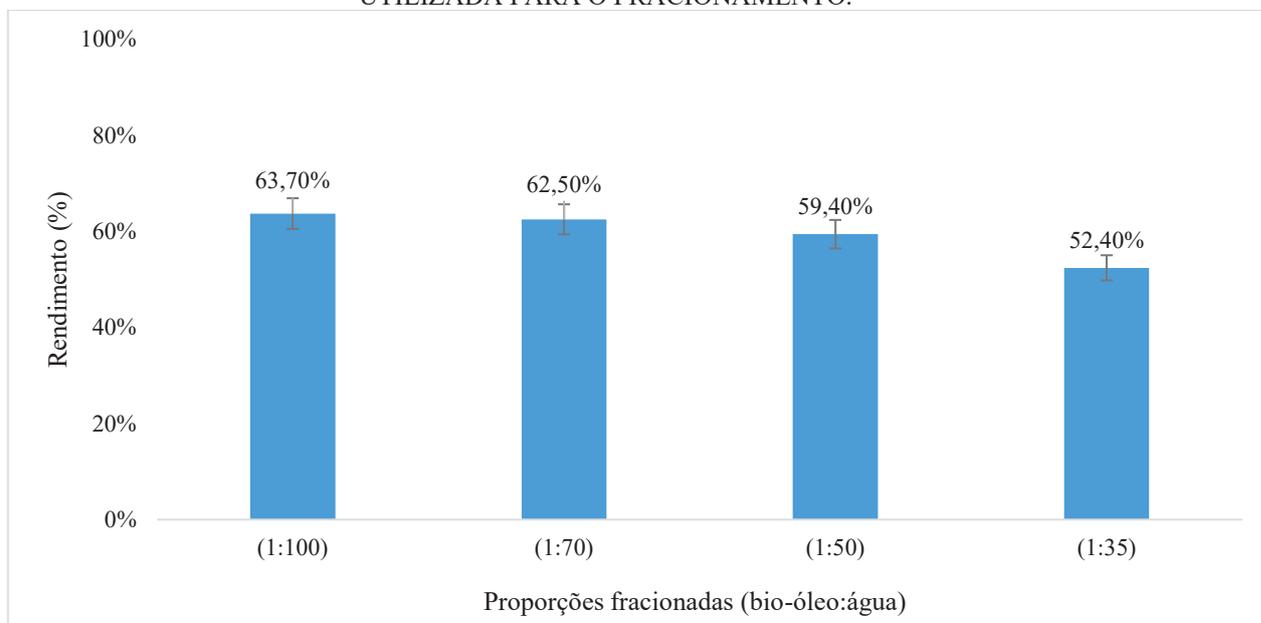
Os dados obtidos nas análises físico-químicas foram submetidos à análise estatística descritiva. As análises estatísticas foram realizadas através da análise de variância (ANOVA-*one way*) dos resultados obtidos no rendimento nas diferentes condições de fracionamento, e verificada diferença significativa procedeu-se com o teste de Tukey ao nível de 95% de confiança. Os ensaios analíticos foram avaliados através de média e desvio padrão simples.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RENDIMENTO

O rendimento de FA obtida no fracionamento foi calculado a partir da quantidade de lignina pirolítica obtida em função da massa de bio-óleo adicionada, e esta por sua vez foi definida de acordo com a quantidade de água destilada previamente estabelecida para que as proporções bio-óleo: água selecionadas para estudo fossem mantidas em todas as amostras fracionadas. Na FIGURA 10 estão ilustrados os rendimentos de FA obtidos nas proporções de estudo 1:35, 1:50, 1:70 e 1:100.

FIGURA 10- RENDIMENTO DA FASE AQUOSA EM FUNÇÃO DA PROPORÇÃO BIO-ÓLEO: ÁGUA UTILIZADA PARA O FRACIONAMENTO.



FONTE: O autor (2021).

Nas condições de fracionamento estabelecidas neste estudo, o rendimento das FA 1:50, 1:70 e 1:100 foi em torno de 60%. Este rendimento médio de 60% está de acordo com previamente obtido por Vispute e Huber (2009), em fracionamento de bio-óleo de pirólise rápida oriundo de madeira de carvalho (*Quercus spp.*); e por Ren et al. (2016). No entanto, observa-se uma tendência sutil de redução conforme a menor quantidade de água. A fração 1:35 também seguiu o padrão de redução no rendimento, porém mostrou-se inferior aos demais fracionamentos com teor de água superior, bem como relativa dificuldade para a desemulsificação. Zhang e Wu (2019) detectaram que proporções abaixo de 85% de água não

são viáveis, mostrando que o teor de água é imprescindível para o fracionamento adequado do bio-óleo quando este apresentar uma alta viscosidade sob baixas temperaturas, gerando uma baixa eficiência de separação das frações. Dessa maneira, incorrendo em problemas de aplicação do produto final tanto para a lignina pirolítica, como citado pelo autor, quanto para a FA, alvo deste estudo. Por este motivo, a fração 1:35 foi descartada e não seguiu para os testes subsequentes.

Não há uma metodologia estabelecida para a extração da lignina pirolítica (fase insolúvel em água oriunda do fracionamento). Portanto, não existe um consenso sobre o rendimento da FA. Comparando-se resultados descritos na literatura, observou-se que Zhang e Wu (2019) encontraram rendimento da FA de 36,56% sob temperatura de 20 °C e proporção de 1:20 (bio-óleo:água). Silva et al. (2018) testou proporções entre 1:25 a 1:200 em uma faixa de temperatura variando entre 1 a 4°C, e concluíram que 1:100 é a proporção ideal para o rendimento final de lignina pirolítica, seu material de estudo, e conseqüentemente de FA, subproduto de interesse da presente pesquisa. A adição de água tende a aumentar a polaridade da FA devido a seletividade de compostos fracionados (ZHANG et al. 2019). Com isso, a FA, de maneira geral, será constituída majoritariamente por compostos polares, cuja solubilidade apresenta maior afinidade com a fase solúvel (VISARATI et al., 2011).

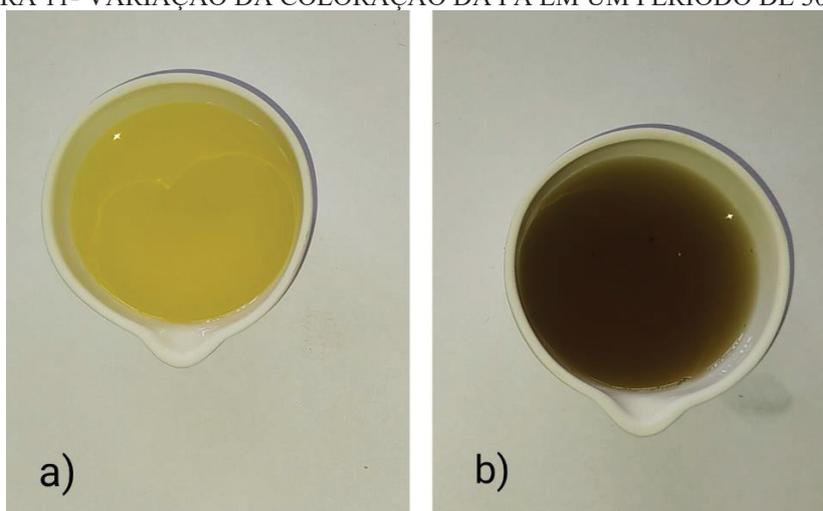
Em relação a velocidade de agitação, também não há concordância entre as pesquisas publicadas anteriormente. Para Zhang e Wu (2019), 750 rpm apresenta boa eficiência de separação, enquanto para Silva et al. (2018) 10.000 rpm é mais recomendada. Necessita-se de agitação vigorosa para um fracionamento eficaz, visto que o contato físico estimula a aglomeração e reduz a carga superficial (RANGEL, 2008). Acredita-se que a alta rotação e as baixas taxas de temperatura somada a massa de bio-óleo em relação ao volume de água contribuíram positivamente para maior despolimerização dos compostos oriundos do bio-óleo, transformando-os em moléculas menores que permanecerão na FA, apesar da sua hidrofobicidade. Baixos teores de água inviabilizam o fracionamento devido a aglomeração do material e impedindo a agitação (ZHANG; WU, 2019), levando em conta principalmente se o bio-óleo apresenta uma alta viscosidade.

A variação da eficiência nas metodologias descritas na literatura e neste trabalho pode ser justificada pela heterogeneidade do material de origem, visto que o bio-óleo pode ser obtido de biomassas distintas e sob diferentes condições operacionais da pirólise rápida. Isto resulta em um material com características físicas e químicas dissemelhantes e, portanto, comportando-se de forma particular durante o fracionamento (ALVAREZ-CHAVEZ, 2019).

4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

A FA apresenta cor âmbar logo após a filtração e estabiliza em tom cinza escuro conforme o seu envelhecimento (FIGURA 11). Seu aspecto é translúcido em todas as fases de coloração em decorrência do alto teor de água. Este teor de água pode chegar a 97-99%. Possui o cheiro característico do bio-óleo consideravelmente marcante, apesar da diluição (BRIDGWATER, 1999; DOBELE et al., 2007).

FIGURA 11- VARIAÇÃO DA COLORAÇÃO DA FA EM UM PERÍODO DE 30 DIAS.



Em que: a) 1º dia e b) 30º dia após o fracionamento.

FONTE: O autor (2021).

Os resultados obtidos a partir da análise dos parâmetros físico-químicos estão descritos na TABELA 4. A faixa de pH encontrada na análise realizada mostrou pequena variação entre as amostras, com leve aumento da acidez na fração 1:70, (3,2) muito próximo da fração 1:50 (3,3). A fração 1:100, por sua vez, apresentou pH mais alto (3,5). Se comparado ao material de origem do presente estudo, o bio-óleo, que apresenta pH 3,3, conforme descrito por Matos et al. (2020), a FA apresenta um sutil aumento do pH.

A tênue redução da acidez também foi observada por Ren et al. (2016) para a fase aquosa fracionada do bio-óleo de *Panicum virgatum* L. Isso pode ser justificado pela adição de água, cujo pH varia entre 5 e 7 durante o processo de fracionamento. Além disso, a separação das fases propicia a retirada de parte dos componentes ácidos na FA, tais compostos apresentam natureza hidrofóbica, em sua grande maioria de oligômeros fenólicos derivados de lignina presentes no bio-óleo.

Entretanto, o bio-óleo também apresenta ácidos de natureza hidrossolúvel, como o ácido acético, ácido levulínico, ácido vanílico e ácido glicólico esses compostos são responsáveis pela acidez da FA se manter semelhante ao bio-óleo, apesar da alta diluição. A presença de ácidos orgânicos é de grande valia num sistema de biorrefinaria, deste modo a FA se mostra uma fonte promissora no que diz respeito a purificação desses compostos químicos (RASRENDRA et al., 2011).

TABELA 4- PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DAS FASES AQUOSAS 1:50, 1:70 E 1:100.

Propriedade	1:50	1:70	1:100
pH	3,3	3,2	3,5
Densidade (g/cm ³)	0,9988 (0,0016)	0,9991 (0,0018)	0,9990 (0,0011)
Concentração (g/L)	8,69 (0,12)	6,44 (0,10)	4,20 (0,16)

Valores entre parênteses correspondem ao desvio-padrão.

A FA apresentou densidade semelhante à encontrada na água destilada na mesma temperatura (20 °C), em torno de 0,99 g/cm³, possivelmente em decorrência da alta proporção desta para bio-óleo no processo de fracionamento.

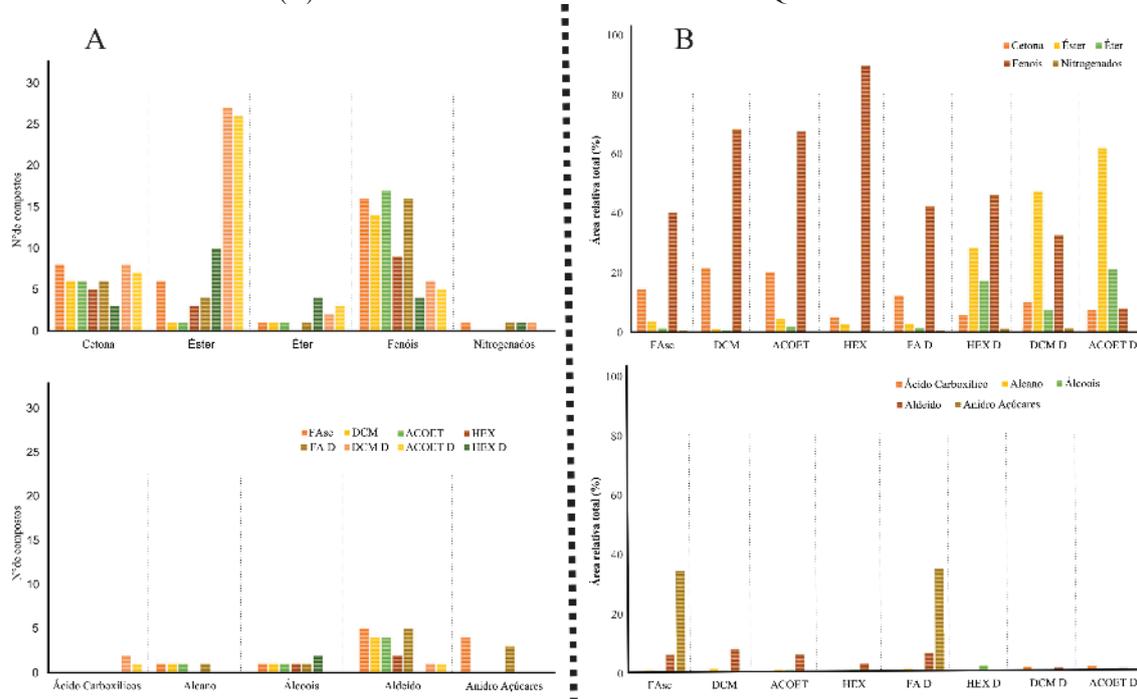
A concentração das amostras mostrou-se coerente com a proporção bio-óleo: água visto que a fração 1:100 apresentou menor concentração, com 4,20 g/l. Já as proporções 1:70 e 1:50, por sua vez, apresentaram valores semelhantes para a concentração, 6,44 g/l e 6,69 g/l respectivamente, devido ao menor teor de água utilizado na etapa de fracionamento. O conteúdo sólido encontrado no bio-óleo descrito por Mullen e Boateng (2011) detectou que até 68% da massa correspondente a materiais sólidos, constituído de compostos com maior peso molecular, ricos em carbono. Isso sugere que o material sólido disperso na FA também é rico em carbono e independe do teor de água utilizado no processo. Compostos oxigenados com alta polaridade também são comumente encontrados na FA (REN et al., 2016).

4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR CG-EM

A análise da FA por CG-EM resultou na identificação de 108 compostos, somando todos os métodos de análise realizados (FIGURA 12). Os compostos foram agrupados de acordo com a função orgânica correspondente, sendo estes os mesmos grupos para todos os métodos de leitura, como ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, éteres e fenóis. Observou-se diferenças pontuais entre os métodos de extração, visto que em

decorrência da afinidade química, determinado método de extração com os solventes orgânicos propiciou a leitura com maior definição para uma ou para outra classe. Por exemplo: o método ACOET (acetato de etila derivatizado) não foi capaz de detectar com precisão os compostos pertencentes ao grupo dos anidro açúcares, entretanto apresentou bastante acurácia para a classe de fenóis. Ressalta-se que se estabeleceu o grupo de anidro açúcares e compostos nitrogenados, de maneira a facilitar a interpretação de compostos químicos de interesse no presente estudo.

FIGURA 12- COMPOSTOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS PELO CG-EM SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DA FASE AQUOSA EM FUNÇÃO (A) DO NUMERO DE COMPOSTOS E (B) DA ÁREA RELATIVA DAS CLASSES QUÍMICAS.



Em que: FAsc: FA seca em um concentrador de amostras; DCM: diclorometano; ACOET: acetato de etila; HEX: hexano; FA D FA derivatizada; HEX D: hexano derivatizado; ACOET D: acetato de etila derivatizado.

FONTE: O autor (2021).

Nenhum dos compostos químicos identificados é sensível a todos os métodos de extração, entretanto alguns destes compostos se mostraram presentes em mais de um método de extração, a citar: vanilina (tr 15,173), 2-Propanona 1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)- (tr 16,825), 3,5-Dimetoxi-4-hidroxitolueno (tr 15,745) e aldeído coniferílico (tr 19,267). A classe química mais presente na FA foi a éster, compostos oriundos da lignina que possui ligações de éster das acilações dos radicais carbono proveniente dos monolignóis precursores (LU; RALPH, 2002). Apesar de apresentar solubilidade em água limitada, os ésteres podem formar ligações

de hidrogênio com as moléculas de água (OUELLETTE; RAWN, 2014), o que caracteriza a sua presença na fase aquosa pós-fracionamento do bio-óleo.

