UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CENTRO DE TECNOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Crisleine Perinazzo Draszewski

PRÉ-TRATAMENTO DE CASCA DE ARROZ UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS (CLC: GLICEROL E CLC: UREIA) E HIDRÓLISE SUBCRÍTICA VISANDO À OBTENÇÃO DE AÇÚCARES

> Santa Maria, RS 2021

Crisleine Perinazzo Draszewski

PRÉ-TRATAMENTO DE CASCA DE ARROZ UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS (CLC: GLICEROL E CLC: UREIA) E HIDRÓLISE SUBCRÍTICA VISANDO À OBTENÇÃO DE AÇÚCARES

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Desenvolvimento de Processos Industriais e Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química.**

Orientador: Prof. Dr. Flávio Dias Mayer

Draszewski, Crisleine PRÉ-TRATAMENTO DE CASCA DE ARROZ UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS (CLC: GLICEROL E CLC: UREIA) E HIDRÓLISE SUBCRÍTICA VISANDO À OBTENÇÃO DE AÇÚCARES / Crisleine Draszewski.- 2021. 71 p.; 30 cm

Orientador: Flávio Dias Mayer Coorientador: Giovani Leone Zabot Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, RS, 2021

1. Casca de arroz 2. Pré-tratamento 3. Solvente eutético 4. Hidrólise subcrítica I. Dias Mayer, Flávio II. Leone Zabot, Giovani III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728. Crisleine Perinazzo Draszewski

PRÉ-TRATAMENTO DE CASCA DE ARROZ UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS (CLC: GLICEROL E CLC: UREIA) E HIDRÓLISE SUBCRÍTICA VISANDO À OBTENÇÃO DE AÇÚCARES

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Desenvolvimento de Processos Industriais e Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química.**

Aprovado em 04 de maio de 2021: Flávio Dias Mayer, Dr. (UFSM) (Presidente/Orientador) Giovani Leone Zabot, Dr. (UFSM) (Coorientador) fernanda de Castilhos , Drª. (UFSM) Manda da Chuna Fernanda da Cunha Pereira, Drª. (UNIJUÍ)

Santa Maria, RS 2021

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Hilário Draszewski por ser minha motivação de seguir sempre em frente. Dedico também ao Ederson Rossi Abaide porque sem seu amor, apoio, dedicação e confiança eu não estaria aonde estou.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Hilário Draszewski, a minha mãe Lurdes Perinazzo e aos meus irmãos Claudicelia e Cleidisson pelo amor incondicional.

À minha segunda família Silvio João Abaide, Cecilia Margareth Rossi Abaide e Ederson Rossi Abaide por todo amor, apoio e dedicação para que eu realizasse este trabalho.

Ao meu orientador prof. Flávio Dias Mayer pela confiança e pela oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Ao meu co-orientador Giovani Leone Zabot por abrir as portas de sua estrutura e ser sempre solícito.

À prof^a. Fernanda de Castilhos pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e pela confiança em meu trabalho.

Ao aluno de iniciação científica Jefferson Fagundes por todo auxilio durante alguns experimentos;

À aluna de iniciação científica Vitória Zaniboni por ser sempre prestativa e pelo auxilio durante este trabalho.

À minha colega e grande amiga Carolina Almeida Bragato por toda ajuda e apoio durante todo este percurso.

Ao meu amigo e ex-colega Lauri Vilmar Krebs Júnior por todo apoio e amizade em todos estes anos.

Ao Marcos Mello por toda ajuda e palavras de apoio durante este percurso.

À todos o meu muito obrigada.

"A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido e não na vitória propriamente dita".