Em seguida, a classe química mais presente na FA foram os fenóis, advindos também da lignina que possui maior capacidade de resistir às altas temperaturas aplicadas à biomassa para a produção do bio-óleo via pirólise rápida (WANG et al, 2009; BREBU; VASILE, 2010). Essa relevância dos compostos fenólicos se reflete na composição química da FA que, embora a desemulsificação separe os compostos insolúveis e solúveis em água, há uma tendência de permanência de parte destes fenólicos na fase aquosa. Essa permanência pode ser relevante para utilização da FA como um agente antioxidante. Sabe-se que parte da estrutura química da lignina apresenta razoável polaridade em razão das ligações de éter que a une a estrutura molecular da hemicelulose (SCHUBERT, 1965). Esta presença de compostos fenólicos na FA também foi observada substancialmente por Ren et al. (2016), apresentando uma concentração total de 1,76 g/l. No presente estudo, conforme a FIGURA 12, as extrações em acetato de etila e diclorometano sem derivatização e com derivatização, bem como a secagem à vácuo em um concentrador de amostras (FAsc) foram as condições mais propícias para indicar a presença abundante de compostos fenólicos.

A classe química cetona também se fez presente na FA, a qual está relacionada à degradação térmica da celulose e das hemiceluloses (SHEN et al., 2015). Os compostos químicos da classe de cetonas permanecem de forma representativa na FA após fracionamento em razão da sua natureza polar. Destaca-se neste grupo os compostos aspidinol e desaspidinol, cuja ação antihelmíntica é conhecida e foi estudada por Bosman et al. (2004).

O grupo definido como anidro açucares, com presença substancial da levoglicosana, contém os compostos originados a partir da degradação da celulose em razão da alta temperatura durante o processo de pirólise, que sofre perda de água se tornando um dos grupos de compostos com maior abundância no bio-óleo, em torno de 39% do seu conteúdo total (SHAFIZADEH et al., 1979; MESA-PEREZ, 2005). Os compostos α -D-Glucopiranosose (tr 12,510), 4-O- β -D-galactopiranosil- (tr 17,607), levoglicosana (tr 16,553), 1,4:3,6-Dianidro- α -D-glucopiranosose (tr 12,510) e 2,3-Anidro-D-Manosana (12,740) são os anidro açucares que compõe a FA. A levoglicosana limitou-se a identificação por meio do método FAsc.

Os compostos oxigenados pertencentes ao grupo dos aldeídos, como o furfural (tr 4,985), originados a partir da desidratação de carboidratos, e os compostos fenólicos como o catecol (tr 12,116) e a vanilina (tr 15.173), oriundos da degradação da lignina, foram encontrados na FA e estão presentes no bio-óleo (DEMIRBAS, 2007; BRIDGWATER, 2012; STEFANIDIS, 2014). Especificamente, a permanência de grande parte do catecol na fase

aquosa após o fracionamento dá-se em função da sua solubilidade em água (WANG et al., 2016). Isto potencializa o direcionamento da fase aquosa para extração e purificação de compostos químicos de interesse, visto que o catecol pode ser utilizado como antisséptico e antioxidante (MURWANASHYAKA et al., 2001). Já a presença da vanilina na fase aquosa é ressaltada, pois é um dos compostos fenólicos já com produção em escala industrial a partir da biomassa (PELUCCHI et al., 2019), o que lhe coloca em posição destacada (como um *key building block*) para extração, purificação e aplicação, por exemplo, na síntese de biopolímeros (FACHE et al., 2016).

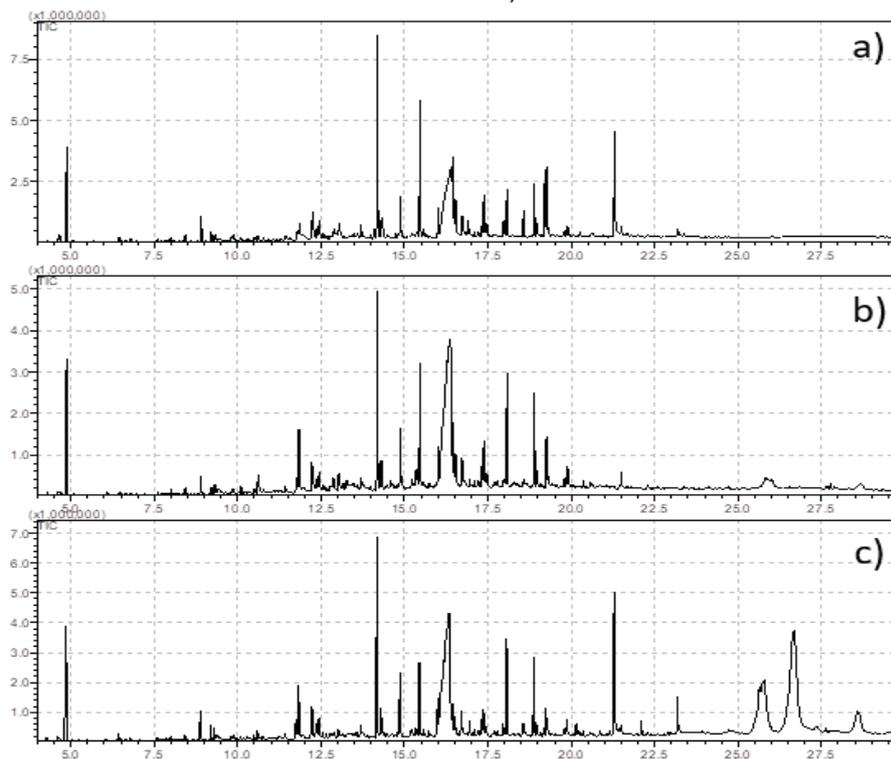
Em suma, foram testados oito métodos de extração para leitura no CG-EM, em que a extração em HEX detectou a menor quantidade de compostos, apenas 20, seguido do HEXd com 24 compostos, DCM com 28 compostos, ACOET com 31 compostos, FAsc e ACOETd, com 43 compostos e do DCMd que demonstrou 47 dos 108 compostos encontrados em todas as análises.

Embora o método FAsc não ter se mostrado capaz de detectar a maior quantidade de compostos químicos, observou-se que os compostos de maior valor agregado como a vanilina utilizada como flavorizante e fármaco, o catecol, com alto potencial antioxidante e a levoglicosana, um composto de alto valor agregado utilizado na produção de antibióticos e antiparasitários foram revelados por este método, tornando-o mais viável para as análises cromatográficas que se seguiram (HAENEN et al., 1997; BRIDGWATER, 1992; FLEIGE et al., 2013).

4.4 ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA POR CG-EM

A baixa estabilidade térmica do bio-óleo, matéria-prima da FA, é a característica de maior problemática na sua utilização (JACOBSON et al., 2013). Levando isto em conta, Meng et al. (2014) sugeriram que a separação das fases no fracionamento atua como um fator estabilizante, demonstrando que o envelhecimento acelerado da FA, através de análises CG-EM da FA armazenada sob alta temperatura é uma análise de grande relevância para avaliar de forma precisa a sua reatividade e consequentemente viabilizar a sua utilização. A partir dos cromatogramas (FIGURA 13), foi realizado o detalhamento quanto a área relativa total dos compostos químicos referentes a cada classe ou grupo nos três períodos de observação durante o envelhecimento, e estes, por sua vez foram expressos na FIGURA 14.

FIGURA 13- CROMATOGRAMA ILUSTRATIVO DA INJEÇÃO CROMATOGRÁFICA DA FA 1:100.



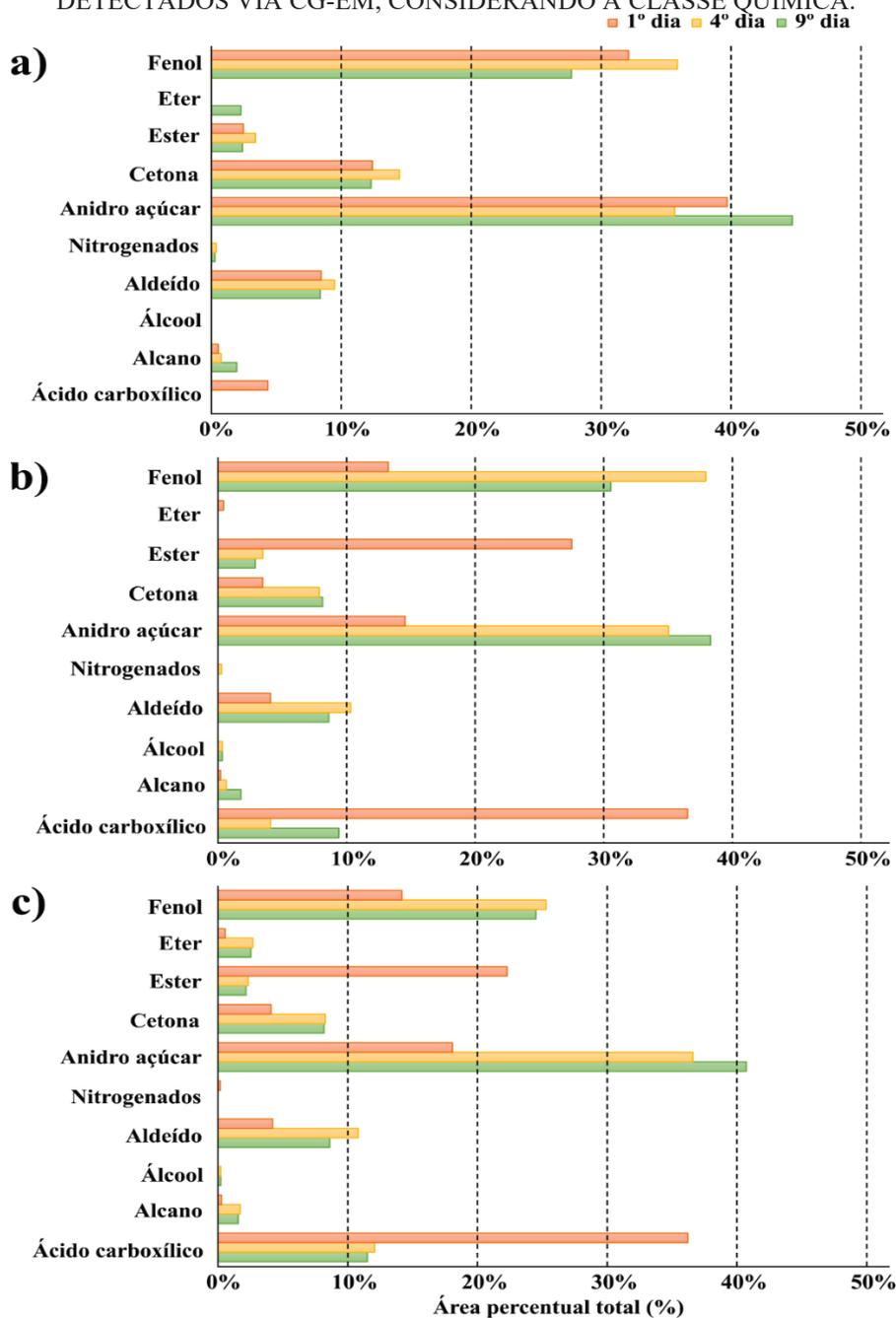
Em que: a) 1º dia; b) 4º dia; c) 9º dia.

Fonte: O autor (2021).

Os cromatogramas obtidos a partir da fração 1:100 do fracionamento do bio-óleo no primeiro, quarto e nono dia de envelhecimento apresentaram semelhanças nos grupos químicos encontrados, mais notadamente nos dois primeiros dias de análise. Na região do cromatograma até 20 min detectou-se compostos aromáticos, ácidos carboxílicos, aldeídos, éteres, álcoois e alcanos. Os anidro açúcares, que apresentaram mais área relativa, manifestaram um pico arrastado na altura do minuto 16. No fim da corrida foram observados compostos de maior peso molecular, como ácidos carboxílicos com cadeia mais longa, com até 18 carbonos.

Os compostos majoritários tentativamente identificados pertencem ao grupo dos anidro açúcares, originados da degradação da celulose, seguido de fenóis, oriundos da degradação da lignina. O alto teor desses compostos também foi detectado por Mesa (2004) e Matos et al. (2020).

FIGURA 12- ÁREA RELATIVA PERCENTUAL DOS PICOS REFERENTES AOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS DURANTE NOVE DIAS EM ENVELHECIMENTO ACELERADO DA FASE AQUOSA DETECTADOS VIA CG-EM, CONSIDERANDO A CLASSE QUÍMICA.



Em que: a) 1:50; b) 1:70 c) 1:100.

Fonte: O autor (2021).

Os principais resultados mostram certa instabilidade da FA. Isso se deve principalmente à forte permanência de grupos carboxílicos (C=O), cuja alta reatividade influencia diretamente nas reações intrínsecas da FA durante o envelhecimento acelerado (ALSBOU; HELLEUR, 2014). A natureza química heterogênea do bio-óleo, caracterizado como uma microemulsão, sugere que o seu envelhecimento pode ocorrer em cada fração

existente (FRATINI et al., 2006; MENG et al., 2014), isto é, por exemplo, fase aquosa e lignina pirolítica.

A literatura desconhece o método exato de envelhecimento das fases que constituem o bio-óleo, entre elas a FA. Sugere-se que a reação é iniciada pela decomposição de açúcares catalisado por ácidos. Esse rearranjo acarreta na formação compostos de alta reatividade, como o 5-hidroximentilfurfural, seguido de reações de repolimerização desses compostos (MENG et al., 2014).

A fração 1:100 mostrou maior estabilidade por área percentual nas classes e grupos químicos observados, seguido pela fração 1:70 e subsequentemente a fração 1:50. Boucher et al. (2000) investigaram a estabilidade do bio-óleo cru e diluído em metanol, e concluíram que o metanol atua como um estabilizante para o bio-óleo. Isso sugere que materiais de natureza polar, como a água, podem influenciar positivamente na estabilização química dos compostos.

O grupo dos anidro açúcares, caracterizado principalmente pela presença majoritária da levoglicosana, apresenta crescimento da sua área em função do período de envelhecimento em ambas as frações, com presença mais acentuada na fração 1:50, e por conseguinte pode ser hidrolisado em monômeros de glicose, matéria-prima valorizada pela indústria energética (ALSBOU; HELLEUR, 2014). Desse modo, essa fração é a mais indicada para a extração desses compostos químicos de alto valor agregado dentro do conceito de biorrefinaria, sem a obrigatoriedade de ambiente refrigerado, visto que a reatividade da FA apresenta baixa influência no teor desses compostos em temperatura ambiente. Porém, não é possível assegurar o aumento da porcentagem de compostos pertencentes a este grupo visto que a área percentual é relativa à presença de demais compostos, sendo possível assegurar apenas a alta estabilidade destes compostos diante do envelhecimento acelerado da amostra.

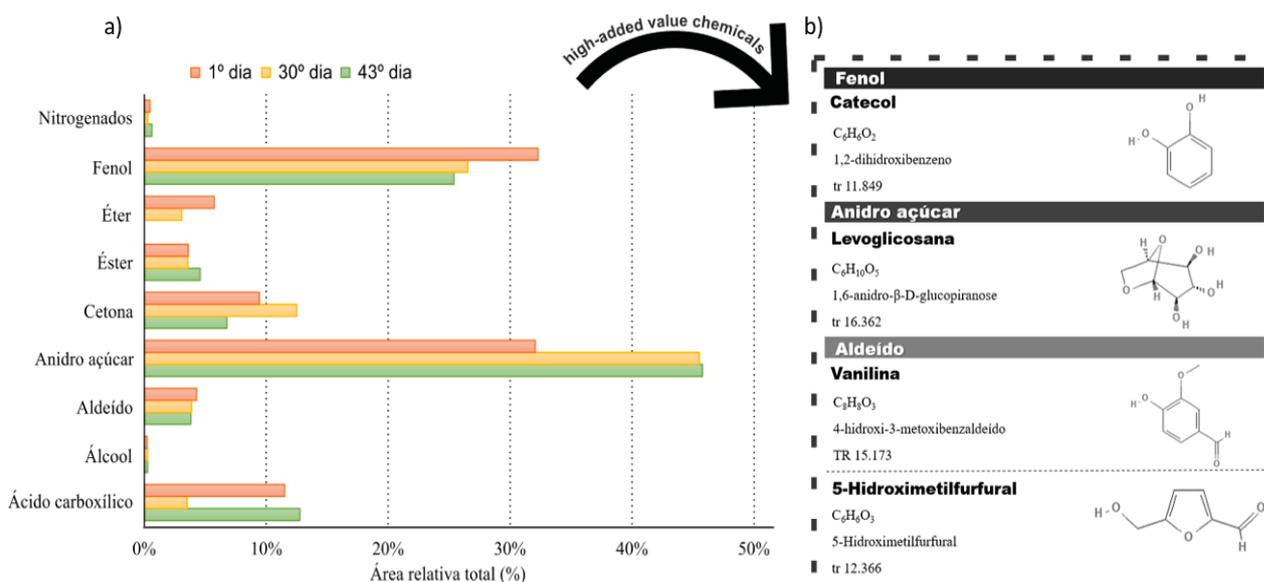
As classes químicas de menor área percentual, éter, cetona e aldeído apresentaram constância no tocante a sua estabilidade. Uma característica peculiar e comum a todas as frações é o desaparecimento dos álcoois no decorrer do envelhecimento. Em contrapartida, nota-se o proporcional acréscimo na proporção de compostos da classe éter, observado a partir do quarto dia de envelhecimento acelerado. Isto pode ser justificado pela reação de desidratação intermolecular que pode ocorrer entre duas moléculas de álcoois, cujo composto gerado é um éter (TSUCHIDA et al., 2008).

Em posse deste conhecimento preliminar, foi realizada uma análise cromatográfica para verificar o comportamento dos compostos químicos de maior interesse comercial presentes na FA, em destaque os anidro açúcares e os fenóis que podem ser detectados de

forma mais preponderante na fração 1:50. Segundo BENNETT (2006), o menor teor de água é mais eficaz para a purificação de compostos solúveis.

A FA foi submetida a um processo de envelhecimento mais severo durante 43 dias sob temperatura de 40 °C, com avaliações em três períodos, 1º, 30º e 43º dia (FIGURA 15).

FIGURA 135- ÁREA PERCENTUAL DOS PICOS RELATIVOS DE COMPOSTOS IDENTIFICADOS DURANTE O ENVELHECIMENTO ACELERADO DURANTE 43 DIAS DA FA DETECTADOS VIA CG-EM, CONSIDERANDO A CLASSE QUÍMICA (a); E COMPOSTOS QUÍMICOS DE ALTO VALOR AGREGADO DETECTADOS NAS FRAÇÕES DA FA POR ANÁLISE CG-EM (b).



Em que: Laranja: 1º dia; Amarelo: 30º dia; Verde: 43º dia.

FONTE: O autor (2021).

O envelhecimento da amostra de FA durante os 43 dias sob temperatura de 40 °C em que a análise decorreu pode ser relacionado a menor reatividade da FA em relação ao bio-óleo, visto que as frações presentes no bio-óleo passíveis de interação estão individualizadas, o que reduz o grau de reatividade entre os compostos químicos. De acordo com Meng et al. (2014), cada fração existente no bio-óleo pode ter um efeito sinérgico na promoção do seu envelhecimento. Os autores sugerem baseados nos resultados encontrados que os ácidos orgânicos encontrados na fase aquosa podem promover a condensação da fração de lignina e a decomposição dos açúcares. Além disso, os aldeídos podem interagir com a lignina pirolítica (fração insolúvel em água) e resultar na sua reticulação. Em suma, os autores sugerem que reações de interação entre as diferentes frações existentes no bio-óleo são razões críticas para a ocorrência do envelhecimento do bio-óleo. Dessa maneira, o fracionamento do bio-óleo e a

separação da fase solúvel e insolúvel em água em um período adequado pode contribuir para reduzir esta interação e propiciar dois materiais com as características desejáveis.

Também se observou que é possível manter a FA armazenada, sem que isso cause prejuízo para a sua utilização no que diz respeito a extração de compostos químicos de alto valor agregado, visto que o grupo dos anidro açucares, fenóis e aldeídos apresentaram pequena alteração na sua área relativa. No entanto, constatou-se decréscimo na área relativa dos compostos, especialmente os pertencentes ao grupo dos fenóis, e o desaparecimento do grupo dos alcanos entre as análises realizadas no 30° e no 43° dia. Isso sugere que a FA, diante das condições de produção utilizadas neste estudo, não deve acondicionada por um período superior ao intervalo estudado, visto que pode acarretar menor rendimento na purificação de compostos químicos de maior valor agregado.

Observa-se a presença marcante de compostos polares devido ao fracionamento em água fria, o qual proporciona o arraste destes compostos químicos para a FA, além de compostos apolares que foram solubilizados em razão do baixo peso molecular. Dentro de cada grupo e/ou classe química verifica-se a presença de compostos apreciados pela indústria, tornando-os compostos de interesse e com valor agregado e, portanto, merecendo maior atenção, tais como catecol, levoglicosana, vanilina e hidroximetilfurfural (FIGURA 17).

No grupo dos aldeídos foram destacados dois compostos, sendo eles o 5-hidroximetilfurfural e a vanilina. O 5-hidroximetilfurfural é um furano com função aldeído, e pode ser produzido a partir de fontes renováveis de biomassa por desidratação catalisada por ácido de pentoses e hexoses, respectivamente (CHHEDA, et al., 2007).

Esses compostos são considerados como a chave para transformar carboidratos oriundos da biomassa como substitutos para a química industrial à base de petróleo, devido a ampla gama de produtos obtidos e sobretudo o potencial para serem substitutos sustentáveis para *building blocks*, derivados de construção petroquímica, produção de resinas, solventes, na produção de plásticos e química fina (VAN PUTTEN et al., 2013; CHEN et al., 2018).

A vanilina (3-metoxi-4-hidroxibenzaldeído) é um aldeído aromático muito valorizado como flavorizante para alimentos, bebidas e usada em fármacos e cosméticos. Apresenta caráter antimutagênico, antioxidante, conservante e antimicrobiano. Pode ser obtido através da degradação da lignina, tornando o processo mais barato, visto que a obtenção se baseia na extração do composto gluco-vanilina a partir da espécie *Vanilla planifolia*, que apresenta baixo rendimento, pouco menos de 1% da produção mundial, sendo todo o restante sintetizado por vias químicas (DAUGSCH; PASTORE, 2005; CONVERTI et al., 2010).

Como representante de destaque dos anidro açúcares, a levoglicosana (1,6-anidro- β -d-glucopiranosose) apresenta alto valor agregado devido à dificuldade de síntese desse composto e utilização pela indústria como rota para a produção de açúcares monoméricos, principalmente D-glucose, para produção de combustíveis bioquimicamente derivados (PANDEY, et al., 2015). Além disso, diversas propriedades a tornam um produto de grande interesse comercial, dentre eles quiralidade, grupos hidroxila na posição central anomérica C-1, grupos hidroxila primários na posição C-6, características úteis na indústria química para a fabricação de plásticos, surfactantes, produtos farmacêuticos, propelentes e resinas, e como um substituto econômico para materiais como sorbitol. (ROVER et al., 2019; ITABAIANA et al., 2020).

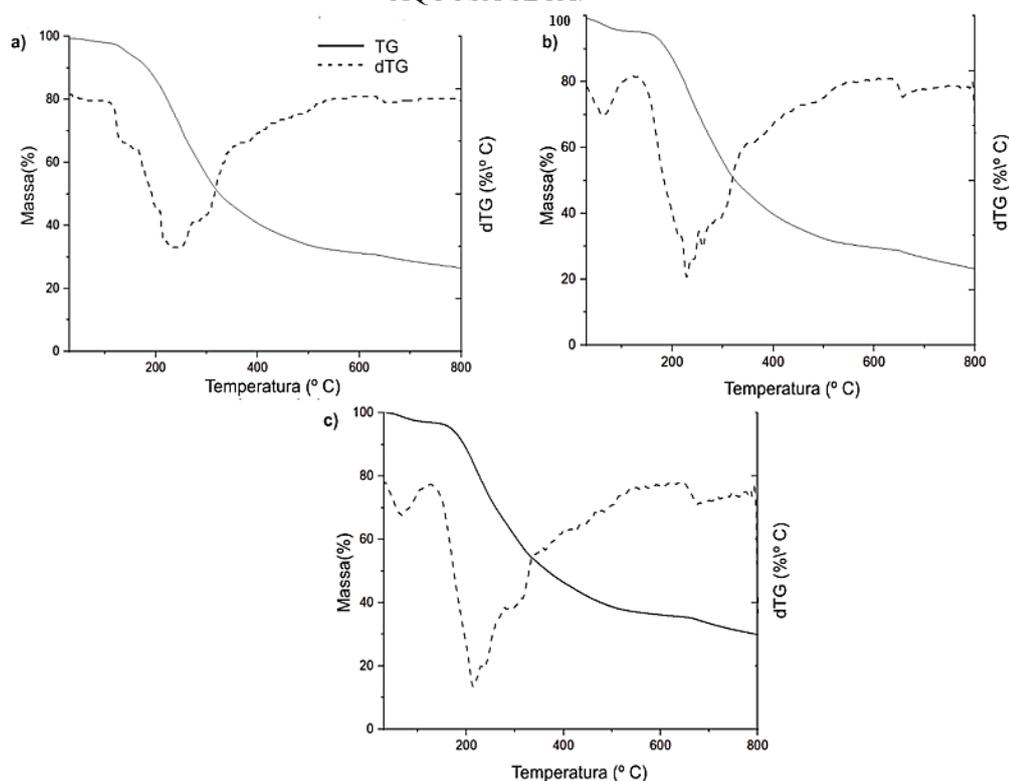
Os fenóis presentes no bio-óleo já foram amplamente estudados para introdução destes na indústria. O catecol (1,2-dihidroxibenzeno) é um desses compostos de natureza fenólica que também está presente na FA. Oriundo da degradação da lignina, composto de um anel benzênico, o catecol é um composto com capacidade antioxidante devido a sua capacidade de quelar íons metálicos, e alto potencial antimicrobiano (AYALA-ZAVALA et al., 2012). Apresenta utilizações variadas, como reagente para fotografia, tingimento de couro, produção de borracha e plástico e na indústria farmacêutica, adesivo. Por outro lado, apresenta como desvantagem principalmente o potencial mutagênico e citotoxicidade (PINTO, 2018; KONG; 2011).

Os compostos supracitados são de interesse comercial devido as suas capacidades como matéria-prima. Nesse âmbito, a FA se mostra um produto promissor em razão da presença destes compostos com baixa reatividade durante o envelhecimento. Tal característica permite a utilização industrial da FA para a obtenção e purificação de compostos de maior valor agregado presentes em sua estrutura química num sistema de biorrefinaria, contribuindo para a redução da necessidade de produtos de origem fóssil, bem como a menor geração de resíduos durante o processo produtivo do setor florestal (POVEDA-GIRALDO et al., 2021).

4.5 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

O processo de pirólise modifica o padrão de termodegradação comumente observados em materiais lignocelulósicos, em decorrência dos processos de despolimerização dos polissacarídeos e polímeros da biomassa. (DUARTE, et al., 2017). Nas análises realizadas a partir da FA, obtiveram-se três termogramas exibidos na FIGURA 16.

FIGURA 16- CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS E SUAS RESPECTIVAS DERIVADAS DA FASE AQUOSA SECA.



Em que: a) 1:50; b) 1:70; c) 1:100

FONTE: O autor (2021)

Para a curva em linha sólida, que representa a perda de massa da FA durante a pirólise, observou-se comportamento semelhante para as três proporções estudadas. Foram detectados três estágios de perda de massa na curva de termodegradação. O primeiro estágio ocorre até em torno de 100 °C e refere-se à evaporação das moléculas de água residual e compostos voláteis de baixo peso molecular. A perda de massa no primeiro estágio foi em torno de 10%.

A temperatura *onset* é observada em aproximadamente 180 °C e o segundo estágio referente a degradação térmica de polissacarídeos presentes na FA perdura até a temperatura de 600 °C, que proporciona substancial perda de massa, aproximadamente 70%, visto que os compostos dessa natureza são majoritários na constituição química da FA, cerca de 45%, conforme exposto na FIGURA 14. Por exemplo, a levoglicosana, composto químico majoritário previamente identificado na análise cromatográfica, de acordo com Fukutome, Kawamoto e Saka (2015), apresenta temperatura de degradação por volta de 500 °C.

O pico de degradação máxima não apresentou diferenças substanciais para as três proporções estudadas, permanecendo numa faixa entre 210 °C e 250°C. Ainda no segundo

estágio de degradação térmica ocorre a perda de massa decorrente da decomposição de compostos oriundos da lignina que se mantiveram na fração solúvel devido a sua cadeia carbônica curta. Tal fato resulta na temperatura de degradação inferior a lignina íntegra da madeira, perdurando até 650 °C. Embora a lignina apresente uma faixa ampla de degradação (SKREIBERG et al., 2011), os compostos oriundos da lignina presentes na FA foram solubilizados em razão do seu baixo peso molecular, fazendo com que sua degradação térmica ocorra em um intervalo menor.

No último estágio que se inicia em 650 °C e perdura até o final da análise, em 800 °C, ocorre a estabilização da massa, com cerca de 30% do peso da amostra inicial da FA, que se caracteriza pelo carvão formado da degradação térmica dos materiais mais termorresistentes. A massa residual se manteve em torno de 25% e possivelmente está relacionada a formação do coque devido as reações de polimerização. Segundo Ochoa et al. (2017), a presença de fenóis e álcoois são mais responsáveis pela formação de coque, enquanto os ácidos, cetonas e aldeídos tem menor influência na formação deste tipo de resíduo.

4.6 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

A capacidade antioxidante da FA foi quantificada de acordo com três metodologias distintas para melhor descrever o potencial antioxidante da FA. Os resultados obtidos para os métodos DPPH, FRAP e ABTS+, e o teor de fenólicos totais estão descritos na TABELA 5.

TABELA 5– CAPACIDADE ANTIOXIDANTE FRENTE AOS RADICAIS LIVRES DHPP, ABTS+, FRAP E TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS DA FASE AQUOSA.

Fase aquosa	Capacidade antioxidante				Teor de Fenólicos (mg/g)
	DPPH		ABTS+	FRAP	
	IC50 (mg/L)	EC50 (mg/mg DPPH)	Eq. 1000 uM de Trolox (mg/L)	Eq. A 1000 uM de FeSO4 (mg/L)	
1:50	39,87	1,74	1382,72	1306,21	79,41
	(4,88)	(0,21)	(95,48)	(9,56)	(2,49)
1:70	29,34	1,28	1321,71	1139,74	83,24
	(2,43)	(0,10)	(14,77)	(43,16)	(0,76)
1:100	26,64	1,16	1415,46	1074,28	86,92
	(1,81)	(0,08)	(34,90)	(11,83)	(1,55)

Valores entre parênteses correspondem ao desvio-padrão amostral.

Os resultados de capacidade oxidante frente ao radical DHPP foram expressos em IC50 e EC50. O IC50 corresponde a concentração inibitória, que é o teor de FA necessário

para reduzir em 50% da concentração de uma solução de radical livre. Diz-se EC50 para concentração de eficiência, que representa a quantidade em massa de antioxidante necessária para reduzir 50% de uma determinada quantidade de radical. Portanto, quanto menor o valor de eficiência e inibição, maior será a capacidade antioxidante do material.

Para os resultados encontrados pelo método de sequestro de radicais DPPH estão expressos, observou-se que todas as frações apresentaram alta capacidade antioxidante, necessitando de apenas pouco mais de 1 mg para reduzir a mesma quantidade do radical DPPH. Todavia, a FA 1:100, de maior proporção bio-óleo: água, apresentou um leve aumento na atividade antioxidante com valores de EC50 de 1,16 mg/mg. Concomitantemente, a FA que apresentou menor EC50 foi a 1:50 com valor de eficácia 1,74 mg/mg. Da mesma forma, o IC50 apresentou valores de inibição 26,64 mg/l e 39,87 mg/l para 1:100 e 1:50, respectivamente.

Diversos autores determinaram a capacidade antioxidante do bio-óleo e encontraram resultados semelhantes ao observado na FA. Loo et al. (2008) determinaram a capacidade antioxidante do bio-óleo de pirólise lenta e encontraram valor de EC50 0,2246 mg/ml. Já Lu et al. (2020) encontraram IC50 0,231 mg/ml. Comparando o potencial antioxidante da FA com produtos cuja base é o hidroxitolueno butilado (BHT) e o hidroxianisol butilado (BHA), utilizados comercialmente na indústria alimentícia e de dermocosméticos, o BHT apresentou EC50 de 0,038 mg/ml e o BHA EC50 de 0,056 mg/ml (LI et al. 2018), comparativamente inferiores a FA. Ressalta-se esta comparação, pois BHT e BHA são antioxidantes sintéticos amplamente utilizados, porém com efeitos colaterais, o que tem evidenciado a necessidade do desenvolvimento de antioxidantes naturais e seguros ao meio ambiente (LU et al. 2020), tal como a FA e potencialmente as outras frações do bio-óleo.

A análise frente ao cátion ABTS+ detectou maior capacidade antioxidante na fração 1:100, com 1415,46 mg/l equivalente ao padrão Trolox, descrito como análogo à vitamina E (TABELA 5). Conforme expresso pela análise cromatográfica (FIGURA 12), a FA tem na sua constituição química a presença de compostos de natureza distinta quanto a polaridade. Isso pode justificar parcialmente o alto potencial antioxidante da FA, pois segundo Alves et al. (2010), o método ABTS+ se mostra eficiente na descrição da capacidade antioxidante de amostras ricas tanto em compostos polares quanto apolares.

Embora os métodos de detecção da capacidade antioxidante DPPH e ABTS+ apresentem baixa correlação entre si, como constatado por Alves et al (2010) e Rojas-Barquera e Narváez-Cuenca (2009) em decorrência dos componentes eletroquímicos e iônicos presentes nos diferentes radicais livres em cada análise, capturados pela FA, ambos os

resultados apontam a fração de menor concentração como a mais eficiente na captura dos radicais livres. Segundo Zhang e Wu (2019), maiores teores de água apresentam maior eficiência de separação das frações, sendo assim, a desemulsificação está diretamente ligada ao teor de água durante o fracionamento. Nessas condições, o fracionamento ocorre de forma mais completa, possibilitando a quebra de polímeros de cadeia longa, reduzindo o seu peso molecular e, dessa forma, aumentando a sua solubilidade, podendo possivelmente influenciar de forma positiva na capacidade antioxidante da FA nessa proporção.

O resultado obtido por meio do método FRAP (TABELA 5), que se caracteriza pela redução de radicais férricos, apresentou maior eficácia na fração 1:50, cujos valores de capacidade antioxidante equivalente ao padrão FeSO_4 encontrado foi 1306,21 mg/l, seguido da fração 1:70, com 1139,74 mg/l e 1:100, com 1074,28 mg/l, sugerindo que o menor teor de água influencia positivamente na redução dos íons férricos. Este resultado está coerente com o material de origem (bio-óleo), o qual apresenta alto poder de redução de íons Fe(III) . Wei et al (2010) analisaram o bio-óleo de pirólise lenta e constataram que a concentração influencia positivamente na redução de íons Fe(III) .