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

PRÉ-TRATAMENTO DE CASCA DE ARROZ UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS (CLC: GLICEROL E CLC: UREIA) E HIDRÓLISE SUBCRÍTICA VISANDO À OBTENÇÃO DE AÇÚCARES

AUTOR: Crisleine Perinazzo Draszewski ORIENTADOR: Prof. Dr. Flávio Dias Mayer

Nesta pesquisa a casca de arroz foi submetida a pré-tratamentos com solventes eutéticos com intuito de enriquecer o teor de celulose e reduzir os teores de lignina. Quatro misturas de solventes eutéticos foram avaliadas, Cloreto de Colina: Glicerol, Cloreto de Colina: Glicerol com água, Cloreto de Colina: Ureia e Cloreto de Colina: Ureia com água. Foi avaliado o aumento nos grupos funcionais relativos a celulose para os pré-tratamentos a temperatura de 120 °C com uma razão biomassa/solvente eutético de 10 em 1, 2, 4 e 6h utilizando espectrofotometria no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Para os pré-tratamentos com as 4 misturas de solventes eutéticos foi definido o melhor tempo a partir do FT-IR. A casca de arroz pré-tratada neste tempo foi analisada com relação a composição lignicelulósica por análise termogravimétrica e a derivada dos termogramas (DTG) gerados. A partir da integradação dos picos do DTG (em intervalos de tempos definidos pela literatura) foram determinados os teores de celulose, hemiceluloses e lignina, tanto nas amostras pré-tratadas como na in natura. O solvente eutético que gerou uma biomassa rica em celulose foi selecionado como melhor, e a biomassa proveniente do pré-tratamento com este foi utilizada na etapa posterior de hidrólise. A hidrólise subcrítica foi relizada em reator em modo de operação semi-continuo. Foram estudadas as variáveis do processo: (temperarura (200, 230 e 260 °C) e razão mássica água/sólidos (25 e 40). A pressão foi fixada a 15 MPa e o tempo de reação total foi de 10 min. O maior rendimento em acúcares redutores (49.9 ± 2.41 g/100 g biomassa) foi obitdo para as amostras de casca de arroz pré-tratada com Cloreto de Colina: Glicerol com água sob a condição de reação na etapa de hidrólise de 230 °C /R-40. Para a casca de arroz in natura o rendimento, na mesma condição, foi de 10.21 ± 0.41 g/100 g biomassa. A casca de arroz pré-tratada com solvente eutético aprentarou um rendimento de 4,9 vezes maior que a casca de arroz in natura.

Palavras-chave: Casca de arroz. Pré-Tratamento. Solvente Eutético Profundo. Hidrólise Subcrítica

ABSTRACT

PRETREATMENT OF RICE HUSK USING EUTHETIC SOLVENTS (CLC: GLICEROL AND CLC: UREA) AND SUBCRITICAL HYDROLYSIS AIMING TO OBTAIN SUGARS

AUTHOR: Crisleine Perinazzo Draszewski ADVISOR: Prof. Dr. Flávio Dias Mayer

In this research, the rice husks were submitted to pretreatments with deep eutectic solvents in order to enrich the cellulose content and reduce the lignin contents. Four mixtures of deep eutectic solvents were evaluated, Choline Chloride: Glycerol, Choline Chloride: Glycerol with water, Choline Chloride: Urea and Choline Chloride: Urea with water. At a temperature of 120 °C with a biomass/deep eutectic solvent ratio of 10, the increase in functional groups related to cellulose for pretreatments in 1, 2, 4 and 6h was evaluated using infrared spectrophotometry with Fourier transform (FT-IR). For pretreatments with the 4 mixtures of deep eutectic solvents, the best time from the FT-IR was defined. The rice husks pre-treated at this time were analyzed with respect to the lignicellulosic composition by thermogravimetric analysis and the derivative of the generated thermograms (DTG). From the integration of the DTG peaks (at intervals of time defined by the literature), the levels of cellulose, hemicelluloses and lignin were determined, both in pretreated and in natura samples. The deep eutectic solvent that generated a cellulose-rich biomass was selected as the best, and the biomass from the pretreatment with it was used in the subsequent hydrolysis step. Subcritical hydrolysis was carried out in a reactor in semi-continuous operation mode. The process variables were studied: (temperature (200, 230 and 260 ° C) and mass water / solids ratio (25 and 40). The pressure was set at 15 Mpa and the total reaction time was 10 min. The highest yield of reducing sugars (49.9 ± 2.41 g / 100 g biomass) was obtained for samples of rice husks pretreated with Choline Chloride: Glycerol with water under the reaction condition in the hydrolvsis step of 230 ° C / R-40. The vield was 10.21 ± 0.41 g / 100 g biomass for untreated rice husks. Rice husks pretreated with eutectic solvent showed a yield 4.9 times greater than untreated rice husks.