Conforme observado pela análise cromatográfica (FIGURA 14), grande parte do conteúdo da FA é classificada como do grupo dos compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são um dos tipos de antioxidantes naturais que apresentam relação positiva com a capacidade antioxidante de um material de origem vegetal, visto que são os grandes responsáveis pela redução da ação de radicais livres (SOARES, 2002). Esta relação positiva com os compostos fenólicos corrobora com o observado por Lu et al. (2020), em que estes autores também constataram a correlação não-significativa entre compostos como cetonas, álcoois, aldeídos e ésteres e a capacidade antioxidante da fase aquosa de bio-óleo de pirólise rápida.

O valor percentual médio do conteúdo fenólico detectado pelo CG-EM aproxima-se de 36% nas três proporções de fracionamento. Esta observação corrobora com o que foi observado na análise de fenólicos totais, onde todas as FA apresentaram teor de fenólicos totais com valor equivalente ao padrão ácido gálico entre 79% e 87%. O teor de fenólicos totais se mostrou maior em maiores teores de água no fracionamento, constatando as observações de Zhang e Wu (2019).

Segundo Barata (2000), fenóis possuem alta capacidade de atuar como antioxidantes. Desse modo, é possível atribuir a alta atividade antioxidante da FA a estas moléculas, em destaque o siringol (2,6-dimetoxifenol), o eugenol e o catecol (APÊNDICE 1), visto que o alto teor de átomos de hidrogênio dos compostos fenólicos possibilita a estabilização dos

radicais livres via doação de grupos hidroxilas (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992). O siringol possui atividade antioxidante frente aos radicais livres DPPH, ABTS+ e íons férricos, sendo o mais versátil, entretanto o catecol possui maior potência na eliminação de radicais livres (LOO et al., 2008; HASSAN et al., 2016). Já o eugenol é dito o antioxidante mais eficaz e seu potencial de captura de radicais livres é amplamente discutido pela literatura (HASSAN et al., 2016; STAS et al., 2020).

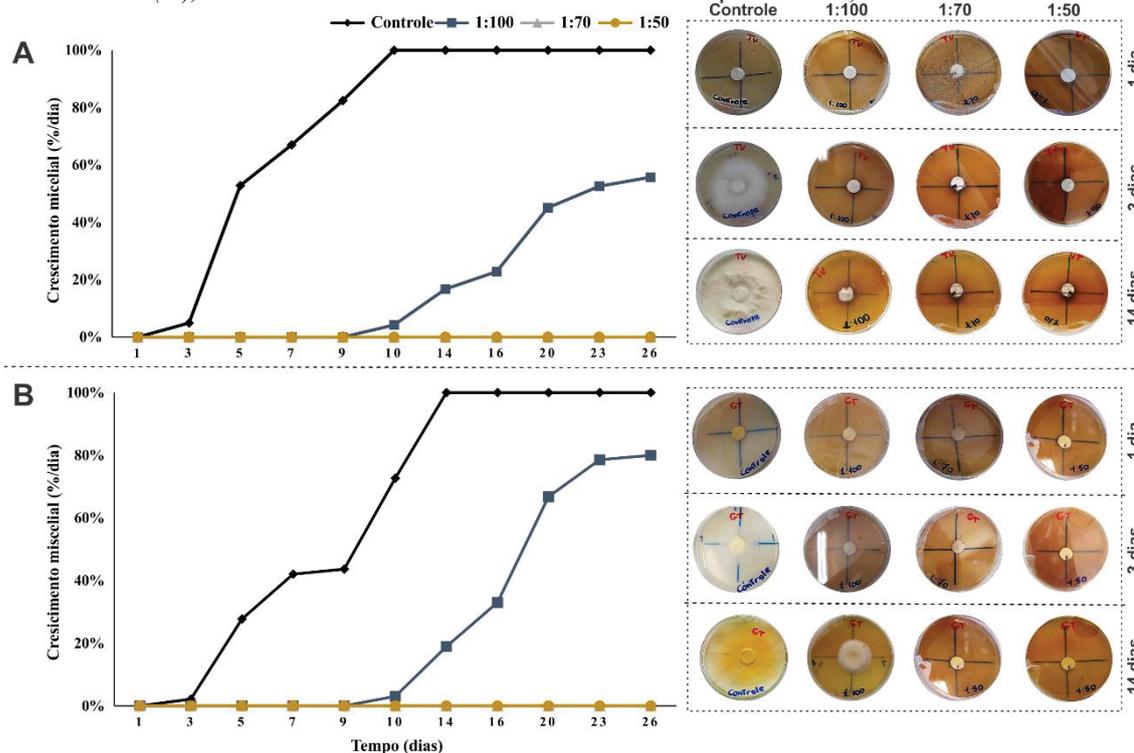
Em suma, apesar da baixa concentração, a FA apresentou capacidade antioxidante relevante, especialmente se comparado a antioxidantes sintéticos comerciais, com potencial influência do teor de fenólicos naturalmente existente na fase aquosa pós-fracionamento do bio-óleo de pirólise rápida.

4.7 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FASE AQUOSA

Os fungos *Trametes versicolor*, causador da podridão branca, e *Gloeophyllum Trabeum*, causador da podridão parda têm grande relevância econômica. Como forma de mitigar a deterioração da madeira causada pela ação destes fungos, substâncias químicas como arsênio no produto comercial CCA (arseniato de cobre cromado) são utilizados como preservantes de madeira, contudo apresentam alta toxicidade. Nesse âmbito, o estudo de produtos renováveis como substitutos dos preservantes comerciais para o tratamento da madeira é de grande relevância (HINGSTON et al., 2001; LOURENÇON et al., 2016).

Por meio do ensaio de potencial antagonista, ao avaliar o crescimento dos fungos biodeterioradores de madeira *Trametes Versicolor* e *Gloeophyllum trabeum* nas amostras produzidas com diluições do BDA em FA, observou-se atividade antifúngica em todas as amostras, especialmente para os menores teores de água utilizados no fracionamento, isto é, 1:70 e 1:50 (FIGURA 17).

FIGURA 17- CRESCIMENTO MICELIAL DOS FUNGOS *Trametes versicolor* (A) E *Gloeophyllum trabeum* (B), AO LONGO DE 26 DIAS DIANTE DAS FRAÇÕES 1:100, 1:70 E 1:50.



FONTE: O autor (2021)

Observou-se que a FA interferiu no crescimento de ambos os fungos apodrecedores se comparado com a amostra controle, sem a adição de FA, em que os fungos tomaram toda área da placa de petri entre 10-14 dias. Para a FA 1:100, o crescimento foi consideravelmente reduzido, visto que o crescimento dos fungos se iniciou apenas entre o nono e o décimo dia do ensaio de potencial antagonista.

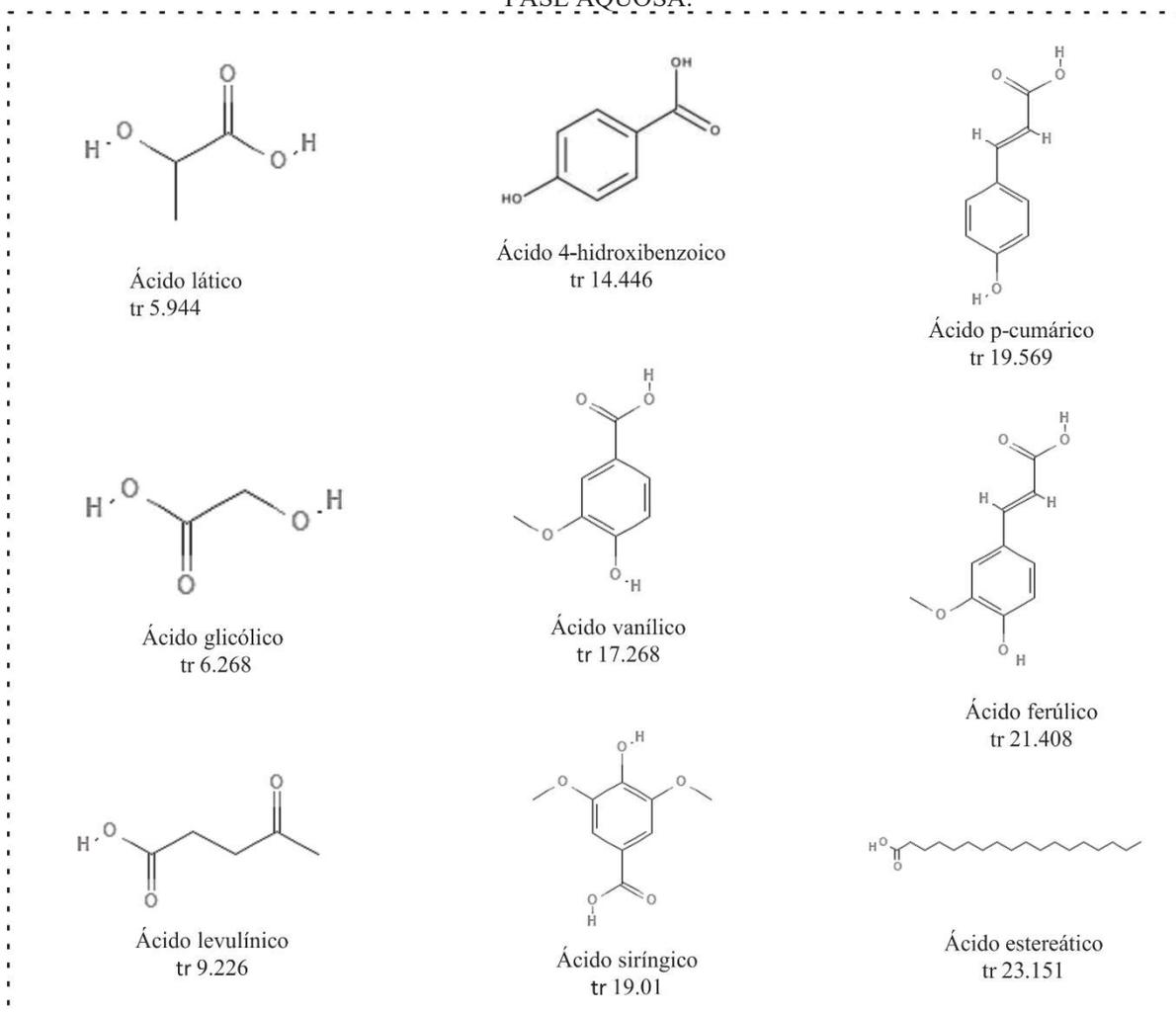
No tratamento controle, o fungo *T. versicolor* apresentou crescimento rápido, em que foram necessários apenas 10 dias para o crescimento micelial total nas placas de petri. Já o fungo *G. trabeum* necessitou de 14 dias para estabelecer crescimento completo. Por outro lado, a concentração FA1:100, apresentou inibição do crescimento total dos fungos testados. O fungo *T. versicolor* atingiu 56%, enquanto o fungo *G. trabeum* atingiu 80% da área da placa de Petri após 26 dias da avaliação do crescimento micelial.

Nas frações 1:70 e 1:50, em que utilizaram teores de água menores para o fracionamento, não foi observado crescimento em ambos os fungos estudados durante os 26 dias de interação entre os microrganismos e a FA. Ilustra-se e observa-se na FIGURA 17 o crescimento micelial até o 14º dia, confirmando o crescimento total do tratamento controle e o potencial inibitório da FA para suas três proporções. A completa inibição do crescimento

micelial mostra que os fungos são sensíveis ao FA produzida a partir dessas condições de fracionamento, e, por conseguinte sugerindo sua utilização como material preservativo de madeira, e potencialmente para outros materiais lignocelulósicos em geral.

O menor potencial antifúngico da fração 1:100 em relação as frações de maior concentração pode estar atrelada a presença menos marcante de ácidos orgânicos (FIGURA 18) e aldeídos com alto potencial antimicrobiano (APÊNDICE 4).

FIGURA 18- ILUSTRAÇÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS DETECTADOS POR ANÁLISE DE CG-EM NA FASE AQUOSA.



FONTE: O autor (2021)

Os ácidos orgânicos oriundos da degradação da celulose são amplamente discutidos na literatura como um dos principais responsáveis pelo potencial antifúngico do bio-óleo, pois impossibilita o mecanismo de produção energética do microrganismo através da acidificação do citoplasma (MANI-LOPEZ et al., 2012; THEAPPARAT; LEELASUPHAKUL, 2015). Por sua vez, a madeira impregnada por furfurilação, fonte de furfural e 5-hidroximetilfurfural,

ambos compostos químicos presentes na FA, apresentam boa taxa de proteção frente a fungos apodrecedores e são viáveis em um sistema de célula cheia (JUNG et al., 2007; LANDE et al., 2008).

Todavia, o maior teor de fenólicos (TABELA 5) impediu o crescimento normalizado do inóculo na FA 1:100, resultando no desenvolvimento retardado dos fungos estudados. Segundo Mourant et al. (2005), compostos fenólicos, como o catecol e o eugenol atuam alterando a composição da membrana plasmática. Outra característica dos fenóis é a capacidade antioxidante, que atuam como um sumidouro estequiométrico, além de quelar íons metálicos, visto que o ataque fúngico ocorre através de ataque oxidativo a partir da quebra dos radicais hidroxila presente na estrutura química da madeira (SCHULTZ et al., 2005; BINBUGA et al., 2005; MOHAN et al., 2008).

Os compostos oriundos da pirólise têm potencial de impedir ou retardar o crescimento o crescimento de fungos apodrecedores da madeira (BARBERO-LÓPEZ et al., 2019) Dentre a diversa gama de compostos presentes na FA, o catecol, o eugenol, os ácidos orgânicos e o furfural são reconhecidos pela literatura quanto a sua capacidade de reduzir, no caso na amostra 1:100 e inibir, quando se trata das amostras 1:70 e 1:50, o crescimento fúngico, apesar do alto teor de água presente no material (MATTOS et al., 2019).

A substituição dos produtos utilizados comumente no mercado por bioprodutos é de grande relevância em razão da alta toxicidade destes tanto ao ser humano quanto ao meio ambiente (LOURENÇON et al., 2016), tornando a FA um produto promissor devido a sua atividade antifúngica em relação ao seu alto teor de água e, portanto, sua hidrossolubilidade. Isto a torna congruente a cerca de 80% dos preservativos de madeira utilizados nos Estados Unidos da América (EUA) que são produtos conservantes à base de água, de baixo custo e solúveis em água (MICKLEWRIGHT, 1998).

O potencial nocivo do bio-óleo à fungos xilófagos já foi testado por Kim et al. (2012) e Lourençon et al. (2016). Ambos estudos detectaram que há atividade antifúngica no bio-óleo quando impregnado na madeira, todavia este material apresenta alguns problemas de utilização notórios. Do ponto de vista funcional, o bio-óleo tende a lixiviar da madeira devido a sua baixa aderência ao interior da fibra de madeira.

Os resultados obtidos acerca do potencial antifúngico da FA têm grande relevância, pois direcionam a aplicação de um produto da pirólise da madeira como tratamento preservativo para a própria madeira. A FA mostra-se como um produto promissor, pois apresenta características importantes para utilização como preservante natural e assim, uma alternativa aos produtos sintéticos consolidados no mercado.

4.8 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Detectou-se que todas as frações da FA apresentam potencial antibacteriano diante das bactérias *E. coli* e *S. aureus*. A concentração mínima inibitória (MIC) da FA foi similar para ambas as bactérias (TABELA 6).

Todas as frações apresentaram atividade antibacteriana idênticas contra as bactérias *E. coli*, gram-negativa, e a *S. aureus*, gram-positiva, sendo o valor do MIC um fator de menor relevância no resultado obtido, uma vez que todas as frações analisadas apresentaram potencial antibacteriano satisfatório.

TABELA 6- CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DAS BACTÉRIAS *E. coli* E *S. aureus*.

Concentração mínima inibitória (g/L)	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	Amoxicilina	Trimetroprima
Antibiótico	0,12	0,62
1:50	2,17	2,17
1:70	1,61	1,61
1:100	2,10	2,10

A FA 1:100 inibiu o crescimento da bactéria quando a sua concentração foi 2,17 g/l, já as frações 1:70 e 1:50 inibiram o crescimento das bactérias estudadas na concentração de 1,61 g/l e 2,17 g/l, respectivamente. O MIC das três frações estudadas apresentou diferença sutil entre si e igual para as duas bactérias aplicadas na mesma fração.

Em comparativo aos antibióticos padrões que não foi aplicado para ambas as bactérias, a FA apresentou bom desempenho, visto que o mesmo valor de MIC foi detectado tanto para *E. coli* quanto para *S. aureus*. Isso sugere que a FA pode ser empregada eficientemente a mais de uma bactéria de forma simultânea, necessitando de uma mesma concentração para a obtenção de um efeito inibitório similar.

Embora as bactérias pertencentes ao grupo das gram-positivas sejam mais resistentes devido a camada peptídica espessa que torna os extratos difíceis de penetrar (SHRIVASTAVA et al., 2007), a FA apresentou o mesmo resultado para ambas as bactérias. Isso pode ser justificado pela eficiente ação dos compostos de natureza fenólica, com maior hidrofobicidade presentes na FA. Esses compostos são capazes de se depositarem na

membrana celular bacteriana causando vazamento do conteúdo intracelular causando morte do microrganismo (ACHARYA et al., 2020).