Keyword: Rice husk. Pretreatment. Deep Eutectic Solvent. Subcritical Hydrolysis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2G	Segunda Geração				
AH	Aceitadores de Hidrogênio				
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência				
CIC	Cloreto de Colina				
DES	Deep eutetic solvent				
DH	Doadores de Hidrogênio				
DNS	Ácido Dinitrosalicílico				
FTIR	Espectrofotometria no Infravermelho com Transformada de Fourier				
Gli	Glicerol				
HMF	5-Hidroximetilfurfural				
TGA	Análise Termogravimétrica				

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Etapas do processamento do arroz e seus resíduos
Figura 2- Estrutura molecular da celulose
Figura 3 - Estrutura cristalina e amorfas da celulose20
Figura 4 - Açúcares que compóem a estrutura da hemicelulose
Figura 5- Cadeia aromática da lignina e seus respectivos grupos funcionais23
Figura 6 – Métodos de conversão de biomassa24
Figura 7 – Diagrama de fases para um fluído puro28
Figura 8 – Fluxograma de uma unidade de multipropósitos em sistema semi-contínuo.
29
Figura 9 – Alterações estruturais na matriz lignocelulósica após o pré-tratamento30
Figura 10 – Exemplo da formação de um DES ao receber um doador de hidrogênio
(DH)32
Figura 11 – Análise da literatura atual sobre DESs desde seu surgimento, sendo em
azul trabalhos novos de pesquisa e em vermelho o total junto com revisões e capítulos
de livros
Figura 12 – Cátion de colina34
Figura 13 – Molécula do cloreto de colina35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variação da composição lignocelulósica da casca de arroz	
Tabela 2 – DHs e suas temperaturas de degradação térmica	
Tabela 3 – Prés-tratamentos encontrados na literatur, com as biomassas,	DESs e
condições utilizadas, juntamente com o teor de lignina removida	

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS	16
1.1.1 Objetivo geral	16
1.1.2 Objetivos específicos	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 CASCA DE ARROZ	17
2.1.1 Composição da casca de arroz	18
2.1.1.1 Celulose	19
2.1.1.2 Hemicelulose	21
2.1.1.3 Lignina	22
2.2 PROCESSOS DE CONVERSÃO DA BIOMASSA	24
2.2.1 Hidrólise	25
2.2.1.1 Hidrólise enzimática	26
2.2.1.2 Hidrólise sub/supercrítica	27
2.3 PRÉ-TRATAMENTO	29
2.3.1 Solventes eutéticos profundos	32
2.3.1.1 Aceitadores de hidrogênio (AH)	34
2.3.1.2 Doadores de hidrogênio (DH)	35
2.3.2 Aplicações para o DESs	36
2.3 ESTADO DA ARTE	38
3 ARTIGO – Submetido a Periódico Internacional	39
4 CONCLUSÕES GERAIS	62
5 SUGESTOES PARA FUTUROS TRABALHOS	62
REFERENCIAS	63

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO

O arroz é um dos cereais mais consumidos em todo o mundo, e somente na Ásia representa cerca de 65% da alimentação básica diária (CONAB,2020). No Brasil, o arroz é consumido por quase 95% da população e, em média, metade da população o consome uma vez ao dia. De acordo com o Ministério da Agricultura (BRASIL, 2020), o arroz se enquadra no terceiro cereal mais cultivado do mundo. Já no Brasil, representa a principal fonte de renda agrícola em Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que juntos representam cerca de 80% da produção do país.

Segundo IBGE (2020), para a safra de 2019/2020 foram colhidos 11,7 milhões de toneladas de arroz e, destes, 8,3 milhões foi no estado do Rio Grande do Sul. Assim, levando em consideração que a casca do arroz representa 20% da massa total colhida tem-se, anualmente, a geração de 2,4 milhões de toneladas de cascas de arroz, sendo 1,7 milhões só no estado do Rio Grande do Sul. Estes resíduos muitas vezes são queimados nas próprias indústrias como fonte de aquecimento para as caldeiras ou apenas deixados nos campos para degradação natural (RASTOGI, SHRIVASTAVA, 2017).

Em virtude das novas tendências atuais de fazer uso cada vez maior das fontes vegetais disponíveis na natureza, seja na alimentação ou na agregação de valor aos resíduos agroindustriais, tem-se realizado muitas pesquisas para utilizar estes resíduos para a obtenção de bioprodutos, na produção de materiais ou na geração de energia (SCHEL *et al.*, 2016). Uma alternativa de utilização da a casca de arroz, por exemplo, seria na produção de etanol de segunda geração, visto que o aproveitamento desta como fonte de nutriente na lavoura não é a melhor solução, uma vez que as elevadas concentrações de celulose e lignina impedem a sua rápida decomposição. Já a utilização no aquecimento das caldeiras poderia ocorrer posterior à obtenção de açúcares fermentescíveis utilizados na produção de etanol de segunda geração visto que o resíduo da hidrólise ainda é um matérial com poder de queima que pode ser utilizado nas indútrias para o aquecimento das caldeiras (ABAIDE, 2019a).

A produção de etanol de segunda geração segue basicamente quatro etapas: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação. O pré-tratamento é considerado a parte mais crucial do processo, é nele que ocorre não só a redução mecânica do tamanho das partículas, como também a modificação da estrutura da biomassa lignocelulósica permitindo a sua abertura e, em alguns casos, a remoção da lignina. A escolha do pré-tratamento tem uma grande influência sobre o custo total do processo. Nos últimos anos muitos pré-tratamentos foram avaliados, tanto em escala laboratorial quanto em escala industrial (RABEMANOLONTSOA; SAKA, 2016). Podem-se destacar os tratamentos físicos, que diminuem o tamanho das partículas afetando a cristalinidade da biomassa (KUMARI; SINGH, 2019), a utilização de líquidos iônicos (USMANI *et al.*, 2020), solventes eutéticos (XU *et al.*, 2016), o tratamento por microondas (TSUBAKI *et al.*, 2016) ou hidrotérmico (JEONG *et al.*, 2015) e a explosão à vapor (PUTRINO *et al.*, 2020).

Entre os pré- tratamentos citados, os solventes eutéticos e os líquidos iônicos são os que possuem maiores resultados quando se trata da deslignificação. Entretanto os líquidos iônicos possuem um processo de síntese complexo e de custo elevado (AN et al., 2015), o que também restringe seu uso industrialmente. Desta forma, os solventes eutéticos são a alternativa verde mais viável economicamente para o pré-tratamento. Os solventes eutéticos, do inglês Deep Eutetic Solvents (DES), são considerados uma classe de moléculas formadas a partir de uma mistura eutética de ácidos e bases de Lewis e Bronsted, os quais podem conter uma variedade de espécies aniônicas e/ou catiônicas. Estas misturas consistem em íons não simétricos que possuem baixo ponto de fusão, sendo capazes de formar ligações de hidrogênio por terem um doador e um recpector de elétrons que regulam a sua propriedade de solvatação. Eles conseguem aumentar a solubilização de polímeros como a lignina, sem afetar a celulose presente na biomassa. Esta mistura pode ser sintetizada com um menor consumo energético, além de possuir condições operacionais moderadas, permitem a recuperação dos produtos (solvente e substrato) e podem possuir baixa toxicidade (LIU et al., 2017), facilitando a hidrólise da celulose e da hemicelulose e, consequentemente, aumentando o rendimento dos açúcares fermentescíveis.