O potencial antibacteriano do bio-óleo foi amplamente estudado (MILLY et al., 2005; PATRA et al., 2015; RADHAKRISHNAN et al., 2020). A capacidade de inibir o crescimento bacteriano foi atribuída a presença de furanos, cetonas, ácidos e ao grande número de grupos carbonílicos, também presentes na FA conforme previamente descrito nas análises cromatográficas (APÊNDICE 1). Contudo, não é possível condicionar o potencial antibacteriano a um grupo de compostos, e sim a uma sinergia entre os mesmos (YANG et al., 2016).

No entanto, a aplicação do bio-óleo como agente antibacteriano apresenta desvantagens, como a alta reatividade dos seus compostos. Já outros produtos de base lignocelulósica apresentam menor potencial antibacteriano se comparado a FA do presente estudo e aos antibióticos comumente utilizados. Lourençon et al. (2018) testaram o potencial antibacteriano da lignina Kraft com pH 7 frente as bactérias *E. coli* e *S. aureus*, e observaram MIC de 6,25 g/l para ambas as bactérias. Para melhorar a atividade antibacteriana dos produtos obtidos através da biomassa, diversos autores utilizam aditivos inorgânicos, a exemplo de nanopartículas de prata (KLAPISZEWSKI et al., 2015), todavia estes materiais suplementares tendem a aumentar a toxicidade do antibiótico ao meio ambiente (LOURENÇON, 2018).

Desse modo, a FA apresenta-se como um produto vantajoso para aplicação como agente bactericida, uma vez que se mostrou eficaz tanto contra a bactéria *E. coli* quanto a *S. aureus* apesar da sua baixa concentração. Além disso, é um material hidrossolúvel oriundo do bio-óleo, cujos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos possuem baixo potencial genotóxico (PIMENTA et al., 2000; CAMPISI et al., 2016; DE LIMA et al., 2019).

5 CONCLUSÕES

As proporções de fracionamento se mostraram pouco influentes nas propriedades físico-químicas.

Detectou-se rendimento crescente em relação ao teor de água adicionado no momento do fracionamento.

O teor de água foi concordante ao potencial antimicrobiano, e mostrou pouca diferenciação na termodegradação das frações.

Um grande número de compostos químicos foi detectado na fase aquosa, dentre eles alguns com alto valor agregado, como o catecol, o 5-hidroximetilfurfural, a vanilina e a levoglicosana.

O fracionamento do bio-óleo foi eficiente na estabilização dos compostos que o compõe.

Toas as frações apresentaram alto potencial antioxidante e alto potencial antimicrobiano apesar da baixa concentração da fase aquosa.

A partir deste estudo conclui-se que a fase aquosa oriunda do fracionamento em água fria do bio-óleo pode ser aproveitada como um coproduto de natureza hidrossolúvel e renovável.

REFERÊNCIAS

ACHARYA, S.; PATRA, D. K.; PRADHAN, C.; MOHAPATRA, P. K. Anti-bacterial, anti-fungal and anti-oxidative properties of different extracts of *Bruguiera gymnorrhiza* L. (Mangrove). **European Journal of Integrative Medicine**. v.36, p. 101-114, 2020.

ALSBOU, E.; HELLEUR, B. Accelerated aging of bio-oil from fast pyrolysis of hardwood. **Energy & fuels**. v. 28, 3224-3235, 2014.

ALVAREZ-CHAVEZ, B.J.; GODBOUT, S.; PALACIOS-RIOS, J.H.; LE ROUX, É.; RAGHAVAN, V. Physical, chemical, thermal and biological pretreatment technologies in rapid pyrolysis to maximize the quality of bio-oil: A critical review. **Biomass and Bioenergy**. v. 128, p. 105333, 2019.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**. v. 33, p. 2202–2210, 2010.

American Society for Testing and Materials - ASTM D 4052- Standard test method for density and relative density of liquids by digital density meter. **Annual Book of ASTM Standards**. 2001.

ARAÚJO, E. S. **Potencial Antibacteriano E Antifúngico Do Extrato Pirolenhoso**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2018. 36 p.

AYALA-ZAVALA, J. F.; SILVA-ESPINOZA, B. A.; CRUZ-VALENZUELA, M. R.; VILLEGAS-OCHOA, M. A.; ESQUEDA, M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; & CALDERÓN-LÓPEZ, Y. Antioxidant and antifungal potential of methanol extracts of *Phellinus* spp. from Sonora, Mexico. **Revista Iberoamericana de Micología**. v. 29, 132–138, 2012.

AZEVEDO, M. M.; RAMOS, I. F.; CRUZ, L. C.; VAZ, C. P.; RODRIGUES, A. P. Genesis of azole antifungal resistance from agriculture to clinical settings. *J. Agric. Food Chem.* v. 63, n. 34, p. 7463-7468, 2015.

BA, T., CHAALA, A., GARCIA-PEREZ, M., ROY, C. Colloidal properties of bio-oils obtained by vacuum pyrolysis of softwood bark. Storage stability. *Energy & fuels.* v. 18, n. 1, p. 188-201, 2004.

BARATA, R. M., CHAPARRO, A., CHABREGAS, S. M., GONZÁLEZ, R., LABATE, C. A., AZEVEDO, R. A., SARATH, G., LEA, P. J. SILVA-FILHO, M. C. Targeting of the soybean leghemoglobin to tobacco chloroplasts: effects on aerobic metabolism in transgenic plants. *Plant Science.* v. 155, n. 2, p.193-202, 2000.

BAJPAI, P. Management of pulp and paper mill waste. **Switzerland: Springer International Publishing.** 2015.

BARBERO-LÓPEZ, A.; CHIBILY, S.; TOMPPO, L.; SALAMI, A.; ANCIN-MURGUZUR, F. J.; VENÄLÄINEN, M. HAAPALA, A. Pyrolysis distillates from tree bark and fiber hemp inhibit the growth of fungi that rot the wood. *Industrial Crops and Products*, v. 129, p. 604-610, 2019.

BATISTELLA, C. B. **Tecnologia da destilação molecular: da modelagem matemática a obtenção de dados experimentais aplicada a produtos de química fina.** 1999. 201p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP. 1999.

BENNETT, N. M. **Fermentable sugars from pyrolysis oil: extraction and hydrolysis of levoglucosan.** Doctoral dissertation, University of British Columbia, 2006.

BENNETT, N. M.; HELLE, S. S.; DUFF, S. J. B. Extraction and hydrolysis of levoglucosan from pyrolysis oil. *Bioresour. Technol.* v. 100, p. 6059–6063, 2009.

BINBUGA; N.; CHAMBERS; K.; HENRY; W. P.; SCHULTZ; T. P. Metal chelation studies relevant to wood preservation. 1. Complexation of propyl gallate with Fe²⁺. *Holzforschung.* v. 59; p. 205-209; 2005.

BOSMAN, A. A.; COMBRINCK, S.; ROUX-VAN DER MERWE, R.; BOTHA, B. M.; MCCRINDLE, R. I.; HOUGHTON, P. J. Isolation of an anthelmintic compound from *Leucosidea sericea*. **South African Journal of Botany**. v. 70, n. 4, p. 509-511, 2004.

BOUCHER, M.; CHAALA, A.; PAKDEL, H.; ROY, C. Bio-oils obtained by vacuum pyrolysis of softwood bark as a liquid fuel for gas turbines. Part II: Stability and ageing of bio-oil and its blends with methanol and a pyrolytic aqueous phase. **Biomass and Bioenergy**. v. 19, p. 351–361, 2000.

BREBU, M. E.; VASILE, C. Thermal degradation of lignin - a review. **Cellulose Chemistry & Technology**, v. 44, 2010.

BRIDGWATER, A. V. Advancer in thermochemical biomass conversion. **Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry**, v. 1, p. 1484-1494, 1992.

BRIDGWATER, A.; CZERNIK, S.; DIEBOLD, J.; MEIER, D.; OASMAA, A.; PEACOCKE, C.; PISKORZ, J.; RADLEIN, D. **Fast pyrolysis of biomass: a handbook**. 1999.

BRIDGWATER, A. V. Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. **Chemical engineering journal**, v. 91, p. 87-102, 2003

BRIDGWATER, A.V. Review of fast pyrolysis of biomass and product upgrading. **Biomass and Bioenergy**, v. 38, p. 68-94, 2012.

CAO, J.; JIANG, X., Preservation of wood and other sustainable biomaterials in China. In **Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials**. American Chemical Society, p. 363-383, 2014.

CAMPISI, T.; SAMORÌ, C.; TORRI, C.; BARBERA, G.; FOSCHINI, A.; KIWAN, A.; GALLETTI, P.; TAGLIAVINI, E.; PASTERIS, A. Chemical and ecotoxicological properties of three bio-oils from pyrolysis of biomasses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 132, p.87-93. 2016.

CHAN; J. K.; DUFF; S. J. Methods for mitigation of bio-oil extract toxicity. **Bioresource technology**. v. 101, p. 3755-3759, 2010.

CHAN; Y. H.; LOH; S. K.; FUI CHIN; B. L.; YIIN; C. L.; HOW B. S.; CHEAH; K. W.; LAM; S. S. Fractionation and extraction of bio-oil for production of greener fuel and value-added chemicals: Recent advances and future prospects. **Chemical Engineering Journal**. 2020.

CHANDRAN, R., KALIAPERUMAL, R., BALAKRISHNAN, S., BRITTEN, A. J., MACINNIS, J., & MKANDAWIRE, M. Characteristics of bio-oil from continuous fast pyrolysis of *Prosopis juliflora*. **Energy**. v. 190, p. 116387, 2020.

CHAUHAN; A.; GOYAL; M. K.; & CHAUHAN; P. GC-MS technique and its analytical applications in science and technology. **J. Anal. Bioanal. Tech.** v. 5, p. 222, 2014.

CHEN; S.; WOJCIESZAK; R.; DUMEIGNIL; F.; MARCEAU; E.; ROYER; S. How Catalysts and Experimental Conditions Determine the Selective Hydroconversion of Furfural and 5-Hydroxymethylfurfural. **Chemical Reviews**. 2018.

CHHEDA, J. N., HUBER, G. W., & DUMESIC, J. A. Liquid-phase catalytic processing of biomass-derived oxygenated hydrocarbons to fuels and chemicals. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 46, p. 7164-7183, 2007.

CONVERTI, A.; ALIAKBARIAN, B.; DOMÍNGUEZ, J. M.; VÁZQUEZ, G. B.; PEREGO, P. Microbial production of biovanillin. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 41, p. 519-530, 2010.

CZERNIK; S.; BRIDGWATER; A. V. Overview of applications of biomass fast pyrolysis oil. **Energy & fuels**. v. 18, n. 2, p. 590-598, 2004.

DALLEGRAVE; A. **Determinação de hormônios estrógenos e progestágenos em amostras ambientais por GC-MS**. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Instituto de Química; Pós-graduação em Química. Porto Alegre; 2012.

DAUGSCH, A.; PASTORE, G. Obtenção de vanilina: oportunidade biotecnológica. **Química Nova**. v. 28; n. 4, p. 642-645, 2005.

DE LIMA; G. G.; MENDES; C.; DE MARCHI; G.; VICARI; T.; CESTARI; M. M.; GOMES; M.F.; RAMSDORF; W. A.; MAGALHÃES; W. L. E.; HANSEL; F. A.; LEME; D. M. The evaluation of the potential ecotoxicity of pyroligneous acid obtained from fast pyrolysis. **Ecotoxicology and environmental safety**. v. 180; p. 616-623. 2019.

DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. **Energy conversion and management**. v. 50; p. 14-34; 2009.

DEMIRBAS, A. The influence of temperature on the yields of existing compounds in bio-oils obtained from biomass samples via pyrolysis; **Fuel Processing Technology**. 88; p. 591-597; 2007.

DIAS, K. B.; BARREIROS, R. M. Potentiality of tall oil as preservative for wood. **Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 2, p. 180-183, 2017.

DIEBOLD, J. P.; CZERNIK, S. Additives to lower and stabilize the viscosity of pyrolysis oils during storage. **Energy & Fuels**. v. 11; p. 1081-1091; 1997.

DOBELE, G.; URBANOVICH, I.; VOLPERT, A.; KAMPARS, V.; SAMULIS, E. Fast pyrolysis—effect of wood drying on the yield and properties of bio-oil. **BioResources**. v. 2, p. 698-706, 2007.

DUARTE, S.; LV, P.; ALMEIDA, G.; ROLÓN, J. C.; PERRÉ, P. Alteration of physico-chemical characteristics of coconut endocarp—*Acrocomia aculeata*—by isothermal pyrolysis in the range 250–550° C. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 126, p. 88-98, 2017.

FACHE, M.; BOUTEVIN, B.; CAILLOL, S. Vanillin production from lignin and its use as a renewable chemical. **ACS sustainable chemistry & engineering**. v. 4, p. 35-46, 2016.

FRATINI, E.; BONINI, M.; OASMAA, A.; SOLANTAUSTA, Y.; TEIXEIRA, J.; BAGLIONI, P. SANS analysis of the microstructural evolution during the aging of pyrolysis oils from biomass. **Langmuir**. v. 22, p. 306-312, 2006.

FLEIGE; C.; HANSEN; G.; KROLL; J.; E STEINBÜCHEL; A. Research of Amycolatopsis sp. strain ATCC 39116 vanillin dehydrogenase and its impact on biotechnological production of vanillin. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 79; p. 81-90; 2013.

FUKUTOME, A.; KAWAMOTO, H.; SAKA, S. Processes forming gas; tar; and coke in cellulose gasification from gas-phase reactions of levoglucosan as intermediate. **ChemSusChem.** v. 8; p. 2240-2249; 2015.

GALLIVAN, R. M.; MATSCHEI, P. K. **Fractionation of oil obtained by pyrolysis of lignocellulosic materials to recover a phenolic fraction for use in the manufacture of phenol-formaldehyde resins.** N: US Patent 4.209.647; American Can. Co., 1980.

GIUDICIANNI, P. **Composizione Chimica e caratteristiche di combustione dei liquidi derivati da pirolisi di biomasse.** Tese de Doutorado. Università degli Studi di Napoli Federico II. 2006.

GUO, Z. G.; WANG, S. R.; ZHU, Y. Y.; LUO, Z. Y.; CEN, K. F. Separation of acid compounds for refining biomass pyrolysis oil. **Journal of Fuel Chemistry and Technology.** v. 37, p. 49-52, 2009.

HAENEN, G. R. M. M.; PAQUAY, J. B. G.; KORTHOUWER, R. E. M.; BAST, A. Peronylrile scavenging by flavonoids. **Biochemical and Biophysical Research Communications.** Orlando, v. 236, p. 591 -593, 1997.

HASSAN, E. L.; BARBARY, E.; EMAD, M.; STEELE, P. Evaluation of the antioxidant activities of different bio-oils and their phenolic distilled fractions for wood preservation. **International Biodeterioration & Biodegradation.** v. 110, p. 121–128. 2016.

HIMMELBLAU, D. A.; GROZDITS, G. A.; GIBSON, M. D. **Performance of composite wood adhesives made with biomass pyrolysis oil.** In Proceedings of Wood Adhesives. 2000.

HINGSTON, J. A.; COLLINS, C. D.; MURPHY, R. J.; LESTER, J. N. Leaching of copper-chrome wood condoms: a review. **Environ. Pollut.** v. 111, p. 53 – 66, 2001.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V.; **Mass Spectrometry: Principles and Applications.** 2007.

HUBER, G. W.; IBORRA, S.; CORMA, A. Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering. **Chemical reviews**. v. 106, p. 4044-4098, 2006.

ITABAIANA JUNIOR, I.; ALEVAR DO NASCIMENTO, M.; DE SOUZA, R. O. M. A.; DUFOUR, A.; WOJCIESZAK, R. Levoglucosan: A promising platform molecule? **Green Chemistry**. v. 22, p. 5859-5880, 2020.

JACOBSON, K.; MAHERIA, K. C.; DALAI, A. K. Bio-oil valorization: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 23, p. 91-106. 2013.

JAHIRUL, M. I.; RASUL, M. G.; CHOWDHURY, A. A.; ASHWATH, N. Biofuels production through biomass pyrolysis-a technological review. **Energies**. v. 5, p. 4952-5001, 2012.

JENNINGS, W.; MITTLEFEHLDT, E.; STREMPLE, P. **Analytical Gas Chromatography**. 2ed. New York: Academic Press, 1997.

JUNG, K. H.; YOU, S. K.; MOON, S. K.; LEE, U. S. Furfural from Pine Needle Extract Inhibits the Growth of a Plant Pathogenic Fungus, *Alternaria* mail. **Mycobiology**. v. 35, p. 39-43, 2007.

KIM, K. H.; JEONG, H. S.; KIM, J. Y.; HAN, G. S.; CHOI, I. G.; CHOI, J. W. Evaluation of the antifungal effects of bio-oil prepared with lignocellulosic biomass using fast pyrolysis technology. **Chemosphere**. v. 89, n. 6, p. 688-693, 2012.

KLAPISZEWSKI, L.; RZEMIENIECKI, T.; KRAWCZYK, M.; MALINA, D.; NORMAN, M.; ZDARTA, J.; JESIONOWSKI, T. Physicochemical and electrokinetic properties of silica/lignin biocomposites. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 134, p. 220-228, 2015.

KONG, Y.; CHEN, X.; WANG, W.; CHEN, Z. A novel palygorskite-modified carbon paste amperometric sensor for catechol determination. **Analytica chimica acta**. v. 688, p. 203-207 2011.