A hidrólise, que geralmente ocorre por via ácida ou enzimática, pode resultar em problemas subsequentes. A hidrólise ácida produz altos níveis de inibidores durante a reação, o que afeta a fermentação microbiana, além de haver a necessidade de neutralização do solvente, o que pode produzir sais também prejudiciais. Já a hidrólise enzimática necessita de um alto investimento pelo custo das enzimas, um tempo de reação mais elevado e também não é capaz de remover a lignina, o que dificulta a hidrólise e reduz o rendimento em açúcares no final do processo, de forma que estas características dificultam a sua aplicabilidade em escala industrial (PODE, 2016). Desta maneira, um processo alternativo de hidrólise seria utilizando-se processos ambientalmente amigáveis como a hidrólise com água no estado subcrítico.

A hidrólise utilizando água no estado subcrítico vem ganhando cada vez mais destaque, por se tratar de um processo verde, sem a geração de resíduos, sem o uso de solventes nocivos ao meio ambiente e capaz de dissociar grandes quantidades de biomassa lignocelulósica em poucos minutos, podendo utilizar altas condições de pressão e temperatura para realiza-la (XU, 2016). Alguns estudos utilizando esta tecnologia para obtenção de açúcares a partir da casca de arroz podem ser destacados. Phaiboonsilpa *et al.* (2013), realizou a hidrólise com água comprimida em estado subcrítico em modo batelada, utilizando como pré-tratamento água quente, enquanto que Abaide *et al.* (2019b) realizou o processo em modo semi-contínuo sem a utilização de um pré-tratamento o que acarretou em um baixo rendimento de açúcares quando comparado ao trabalho de Phaiboonsilpa *et al.* (2013) que realizou um pré-tratamento. Além de que ambos os autores relataram altas porcentagem de inibidores devido a presença da lignina na biomassa no momento da hidrólise.

Assim, é importante avaliar a aplicabilidade do pré-tratamento utilizando solventes eutéticos e posterior hidrólise subcrítica, visando um processo com elevado rendimento de açúcares fermentescíveis que podem ser destinados para a produção de biocombustíveis como o etanol de segunda geração (2G) e que apresente reduzido impacto ambiental. Desta forma as principais respostas a serem avaliadas são a deslignificação por meio de diferentes misturas eutéticas, a dissociação da celulose e hemicelulose, as modificações na estrutura morfológica da biomassa e o rendimento em açúcares.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da modificação na estrutura lignocelulósica das cascas de arroz submetidas a pré-tratamento com solventes eutéticos (cloreto de colina com glicerol e cloreto de colina com ureia), visando o aumento da eficiência no processo de hidrólise com água subcrítica da casca de arroz.

1.1.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a casca de arroz em relação a composição lignocelulósica e grupos funcionais na superfície;
- Avaliar o efeito do tempo de pré-tratamento de quatro misturas diferentes de solventes eutéticos sob a modificação nos grupos funcionais das amostras;
- Avaliar no melhor tempo determinado (enriquecimento nos grupos funcionais da celulose), o solvente eutético mais eficiente na redução da lignina e aumento da celulose;
- Com o DES escolhido no objetivo 3, realizar a hidrólise subcrítica, avaliando o efeito da razão solvente/biomassa e da temperatura em uma pressão fixa no rendimento e perfil cinético de açúcares;
- Determinar a melhor condição de hidrólise subcrítica quanto a obtenção de açúcares redutores, açúcares fermentescíveis e formação de inibidores.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CASCA DE ARROZ

A produção do arroz branco polido gera alguns coprodutos (Figura 1), como a palha, casca e farelo de arroz. A casca de arroz representa 20% da massa total do grão de arroz, de forma que se for considerada a produção de arroz da safra de 2019/2020, que foi de 11,7 milhões de toneladas no Brasil (IBGE, 2020), tem-se anualmente a geração de 2,4 milhões de toneladas de casca de arroz.