LI, Z.; ZHANG, J.; QIN, L.; GE, Y. Enhancing antioxidant performance of lignin by enzymatic treatment with laccase. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, p. 2591-2595, 2018.

LANDE, S. **Furfurylation of wood Wood modification by the use of furfuryl alcohol**. Tese de doutorado Norwegian University of Life Science. 2008.

LINDFORS, C.; KUOPPALA, E.; OASMAA, A.; SOLANTAUSTA, Y.; ARPIAINEN, V. Bio-oil fractionation. **Energy & Fuels**. v. 28, p. 5785–5791. 2014.

LOO, A. Y., JAIN, K., DARAH, I. Antioxidant activity of compounds isolated from the pyrolygneous acid, *Rhizophora apiculata*. **Food chemistry**, v. 107, p. 1151-1160, 2008.

LOURENÇON, T. V. **Fractionation of kraft lignin and potential value-added applications**. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

LOURENÇON, T. V.; MATTOS, B. D.; CADEMARTORI, P. H. G; MAGALHÃES, W. L. E. Fast pyrolysis pilot plant bio-oil as an antifungal and hydrophobic agent for wood preservation. **Journal of analytical and applied pyrolysis**. v. 122, p. 1-6, 2016.

LU, F.; RALPH, J. Preliminary evidence for sinapyl acetate as a lignin monomer in kenaf. **Chemical communications**. v. 1, p. 90-91, 2002.

LU, X.; JIANG, J.; SUN; K.; SUN, Y.; YANG, W. Increased antioxidant activity of aqueous bio-oil by hydrothermal pretreatment and its structure-activity relationship. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. p. 104992. 2020.

MAGALHÃES, W. L. E.; MATOS, M. de; LOUREÇON, T. V. Scientific methodology: determination of the antioxidant capacity of lignin by capturing the free radical DPPH. **Embrapa Forests-Technical Communication (INFOTECA-E)**; 2018.

MANDAL, S. C.; MANDAL; V.; DAS, A. K. Extração de botânicos. **Essentials of Botanical Extraction**. 2015.

MANI-LÓPEZ, E.; GARCÍA, H.S.; LÓPEZ-MALO; A. Ácidos orgânicos como antimicrobianos para controle de *Salmonella* em produtos de carnes e aves. **Food Research International**. v. 45, p. 713-721, 2012.

MANTILLA, S. V.; MANRIQUE, A. M.; GAUTHIER-MARADEI, P. Methodology for extraction of phenolic compounds of bio-oil from agricultural biomass wastes. **Waste and Biomass Valorization**. v. 6, n. 3, p. 371-383, 2015.

MATOS, M.; MATTOS, B. D.; DE CADEMARTORI, P. H. G.; LOURENÇON, T.; V; HANSEL, F. A.; ZANONI, P. R. S.; YAMAMOTO; C. I.; MAGALHÃES, W. L. E. Pilot-Scaled Fast-Pyrolysis Conversion of Eucalyptus Wood Fines into Products: Discussion Toward Possible Applications in Biofuels; Materials; and Precursors. **BioEnergy Research**. v. 13; p. 411–422; 2020.

MATTOS, C.; VELOSO, M. C. C.; ROMEIRO, G. A.; FOLLY, E. Trends in biocidal applications of pyrolysis bio-oils: Characterization of various conditions and biomass; a review. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v.139, p. 1-12, 2019.

MEIER, D.; FAIX, O. State of the art of applied fast pyrolysis of lignocellulosic materials—a review. **Bioresource technology**. v. 68, p. 71-77, 1999.

MELA, E.; ARKEMAN, Y.; NOOR, E.; ACHSAN, N. A. Potential Products of Coconut Shell Wood Vinegar. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. v. 4. n. 4, p. 1480-1493, 2013.

MENG, A.; MOORE, J.; TILOTTA, D.; KELLY, S.; PARK S. Toward understanding of bio-oil aging: Accelerated aging of bio-oil fractions. **Sustainable Chem. Eng.** v.8, p. 2011-2018, 2014.

MESA, L. R. M. **Estudo Da Pirolise Da Cana-De-Açúcar Integral**. 102p. Dissertação (Mestrado) Faculdade De Engenharia Mecânica; Universidade Estadual De Campinas, Campinas. 2011.

MESA-PEREZ, J. M.; CORTEZ, L. A. B.; ROCHA, J. D.; BROSSARD-PEREZ, L. E.; OLIVARES-GÓMEZ, E. Unidimensional heat transfer analysis of elephant grass and sugar cane bagasse slow pyrolysis in a fixed bed reactor. **Fuel processing technology**. v. 86, p. 565-575, 2005.

MICKLEWRIGHT, J. T. **Wood Preservation Statistics**; 1990. AWPA.

MILLY, P. J.; TOLEDO, R. T.; RAMAKRISHNAN, S. Determination of minimum inhibitory concentrations of liquid smoke fractions. **Journal of Food Science**. v. 70, p. 12-17, 2005.

MOHAN, D.; PITTMAN, C. U.; STEELE, P. H. Wood / Biomass Pyrolysis for Bio Oil: A Critical Review. **Energy and fuels**. v. 20, p. 848-889, 2006.

MOURANT, D.; YANG, D. Q.; LU, X.; ROY, C. Anti-fungal properties of the pyroligneous liquors from the pyrolysis of softwood bark. **Wood Fiber Science**. v. 37, p. 542–548, 2005.

MULLEN, C. A.; BOATENG, A. A. Characterization of water insoluble solids isolated from various biomass fast pyrolysis oils. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 90, p. 197–203, 2011.

MURWANASHYAKA, J.N.; PAKDEL, H.; ROY, C. Pirólise a vácuo em etapas e em uma etapa de biomassa derivada de bétula para monitorar a evolução de fenóis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 60, p. 219-231, 2001.

NOMANBHAY, S.; HUSSEIN, R.; ONG, M. Y. Sustainability of biodiesel production in Malaysia by production of bio-oil from crude glycerol using microwave pyrolysis: a review. **Green Chemistry Letters and Reviews**. v. 11, p. 135-157, 2018.

OASMAA, A.; CZERNIK, S. Fuel oil quality of biomass pyrolysis oils state of the art for the end users. **Energy & Fuels**. v. 13, p. 914-921, 1999.

OASMAA, A.; MEIER, D. Norms and standards for fast pyrolysis liquids: 1. Round robin test. **Journal of analytical and applied pyrolysis**. v. 73, p. 323-334, 2005.

OCHOA, A.; BARBARIAS, I.; ARTETXE, M.; GAYUBO, A. G.; OLAZAR, M.; BILBAO, J.; CASTAÑO, P. Deactivation dynamics of a Ni supported catalyst during the steam reforming of volatiles from waste polyethylene pyrolysis. **Applied Catalysis B: Environmental**. v. 209, p. 554-565, 2017.

OUELLETTE, R. J.; RAWN, J. D. **Organic chemistry: structure, mechanism, and synthesis**. Elsevier. 2014.

PANDEY, A.; BHASKAR, T.; STÖCKER, M. E; SUKUMARAN, R. **Avanços recentes na conversão termoquímica de biomassa**. Elsevier. 2015.

PATRA, J. K.; HWANG, H.; CHOI, J. W.; BAEK, K. H. Bactericidal mechanism of bio-oil obtained from fast pyrolysis of *Pinus densiflora* against two foodborne pathogens, *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes*. **Foodborne Pathogens and Disease**. v. 12, p. 529-535, 2015.

PELUCCHI, M.; CAVALLOTTI, C.; CUOCI, A.; FARAVELLI, T.; FRASSOLDATI, A.; RANZI, E. Cinética detalhada de espécies fenólicas substituídas em bio-óleos de pirólise. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 4, p. 490-506, 2019.

PIRES, A. P.; ARAUZO, J.; FONTS, I.; DOMINE, M.E.; FERNÁNDEZ ARROYO, A.; GARCIA-PEREZ, M.E.; MONTOYA, J.; CHEJNE, F.; PFROMM, P.; GARCIA-PEREZ, M. Challenges and opportunities for bio-oil refining: A review. **Energy & Fuels**, v. 33, p. 4683-4720, 2019.

PIMENTA, A. S.; BAYONA, J. M.; GARCÍA, M. T.; SOLANAS, A. M. Assessment of acute toxicity and genotoxicity of liquid products from the pyrolysis of *Eucalyptus grandis* wood. **Archives of environmental contamination and toxicology**. v. 38, p.169-175, 2000.

PINTO, O.; ROMERO, R.; CARRIER, M.; APPELT, J.; SEGURA, C. Fast pyrolysis of tannins from pine bark as a renewable source of catechols. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 136, p. 69-76, 2018.

POVEDA-GIRALDO, J. A.; JUAN CAMILO SOLARTE-TORO, J. C.; ALZATE, C. A. C. The potential use of lignin as a platform product in biorefineries: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 138, p. 110688, 2021

PRIMAZ, C. T. **Caracterização dos compostos presentes no bio-óleo obtido a partir da pirólise da borra residual de café**. Dissertação de mestrado Universidade Federal do Rio grande do Sul. (2014).

QIANG, Z. J. L. W. L.; XIFENG, Z. Emulsification Technology of Bio-oil in Diesel with Combined Surfactants. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**. v. 2, 2009.

QU, W.; XUE, Y.; GAO, Y.; ROVER, M.; BAI, X. Repolymerization of pyrolytic lignin for producing carbon fiber with improved properties. **Biomass and Bioenergy**. v. 95, p. 19–26, 2016.

RANGEL, R. M. **Modelamento Da Eletrocoagulação Aplicada Ao Tratamento De Águas Oleosas Provenientes das indústrias extrativas**. 221p (Tese de Doutorado). Departamento de Ciência dos Materiais Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ. 2008.

RASRENDRA, C. B.; GIRISUTA, B.; VAN DE BOVENKAMP, H. H.; WINKELMAN, J. G. M.; LEIJENHORST, E. J.; VENDERBOSCH, R. H.; M. WINDT D. MEIER H. J. HEERES. Recovery of acetic acid from an aqueous pyrolysis oil phase by reactive extraction using tri-n-octylamine. **Chemical engineering journal**. v.176, p. 244-252, 2011.

REN, S.; YE, X. P.; BOROLE, A. P. Separation of chemical groups from bio-oil water-extract via sequential organic solvent extraction. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 123, p. 30-39, 2017.

REN, S.; YE, X. P.; BOROLE, A. P.; KIM, P.; LABBÉ, N. Analysis of switchgrass-derived bio-oil and associated aqueous phase generated in a semi-pilot scale auger pyrolyzer. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 119, p. 97–103, 2016.

RESENDE, K. A.; ÁVILA-NETO, C. N.; RABELO-NETO, R. C.; NORONHA, F. B.; HORI, C. E. Thermodynamic analysis and reaction routes of steam reforming of bio-oil aqueous fraction. **Renewable energy**. v. 80, p. 166-176, 2015.

ROJAS-BARQUERA, D.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E. Determination of vitamin C, total phenolic compounds and antioxidant activity of guava fruits grown in Colombia. **Química Nova**. v. 44, p. 2047-2053, 2011.

ROVER, M. R.; AUI, A.; WRIGHT, M. M.; SMITH, R. G.; BROWN, R. C. Production and purification of crystallized levoglucosan from pyrolysis of lignocellulosic biomass. **Green Chemistry**. v. 21, p. 5980-5989, 2019.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Scientific Methodology: Determination of

total antioxidant activity in fruits by the iron reduction method (FRAP). **Technical Announcement. Brazilian Agricultural Research Corporation**, 2006, 4 p.

RUSELL, J. A.; RIEMATH, W. F. Método para fazer adesivo de biomassa. Patente dos EUA 4 508 886, EUA representada pelo Departamento de Energia dos Estados Unidos, 1985.

SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Quim. Nova**. v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.

SCHOLZE, B.; MEIER, D. Characterization of the water-insoluble fraction from pyrolysis oil (pyrolytic lignin). Part I. PY–GC/MS; FTIR; and functional groups. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 60, n. 1, p. 41-54, 2001.

SCHUBERT, W.J. The chemistry of Lignin. In: **Lignin Biochemistry**. Schubert, W.J. (Ed.). Academic Press, New York, 1965.

SCHULTZ, T. P.; NICHOLAS, D. D.; HENRY, W. P.; PITTMAN, J. R. C. U.; WIPF, D. O.; GOODELL, B. Review of the results of the efficacy of laboratory and external exposure of organic biocide: combinations of antioxidants. An initial analysis and discussion of a proposed mechanism. **Wood and Fiber Science**. v. 37, p. 175 – 184, 2005.

SHAFIZADEH, F.; FURNEAUX, R. H.; COCHRAN, T. G.; SCHOLL, J. P.; SAKAI, Y. Production of levoglucosan and glucose from pyrolysis of cellulosic materials. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 23, p. 3525–3539, 1979.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical reviews in food science & nutrition**. v.32, p. 67-103, 1992.

SHEN, R. Q.; DING, X.; HE, Q. F.; CONG, Z. Y.; WANG, X. M. Seasonal variation of secondary organic aerosol tracers in Central Tibetan Plateau. **Atmospheric Chemistry and Physics**. v. 15, n. 15, p. 8781-8793, 2015.

SHRIVASTAVA, S.; BERA, T.; ROY, A; SINGH, G.; RAMACHANDRARAO, P.; DASH, D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. **Nanotechnology**. v. 18, p. 225103, 2007.

SILVA, G. D. A.; MAGALHÃES, W. L. E.; MATOS, M. D. Definição das melhores condições para a obtenção da lignina pirolítica a partir do bio-óleo. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 17. 2018. Colombo. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2018.

SOARES, S. E. Phenolic acids as antioxidants. **Nutrition magazine**. v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SEMELSBERGER, T. A.; BORUP, R. L.; GREENE, H. L. Dimethyl ether (DME) as an alternative fuel. **Journal of power sources**, v. 156, p. 497-511, 2006.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. Os constituintes fenólicos de *Prunus domestica*. I. — A análise quantitativa dos constituintes fenólicos. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 10, p. 63-68, 1959.

STAŠ, M.; AUERSVALD, M.; KEJLA, L.; VRTIŠKA, D.; KROUFEK, J.; KUBIČKA, D. Quantitative analysis of pyrolysis bio-oils: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**. v. 126, p. 115857, 2020.

STANFORD, J. P.; HALL, P. H.; ROVER, M. R.; SMITH, R. G.; BROWN, R. C. Separation of sugars and phenolics from the heavy fraction of bio-oil using polymeric resin adsorbents. **Separation and Purification Technology**. v. 194, p. 170-180, 2018.

STEFANIDIS, S. D.; KALOGIANNIS, K. G.; ILIOPOULOU, E. F.; MICHAILOF, C. M.; PILAVACHI, P. A.; LAPPAS, A. A. A study of lignocellulosic biomass pyrolysis via the pyrolysis of cellulose, hemicellulose and lignin. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 105, p.143–150, 2014.

THEAPPARAT, Y.; LEELASUPHAKUL, W. Pyroligneous acids from carbonisation of wood and bamboo: their components and antifungal activity. **Journal of Tropical Forest Science**. v. 27, p. 517-527, 2015.

TRAORÉ, M.; KAAL, J.; MARTÍNEZ, A. Potential of pyrolysis-GC-MS molecular fingerprint as a proxy of Modern Age Iberian shipwreck wood preservation. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 126, p. 1-13, 2017.

TSUCHIDA, T.; KUBOA, J.; YOSHIOKA, T.; SAKUMA, S.; TAKEGUCHI, T.; UEDA, W. Reaction of ethanol over hydroxyapatite affected by Ca/P ratio of catalyst. **Journal of Catalysis**. v. 259, p. 183-189, 2008.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**. v. 11, n. 3, p. 463-471, 1963.

VAN PUTTEN, R.-J.; VAN DER WAAL, J. C.; DE JONG, E.; RASRENDRA, C. B.; HEERES, H. J.; DE VRIES, J. G. Hydroxymethylfurfural, A Versatile Platform Chemical Made from Renewable Resources. **Chemical Reviews**. v. 13, p. 1499-1597, 2013.

VISPUTE, T. P.; HUBER, G. W. Production of hydrogen, alkanes and polyols by aqueous phase processing of wood-derived pyrolysis oils. **Green Chemistry**. v. 11, n. 9, p. 1433–1445, 2009.

VITASARI, C. R.; MEINDERSMA, G. W.; DE HAAN, A.B. Water extraction of pyrolysis oil: The first step for the recovery of renewable chemicals. **Bioresource Technology**. v. 102, p. 7204–7210, 2011.

VIVIAN, M. A. **Resistência biológica da madeira tratada de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus cloeziana* em ensaio de laboratório e campo**. 2011, 105 p. Dissertação. (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

WANG, J.; WEI, Q.; ZHENG, J.; ZHU, M. Effect of pyrolysis conditions on the yield of levoglucosan from cotton straw and optimization of levoglucosan extraction from bio-oil. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 122, p. 294–303, 2016.

WANG, J.; YOU, S.; LU, Z.; CHEN, R.; XU, F. Life cycle assessment of the production of bio-based levoglucosan from cotton straw using rapid pyrolysis. **Bioresource Technology**. v. 307, p. 123179, 2020.

WANG, S.; GU, Y.; LIU, Q.; YAO, Y.; GUO, Z.; LUO, Z.; CEN, K. Separation of bio-oil by molecular distillation. **Fuel Processing Technology**, v. 90, p. 738-745, 2009.

WANG, S. Y.; CHEN, P. F.; CHANG, S. T. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. **Bioresource technology**, v. 96, p. 813-818, 2005.

WANG, S.; WANG, Y.; LENG, F.; CHEN, J.; QIU, K.; ZHOU, J. Separation and enrichment of catechol and sugars from bio-oil aqueous phase. **BioResources**. v.11, p. 1707-1720, 2016.

WEI, Q.; MA, X.; ZHAO, Z.; ZHANG, S.; LIU, S. Antioxidant activities and chemical profiles of pyrolytic acids from walnut shell. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. v. 88, p. 149–154, 2010.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **J Agric Food Chem**. v. 51, p. 609-614, 2003.

YANG, J. F.; YANG, C. H.; LIANG, M. T.; GAO, Z. J.; WU, Y. W.; CHUANG, L. Y. Chemical Composition, Antioxidant, and Antibacterial Activity of Wood Vinegar from *Litchi chinensis*. **Molecules**. v. 21, p. 1-10, 2016.

YANG, H. M.; ZHAO, W.; NORINAGA, K.; FANG, J. J.; WANG, Y. G.; ZONG, Z. M.; WEI, X. Y. Separation of phenols and ketones from bio-oil produced from ethanolysis of wheat stalk. **Separation and Purification Technology**. v. 152, p. 238-245, 2015.

YU, F.; DENG, S.; CHEN, P.; LIU, Y.; WAN, Y.; OLSON, A.; KITTELSON, D.; RUAN, R. Physical and Chemical Properties of Bio-oils from Microwave Pyrolysis of Corn Stover. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. v. 137–140 (1–12), p. 957–970, 2007.

ZHANG, M.; WU, H. Pyrolytic lignin from fast pyrolysis bio-oil via cold-water precipitation: Optimal separation conditions and properties. **Fuel**. v. 242, p. 580–586, 2019.

ZHANG, X.; MA, H.; WU, S.; JIANG, W.; WEI, W.; LEI, M. Fractionation of pyrolysis oil derived from lignin through a simple water extraction method. **Fuel**. v. 242, p. 587–595, 2019.

ZILNIK, L. F.; JAZBINSEK, A. Recovery of renewable phenolic fraction from pyrolysis oil. **Separation and Purification Technology**. v. 86, p. 157-170, 2012.

APÊNDICE 1

DADOS SUPLEMENTARES 3: COMPOSTOS QUÍMICOS DETECTADOS POR CG-EM EM ENVELHECIMENTO ACELERADO DURANTE 9 DIAS.

Classe Química	Compostos	FAsc	DCM	ACOET	HEX	FA D	HEX D	DCM D	ACOET D
Ácido Carboxílicos	Ácido 3-propoxibenzóico (Isômero 1)	-	-	-	-	-	-	16.545	16.919
	Ácido 3-propoxibenzóico (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	16.917	-
Alcanos	5- (3-hidroxipropil) -2;3-dimetoxifenol	20.872	20.865	14.870	-	14.876	-	-	-
Álcoois	4- (1-hidroxialil) -2-metoxifenol	17.397	17.395	17.395	-	17.397	-	-	-
	2-pentanol; 4-metil-	-	-	-	4.240	-	4.240	-	-
	Tetracontano	-	-	-	-	-	28.001	-	-
Aldeídos	3;5-Dimetoxi-4-hidroxicinamaldeído	21.811	21.808	-	-	21.811	-	22.256	22.258
	5-hidroximetilfurfural	12.632	-	12.632	-	12.632	-	-	-
	Benzaldeído; 3-hidroxi-	13.862	-	-	-	-	-	-	-
	Coniferil aldeído	19.268	19.267	19.266	19.265	19.268	-	-	-
	Furfural	4.985	5.001	5.009	-	4.985	-	-	-
	Vanilina	-	15.173	15.173	15.172	15.173	-	-	-
Anidro Açúcares	.beta.-D-Glucopiranoose; 1;6-anidro-	16.553	-	-	-	16.553	-	-	-
	1;4; 3;6-Dianidro-.alpha.-d-glucopiranoose	12.510	-	-	-	12.510	-	-	-
	1;6-anidro-alfa-d-galactofuranose	17.607	-	-	-	-	-	-	-
	2;3-anidro-d-manosano	12.740	-	-	-	12.740	-	-	-
Cetonas	2-propanona; 1- (4-hidroxi-3-metoxifenil) -	16.824	16.822	16.822	16.815	16.824	-	-	-
	3-metoxiacetofenona	13.990	-	-	-	13.990	-	-	-
	5-hidroximetildi-hidrofuran-2-ona	12.038	-	-	-	-	-	-	-
	Apocinina	16.311	16.307	16.308	16.304	16.311	-	-	-
	Butirovanilona	17.517	17.513	17.513	-	-	-	-	-
	Desaspidinol	19.556	19.555	19.554	19.547	19.556	-	20.474	-
	Etanona; 1- (3-hidroxifenil) -	15.085	15.086	15.085	-	15.085	-	-	-
	4-acetoxi-3-metoxiacetofenona	-	-	-	-	-	17.929	17.925	17.928
	2'; 4'-Dihidroxi-3'-metilpropiofenona	-	-	-	-	-	19.028	-	19.027
	Propan-2-ona; 1- (4-isopropoxi-3-metoxifenil) -	-	-	-	-	-	10.312	18.635	18.637
1-Pentanona; 1- (4-hidroxifenil) -	-	-	-	-	-	-	15.925	15.925	

	4'-fenilpropiofenona	-	-	-	-	-	-	20.807	20.810
	6-syn- (1-Hidroxi-1-metilalil) -3;3-dimetilbicyclo [2.2.2] octan-2-ona	-	-	-	-	-	-	18.155	-
	Etanona; 1- [3- (acetiloxi) fenil] -	-	-	-	-	-	-	15.651	15.650
	Aspidinol	-	-	-	-	-	-	20.572	20.574
	Etanona; 1- (4-hidroxi-3;5-dimetoxifenil) - (Isômero 1)	19.188	19.189	19.187	19.184	19.188	-	-	-
	Etanona; 1- (4-hidroxi-3;5-dimetoxifenil) - (Isômero 2)	-	-	-	20.186	-	-	-	-
	Acetato de 2- (terc-butil) -4-metoxifenil	17.252	17.250	-	-	17.252	-	-	-
	Ácido 2-propenóico; 3- (4-hidroxi-3-metoxifenil) -; éster metílico	20.378	-	-	20.380	20.378	-	-	-
	4-acetoxibenzaldeído	14.590	-	-	-	14.590	-	14.510	14.511
	Ácido butanóico; 1-metilpropil éster	13.220	-	-	-	13.220	-	-	-
	Ácido butanoico; 2-etil-2-metil-; éster metílico	9.606	-	-	-	-	-	-	-
	Ácido succínico; éster but-3-in-2-il etílico	12.842	-	-	-	-	-	-	-
	Isovalerato de 6-metoxyeugenil	-	-	-	-	-	19.230	19.226	19.229
	Ácido 1;2-benzenodicarboxílico; bis (2-metilpropil) éster	-	-	20.610	20.606	-	20.610	-	-
	Ácido 2-butenóico; 3-metil-; éster metílico	-	-	-	-	-	15.145	-	-
Ésteres	Benzeno; 1-acetoxi-2;3-dimetoxi-5- (2-propenil) -	-	-	-	-	-	13.658	19.901	19.903
	Ácido benzóico; 4- (acetiloxi) -3-metoxi-; éster metílico	-	-	-	-	-	13.286	-	-
	Ácido butanóico; 2-hidroxi-2-metil-; éster metílico	-	-	-	-	-	12.171	-	-
	Fenol; 2;6-dimetoxi-; acetato (Isômero 1)	-	-	-	-	-	11.428	16.007	16.010
	Fenol; 2;6-dimetoxi-; acetato (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	18.349	18.350
	Fenol; 2-metoxi-4- (1-propenil) -; acetato	-	-	-	-	-	11.056	17.796	17.798
	Fenol; 4- (2-propenil) -; acetato (Isômero 1)	-	-	-	14.372	-	10.684	15.536	15.536
	Fenol; 4- (2-propenil) -; acetato (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	14.397	-
	Vanilina; acetato	-	-	-	-	-	16.765	16.762	-
	1;2-benzenediol; diacetato	-	-	-	-	-	-	14.747	14.753

2;5-Diidroxiacetofenona; diacetato	-	-	-	-	-	-	17.866	17.869
2-metoxi-5-metilfenol; acetato (Isômero 1)	-	-	-	-	-	-	14.585	14.587
2-metoxi-5-metilfenol; acetato (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	16.605	16.607
3-Metilcatecol; diacetato	-	-	-	-	-	-	16.081	16.085
4-alil-1;2-diacetoxibenzeno (Isômero 1)	-	-	-	-	-	-	18.071	18.073
4-alil-1;2-diacetoxibenzeno (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	19.584	19.587
4-alil-1;2-diacetoxibenzeno (Isômero 3)	-	-	-	-	-	-	18.464	-
Acetato de 4-etilfenila	-	-	-	-	-	-	13.211	13.213
Acetato de 4-terc-butilfenil	-	-	-	-	-	-	16.855	-
Ácido acético; 2-metilfenil éster	-	-	-	-	-	-	11.167	11.167
Ácido acético; 4-metilfenil éster (Isômero 1)	-	-	-	-	-	-	11.641	11.643
Ácido acético; 4-metilfenil éster (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	11.737	11.738
Ácido acético; éster fenílico	-	-	-	-	-	-	9.862	9.862
Alanina; N-metil-n-propargiloxicarbonil-; hexil éster	-	-	-	-	-	-	17.294	-
Ácido benzenopropanóico; 4-(acetiloxi) -; éster metílico	-	-	-	-	-	-	18.487	18.485
Fenol; 2-metoxi-; acetato	-	-	-	-	-	-	13.143	13.145
Fenol; 3;4-dimetil-; acetato	-	-	-	-	-	-	12.842	-
3-hidroxi-4-metoxibenzaldeído; acetato	-	-	-	-	-	-	-	16.764
Éster benzo [1;2;5] tiadiazol-5-il do ácido acético	-	-	-	-	-	-	-	18.155
1;4-benzenediol; diacetato	-	-	-	-	-	-	-	15.747
2;5-diacetoxitolueno	-	-	-	-	-	-	-	16.650
Ácido benzóico; 4-hidroxi-3-metoxi-; éster metílico	-	-	-	-	-	-	-	18.287
Éteres								
Benzofurano; 2;3-dihidro-	12.536	12.539	12.538	-	-	12.536	-	-
1;3-dioxano	-	-	-	-	-	-	6.707	-
Butano; 2-metoxi-2;3;3-trimetil-	-	-	-	-	-	-	12.543	-
Octacosano	-	-	-	-	-	-	11.799	-
4-metoxi-2-metil-1- (metiltio) benzeno (Isômero 1)	-	-	-	-	-	-	19.170	17.141
4-metoxi-2-metil-1- (metiltio) benzeno (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	-	19.171
Benzeno; 1;2;3-trimetoxi-5-metil-	-	-	-	-	-	-	14.030	18.007 18.010

	(E) -2;6-Dimetoxi-4- (prop-1-en-1-il) fenol (Isômero 1)	18.867	18.867	18.867	18.258	18.867	-	-	-
	(E) -2;6-Dimetoxi-4- (prop-1-en-1-il) fenol (Isômero 2)	-	-	-	18.864	-	-	-	-
	1;2-benzenediol; 3-methoxy-	13.162	13.160	13.159	-	13.162	-	-	-
	1;2-benzenodiol; 3-metil-	13.119	13.117	13.115	-	13.119	-	-	-
	1;2-benzenodiol; 4-metil-	13.552	13.550	13.549	-	13.552	-	-	-
	1;4-benzenediol; 2-metil-	14.356		14.354	-	14.356	-	-	-
	3;5-Dimetoxi-4-hidroxitolueno (Isômero 1)	15.750	15.751	15.753	15.745	15.750	15.750	17.139	-
	3;5-Dimetoxi-4-hidroxitolueno (Isômero 2)	-	-	-	-	-	17.141	-	-
	4-etilcatecol	14.876	14.873	14.870	-	14.876	-	-	-
	5-terc-butilpirogolol	16.742	16.740	16.740	16.735	16.742	-	-	-
	Catecol	12.116	-	12.111	-	12.116	-	-	-
Fenois	Hidroquinona	13.298	-	13.292	-	13.298	-	-	-
	Fenol; 2;6-dimetoxi-	14.473	14.475	14.477	14.466	14.473	-	14.470	14.470
	Fenol; 2;6-dimetoxi-4- (2-propenil) - (Isômero 1)	17.674	17.674	17.672	17.669	17.674	18.815	18.810	18.814
	Fenol; 2;6-dimetoxi-4- (2-propenil) - (Isômero 2)	18.263	18.261	18.261	-	18.263	17.674	-	-
	Fenol; 2-metoxi-6- (1-propenil) -	15.283	-	-	-	15.283	-	-	-
	trans-Isoeugenol (Isômero 1)	15.866	15.283	15.865	15.281	15.866	-	-	-
	trans-Isoeugenol (Isômero 2)	-	15.867	15.282	15.862	-	-	-	-
	Eugenol (Isômero 1)	-	14.582	14.582	-	-	-	16.673	16.675
	Eugenol (Isômero 2)	-	-	-	-	-	-	21.184	-
	Fenol; 4;4'-metilenobis [2;6-dimetoxi-	-	-	-	-	-	-	29.110	-
	1;4-benzenediol; 2-metoxi-; diacetato	-	-	-	-	-	-	-	17.296
	Fenol; 3;5-dimetil-	-	-	-	-	-	-	-	12.842
	Benzaldeído; 4-hidroxi-3;5-dimetoxi-	18.370	18.369	18.369	18.367	18.370	-	-	-
	Oxazolidina; 2;2-dietil-3-metil-	8.729	-	-	-	8.729	-	-	-
Nitrogenados	Ácido benzóico; 4-hidroxi-3;5-dimetoxi-; hidrazida	-	-	-	-	-	12.915	20.264	-

APÊNDICE 2

DADOS SUPLEMENTARES 2: COMPOSTOS QUÍMICOS DETECTADOS POR CG-EM EM ENVELHECIMENTO ACELERADO DURANTE 9 DIAS.

Grupos Químicos	Compostos Químicos	1º dia			4º dia			9º dia		
		50	70	100	50	70	100	50	70	100
		%área	%área	%área	%área	%área	%área	%área	%área	%área
Ácidos Carboxílicos	9;12-Octadecadienoic acid (Z;Z)- isomero 2	14;03	0;46	13;41	-	-	-	-	-	-
	9;12-Octadecadienoic acid (Z;Z)- isomero 1	0;23	22;17	0;3	-	-	-	-	-	-
	DL-Threonine; N-glycyl-Heptanoic acid	-	-	-	0;27	0;33	0;34	0;27	0;32	0;33
	Hexanoic acid; 4-methyl-n-Hexadecanoic acid	-	-	-	-	-	0;4	-	0;32	-
	Cis-10-nonadecenoic acid	-	-	-	-	0;38	-	0;44	-	-
	2-pentanone; 4-hydroxy-4-methyl-	0;89	0;96	0;46	-	-	-	-	-	-
	Ethanone; 1-(4-hydroxy-3;5-dimethoxyphenyl)-	10;91	-	12;21	-	-	-	-	-	-
		2;11	-	4;01	-	-	7;02	-	4;51	6;6
Alcanos	5-(3-Hydroxypropyl)-2;3-dimethoxyphenol	1;62	0;88	1;52	2;97	3;02	3;09	3;08	2;93	3;12
	Benzenepropanol; 4-hydroxy-3-methoxy-	0;26	0;14	0;23	0;56	0;58	0;52	0;55	0;58	0;57
Álcoois	4-(1-Hydroxyallyl)-2-methoxyphenol	-	-	-	-	-	1;02	1;08	0;95	0;79
	3;5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde	-	-	-	0;24	0;31	0;2	0;32	0;29	0;19
Aldeídos	5-hydroxymethylfurfural	0;48	0;3	0;41	0;76	0;83	0;76	0;65	0;75	0;76
	7;11-Hexadecadienal	0;23	0;15	0;23	0;48	0;5	0;51	0;46	0;52	0;49
	Benzaldehyde; 4-hydroxy-3;5-dimethoxy-	-	0;37	-	-	-	-	-	-	-
	Coniferyl aldehyde	1;74	1;01	1;64	3;07	3;32	3;4	3;18	3;22	3;45
	4-hydroxy-2-methoxycinnamaldehyde	0;43	0;28	0;4	0;74		0;95	0;63	0;69	-
		-	-	-	-	0;65	-	-	-	0;68

	Benzaldehyde; 3-hydroxy-	-	-	-	-	-	0;19	0;12	-	-
	Furfural	0;23	0;11	0;17	0;22	0;3	0;21	0;16	0;17	0;15
	Vanillin	0;98	0;52	0;86	1;87	1;95	1;83	1;78	2;04	1;99
	Vanillin	-	-	-	-	1;87	1;87	-	-	-
Nitrogenados	1;3;2-oxazaborolane; 2-butyl-	-	-	-	-	0;25	-	-	-	-
	1;3-Propanediamine; N;N;N';N'-tetramethyl-	-	-	-	0;28	-	-	0;23	-	-
	Oxazolidine; 2;2-diethyl-3-methyl-	0;19	-	0;15	-	-	-	-	-	-
Anidro Açúcares	1;4;3;6-Dianhydro-.alpha.-d-glucopyranose	-	0;27	0;42	-	-	0;94	-	-	1;14
	1;6-Anhydro-.alpha.-d-galactofuranose	-	-	0;62	-	-	-	-	-	1;52
	1;6-Anhydro-.beta.-d-talopyranose	0;2	-	0;2	0;51	-	-	0;52	-	-
	2;3-Anhydro-d-galactosan	-	-	0;22	-	-	-	-	-	-
	2;3-Anhydro-d-mannosan	0;43	0;22	0;34	0;66	0;63	0;63	0;66	0;68	0;63
	alpha.-D-Glucopyranose; 4-O-.beta.-D-galactopyranosyl-	1;17	0;29	-	0;92	1;61	1;38	1;32	1;84	-
	alpha.-D-Glucopyranose; 4-O-.beta.-D-galactopyranosyl-	0;43	-	-	-	1;02	-	1;72	1;27	-
	beta.-D-Glucopyranose; 1;6-anhydro-	17;01	8;97	13;92	24;78	28;72	29;29	0;37	29;1	31;8
	beta.-D-Glucopyranose; 1;6-anhydro-	-	-	-	-	-	0;28	32;63	-	-
Polygalitol	-	-	-	-	-	0;4	-	-	0;46	
Cetonas	Ethanone; 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-	0;27	0;13	0;29	0;41	-	-	-	-	-
	2-Propanone; 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	0;83	0;43	-	1;57	-	-	1;48	1;34	-
	Apocynin	0;79	0;41	0;8	1;35	1;39	1;9	1;38	1;34	1;73
	4-methyl-5H-furan-2-one	0;21	-	-	0;29	0;2	-	0;24	0;28	0;24
	5-Hydroxymethyldihydrofuran-2-one	0;37	-	0;39	0;61	-	-	-	0;81	-

	Butyrovanihone	0;28	-	-	0;4	-	0;39	-	-	0;31
	Desaspidinol	1;63	0;98	1;53	3;1	3;07	2;96	3;13	2;71	2;65
	Ethanone; 1-(3-hydroxyphenyl)-	-	-	-	-	0;1	-	-	0;25	0;09
	Maltol	-	-	-	0;21	0;22	0;23	0;17	0;25	0;21
	Propan-2-one; 1-(4-isopropoxy-3-methoxyphenyl)-	-	-	0;59	-	1;44	1;17	-	-	1;09
	(S)-(+)-2';3'-Dideoxyribonolactone	-	0;26	-	-	0;78	0;8	0;75	-	0;82
	9;17-Octadecadienal; (Z)-	-	0;12	-	-	-	-	-	-	-
	4-acetoxybenzaldehyde	0;77	0;42	0;7	1;33	1;47	1;08	1;5	1;56	1;55
	Butyl 9;12-octadecadienoate	-	-	0;18	-	-	-	-	-	-
	Glycidyl palmitate	0;37	0;72	0;33	-	-	-	-	-	-
	N-propyl 9;12-octadecadienoate	4;22	3;92	5;74	-	-	-	-	-	-
	2-(tert-Butyl)-4-methoxyphenyl acetate	-	-	-	0;31	0;17	0;19	0;27	0;26	0;17
	Acetyl Eugenol	-	-	0;16	-	-	-	-	-	-
	6;9-Octadecadienoic acid; methyl ester	0;22	-	0;27	-	-	-	-	-	-
	Ethylene glycol di-n-butyrate	-	-	-	0;2	-	-	-	-	-
Ésteres	Pentanoic acid; 2;2-dimethyl-; ethyl ester	-	-	-	-	-	0;24	-	-	-
	Succinic acid; but-3-yn-2-yl ethyl ester	0;19	-	0;16	0;35	0;3	0;25	0;23	0;27	-
	Succinic acid; but-3-yn-2-yl ethyl ester	-	-	-	-	0;35	-	-	-	-
	Butanoic acid; 1-methylpropyl ester	0;23	-	-	0;26	-	-	-	-	-
	2-Propenoic acid; 2-methyl-; octyl ester	-	-	-	-	-	0;16	-	-	0;17
	2-Propenoic acid; 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-; methyl ester	-	-	-	0;1	-	-	-	0;08	-
	Glycidyl oleate	-	-	3;87	-	-	-	-	-	-

	Isopropyl linoleate	-	0;38	0;71	-	-	-	-	-	-
	Phenol; 2-methoxy-4-(1-propenyl)-; acetate	-	-	-	-	0;39	-	-	-	-
	2;4-Hexadienedioic acid; 3;4-diethyl-; dimethyl ester; (Z;Z)-	-	-	-	0;66	-	-	-	-	-
	9;12-Octadecadienoic acid (Z;Z)-; methyl ester	-	0;18	-	-	-	-	-	-	-
	Butanoic acid; 1-methylbutyl ester	-	-	-	-	0;17	0;17	-	-	-
	Hexadecanoic acid; 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	-	-	-	-	0;33	-	-	-	-
	Methyl 5;11;14-eicosatrienoate	-	12;82	7;52	-	-	-	-	-	-
	Butanoic acid; 2-ethyl-2-methyl-; methyl ester	-	-	-	-	-	-	-	0;32	-
Éteres	Benzofuran; 2;3-dihydro-	-	0;29	0;48	-	-	0;68	-	-	0;54
	Benzene; 1;2;3-trimethoxy-5-methyl-	-	-	-	-	-	1;74	1;89	0	1;68
	5-tert-Butylpyrogallol	-	0;65	0;95	-	-	-	-	-	-
Fenois	(E)-2;6-Dimethoxy-4-(prop-1-en-1-yl)phenol	0;68	-	-	1;08	1;16	0;77	0;8	0;37	0;25
	1;2-benzenediol; 4-methyl-	0;67	0;36	0;56	1;45	1;15	1;36	0;99	1;07	1
	1;2-benzenediol; 4-methyl-	-	-	-	-	-	-	-	1;62	-
	1;4-benzenediol; 2-methyl-	0;38	0;2	0;32	0;68	0;73	0;69	0;75	0;72	0;59
	3;5-dimethoxy-4-hydroxytoluene	3;11	1;8	2;53	5;48	5;63	4;27	4;93	5;3	4;27
	4-ethylcatechol	0;55	0;5	-	0;95	1;2	-	-	-	-
	Catechol	2;31	1;28	1;94	3;75	4;03	3;8	3;82	4;19	3;91
	Hydroquinone	0;51	0;25	0;39	1;02	0;93	0;82	1;03	1;08	0;93
	Phenol; 2;6-dimethoxy-	4;61	2;66	3;9	7;56	7;32	6;84	6;97	6;98	6;45
	Phenol; 2;6-dimethoxy-	-	-	-	-	7;56	-	-	-	-
	Phenol; 2;6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	1;24	0;4	0;54	2;36	2;36	1;86	2;1	1;97	1;81

Phenol; 4;4'- methylenebis[2;6-dimethoxy-	-	-	0;19	-	-	-	-	-	-
trans-Isoeugenol	-	-	-	-	-	-	-	0;39	-
1;2-benzenediol; 3-methoxy-	0;81	0;49	0;74	1;4	1;46	1;47	1;36	1;44	1;34
1;2-benzenediol; 3-methyl-	0;7	0;28	0;43	1;06	1;08	0;87	-	1;1	0;84

APÊNDICE 3

DADOS SUPLEMENTARES 3: COMPOSTOS QUÍMICOS DETECTADOS POR CG-EM EM ENVELHECIMENTO ACELERADO DURANTE 43 DIAS.

Grupos Químicos	Compostos Químicos	07/nov		06/dez		19/dez	
		tr	%area	tr	%area	tr	%area
Ácido Carboxílico	Ácido dodecanóico	16.896	0,68	–	–	–	–
	Ácido octadecanóico	23.188	0,38	–	–	23.179	0,98
	Ácido pentadecanóico	20.251	0,26	–	–	20.233	0,17
Aldeído	Coniferil aldeído	18.960	0,63	18.960	0,58	18.945	0,33
	Furfural	4.656	0,43	4.664	0,12	–	–
	3,5-Dimetoxi-4-hidroxicinamaldeído	21.499	0,45	21.500	0,51	–	–
	5-hidroximetilfurfural	12.366	–	12.355	–	12.338	–
	Vanilina	14.876	2,10	14.877	2,32	14.862	1,75
Anidro Açúcar	1,4: 3,6-Dianidro-.alpha.-d-glucopirranose	12.235	0,82	12.220	1,13	12.204	0,88
	1,6-anidro-.beta.-d-talopirranose	–	–	14.655	0,29	–	–
	2,3-anidro-d-manosano	12.450	1,01	12.446	0,87	12.430	0,65
	3,4-anidro-d-galactosano	12.385	0,95	12.385	0,36	12.368	0,41
	alfa.-D-Glucopirranose, 4-O-.beta.-D-galactopiranosil-	17.323	0,54	17.318	0,82	17.299	0,49
	beta.-D-glucopirranose	16.394	23,65	–	–	–	–
	beta.-D-Glucopirranose, 1,6-anidro-	–	–	16.362	37,89	16.326	23,69
Cetona	4-metil-5H-furan-2-ona	9.201	0,44	9.207	0,27	9.184	0,39
	1- (2-hidroxi-4-metoxifenil) propan-1-ona	–	–	–	–	17.202	0,12
	2-pentanona, 4-hidroxi-4-metil-	–	–	4.867	6,25	–	–
	2-propanona, 1- (4-hidroxi-3-metoxifenil)	–	–	16.527	1,43	16.511	0,54
	3', 5'-Dimetoxiacetofenona	16.954	0,27	–	–	–	–
	5-hidroximetildi-hidrofuran-2-ona	–	–	11.761	0,68	11.745	0,65
	Butirovanilona	17.216	0,25	–	0,00	17.220	0,12
	Desaspidinol	19.253	3,21	19.253	1,68	19.239	0,76
	Etanona, 1- (4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)	–	–	–	–	–	–
	-	18.885	2,28	18.887	3,19	18.871	1,96
	Etanona, 1- (3-hidroxifenil) -	14.804	0,16	14.801	0,23	14.780	0,15
	Maltol	10.499	0,26	10.496	0,19	10.477	0,20
	Propan-2-ona, 1- (4-isopropoxi-3-metoxifenil) -	16.525	1,97	–	–	–	–
trans-sinapaldeído	–	–	–	–	21.485	0,15	
Éster	4-acetoxibenzaldeído	14.312	1,17	14.305	1,55	14.292	1,02
	Benzofurano, 2,3-dihidro-	12.252	1,20	12.252	0,81	12.237	0,78
	Ácido butanoico, 2-etil-2-metil-, éster metílico	–	–	–	–	9.293	0,34
	Ácido pentanoico, 2,2-dimetil-, éster etílico	–	–	9.311	0,34	–	–
	Ácido succínico, éster but-3-in-2-il etílico	12.563	0,31	12.561	0,23	12.544	0,17
Fenol	(E) -2,6-Dimetoxi-4- (prop-1-en-1-il) fenol	18.566	1,31	18.567	0,21	18.554	0,29
	1,4-benzenediol, 2-metil-	14.083	0,57	–	–	–	–
	Apocinina	16.009	1,30	16.009	1,20	15.995	0,99

	1,2-benzenediol, 3-methoxy- 5-terc-butilpirogolol	12.889	0,50	12.867	0,27	–	–
	Acetil eugenol; trans-isoeugenol	15.567	0,36	–	–	16.431	0,97
	Catecol	11.849	0,86	11.834	2,86	11.823	1,70
	Hidroquinona	13.040	1,26	13.026	0,96	13.013	0,34
	p-Cresol	–	0,00	9.855	0,10	–	–
	Fenol, 2,6-dimetoxi	14.184	8,88	14.183	6,60	14.169	5,16
	Fenol, 2,6-dimetoxi-4- (2-propenil) - (isômero1)	17.377	1,93	17.377	1,86	–	–
	Fenol, 2,6-dimetoxi-4- (2-propenil) - (isômero2)	17.963	1,00	–	–	–	–
	Fenol, 2-metoxi-	10.094	0,10	10.096	0,23	–	–
	Fenol, 4-etil-2-metoxi-			13.163	0,24		
	1,3-pentanodiamina	9.317	0,33	–	–	–	–
Nitrogenado	2,4-Imidazolidinediona, 1-metil-	–	–	–	–	8.413	0,15
	Ácido benzóico, 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-, hidrazida	–	–	–	–	19.288	0,21

APÊNDICE 4

DADOS SUPLEMENTARES 4: COMPOSTOS QUÍMICOS DETECTADOS POR CG-EM.

CLASSE QUÍMICA	COMPOSTOS	1:50	1:70	1:100
		tr	tr	tr
Carboidratos	Ácido succínico	10.4127	10.4182	10.4177
	1;2 - dihidroxibenzeno (catecol)	10.4446	10.4499	10.4494
	ácido metil - butanodioico	106.033	10.6112	10.6117
	Ácido glutárico	11.9317	.	.
	Ácido 2;4 - dihidroxibutanoico	12.0125	.	12.0172
	Ácido 3;4 - dihidroxi - butanoico	12.3448	12.3477	12.3469
	3;5 - dihidroxihexan - 2 - um	13.4010	13.4055	13.4037
	2 - hidroxí - ácido glutárico	14.5612	-	14.4482
	XYLOSE (MEOX / TMS)	15.5879	15.5870	15.5870
	3 xilose (MEOX / TMS)	15.7104	-	-
	Arabinose (MEOX / TMS)	-	15.8081	15.8085
	Ácido 3 - desoxi - 2;4;5 - trihidroxí - pentônico	15.8706	-	-
	1;6-anidro - D - galactopiranosé	16.1117	16.1120	16.1109
	2 - C - (hidroximetil) - 3 - desoxi - D - treó - pentono-1;4-lactona (β - ácido isossacarínico-1;4-lactona)	-	-	16.1939
	1;6 - anidro - b - D - glucopiranosé (levoglucosano - 3TMS)	16.3723	16.3661	16.3931
	xilitol	16.6175	-	-
	1;6 - anidro - b - D - glucofuranosé	16.8977	16.8985	16.8969
	desoxiglicose	18.4091	18.4068	18.4094
	GLICOSE (MEOX / TMS)	18.9667	18.9602	18.9646
	2 - ácido hidroxipropanóico (ácido láctico)	5.9847	5.9955	5.9849
	ácido hidroxiacético (ácido glicólico)	6.2687	6.2790	6.2862
	ácido α - hidroxiiisobutírico	7.1316	7.1311	7.1466
	Ácido oxálico	7.2383	7.2464	-
	ácido furano-2-carboxílico	7.3148	7.3163	-
	3 - ácido hidroxipropanóico	7.4608	7.4714	7.4763
	Ácido 4-hidroxibutanoico (GHB)	9.0748	-	-
Ácido levulínico (MEOX / TMS)	9.2262	9.2357	9.2365	
Ligninas	Vanillyl acetona	16.6279	16.6620	-
	4-hidroxifeniletanol	12.7843	12.7870	12.7862
	C1 - guaiacol_I1	10.4684	-	-
	C2 - guaiacol	11.7508	-	-
	siringol	11.8533	11.8577	11.8569
	4-hidroxifeniletanol	12.7863	12.7870	12.7862
	4 - hidroxí - 3 - metoxi - fenol	13.1128	13.1146	13.1159
C1-Syringol	13.1452	13.1492	13.1498	

	4 - hidroxí - benzaldeído	13.3591	13.3592	-
	4 - hidroxí - benzaldeído (MO - TMS)	-	-	13.3617
	(Z) -Isoeugenol	13.7721	-	-
	C2-Syringol	14.1822	14.1836	14.1839
	Ácido 3 - hidroxibenzóico	14.4464	14.4489	14.4482
	(E) -Isoeugenol	14.5195	-	-
	4 - alilsiringol	15.2724	15.2721	15.2711
	4 - propilsiringol	15.3242	15.3258	15.3237
	Vanilina (MO - TMS)	15.6245	15.6246	15.6247
	4 - propenilsiringol (cis)	15.9674	15.9696	15.9651
	acetovanilona (MO - TMS)	16.6648	16.6621	16.6574
	ácido vanílico	-	17.2690	17.2682
	ácido homovanílico	17.3492	-	-
	Seringaldeído (MO - TMS)	17.7995	17.7990	17.7992
	álcool dihidroconiferílico	17.9878	17.9879	17.9880
	siringil acetona	18.4307	18.4328	18.4315
	siringil acetona (MO - TMS)	-	18.4328	18.4315
	acetoseringona	18.5362	-	-
	acetosiringona (MO - TMS)	-	18.5387	18.5388
	ácido seringico	19.0107	19.0159	19.0115
	ácido homosiringico	19.1011	19.1012	19.1009
	p - ácido cumarico	19.5693	19.5734	19.5734
	álcool dihidroinapílico	19.7162	19.7159	19.7148
	ácido ferúlico (trans)	21.4086	21.4090	21.4110
	guaiacol	8.9229	-	-
	C1 - dihidroxibenzeno_I1	11.6544	11.6603	.
	1;4 - dihidroxibenzeno (hidroquinona)	11.8792	11.8798	11.8800
Ligninas/carboidratos	fenol	5.9456	-	-
	C1 - fenol_I2	7.6391	-	-
	C2 - fenol_I5	9.1462	-	-
	C1 - dihidroxibenzeno_I2	11.8333	11.8334	11.8326
	Ácido glicérico	10.6492	10.6542	10.6560
Lipídios	Ácido palmítico	20.8878	20.8889	20.8888
	ácido esteárico	23.1516	23.1537	23.1515