Por se tratar de um resíduo com valores acima de 0,5% de sílica, este não pode ser utilizado na alimentação animal, visto que a sílica é responsável por provocar o desgaste dos dentes dos animais (LAU *et al.,* 2015). Assim, a casca de arroz é, em sua maioria, como combustível em caldeiras nas próprias indústrias arrozeiras (PODE, 2016), visto que a casca de arroz apresenta uma capacidade calorífica de 16,6 MJ/kg, podendo gerar em torno de 800 kW/h de energia elétrica (ABAIDE *et al.,* 2019c).



Figura 1 Etapas do processamento do arroz e seus resíduos.

Talelo de

Fonte: adaptado de BRASIL, 2020.

2.1.1 Composição da casca de arroz

A casca de arroz é uma biomassa lignocelulósica composta principalmente por celulose, hemicelulose, lignina e sílica, além de proteínas, amido, extrativos e inorgânicos (ISLAM *et al.*, 2018). Possui a vantagem de ser um material extremamente abundante e de baixo custo. A celulose e a hemicelulose são uma fonte com altas concentrações de carboidratos renováveis que podem ser utilizados na indústria de papel e celulose, e também na produção de energia por meio da obtenção de açúcares fermentescíveis utilizados na produção de biocombustíveis (BAE *et al.*, 2017). Na casca de arroz a celulose é o material mais abundante, em torno de 40%, embora ocorra variação neste valor conforme a variedade do arroz, a safra/ano e o bioma da plantação de arroz, como mostrado na Tabela 1.

Devido ao elevado percentual de celulose e hemicelulose presente na casca de arroz, esta pode ser utilizada para a obtenção de açúcares fermentescíveis, utilizados na produção de etanol 2G (ABAIDE *et al.*, 2019c). Para isso é importante

compreender como são organizadas a celulose, hemicelulose e lignina na estrutura lignocelulósica.

		, ,	, ,		
Ano	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Outros	Fonte
2012	40%	19%	16%	25%	Suxia <i>et al.</i>
2013	31%	24%	14%	31 %	Bevilaqua <i>et al.</i>
2014	46%	20%	13%	21%	Singh <i>et al.</i>
2015	38%	24%	19%	19%	Lau <i>et al.</i>
2016	37%	18%	12%	33%	Olupot <i>et al.</i>
2017	40%	30%	10%	20%	Bae <i>et al.</i>
2018	35%	30%	18%	17%	Islam <i>et al.</i>
2019	28%	19%	16%	37%	Abaide <i>et al</i> b.
2020	32%	19%	26%	23%	Kumar <i>et al.</i>

Tabela 1 – Variação da composição lignocelulósica da casca de arroz.

2.1.1.1 Celulose

A celulose, que foi isolada pela primeira vez da matéria vegetal pelo químico francês Anselme Payen em 1839 (GRALÉN, 1955), pode ser extraída de madeira, plantas, algas e bactérias. A celulose é encontrada na parede celular das plantas como gramíneas, árvores e culturas energéticas, e é responsável por dar rigidez e firmeza a estrutura da planta. A sua concentração depende muito da espécie, tecido e maturidade das paredes celulares. A celulose é um polissacarídeo linear composto por várias centenas a milhares de unidades de glicose ligadas entre si através de ligações β -1,4 (Figura 2), dispostas em subunidades de celobiose, que possui uma extremidade redutora e não redutora. O grau de polimerização, medido pelo número de unidades de anidro-glicose, é de aproximadamente 10.000 para as cadeias de celulose (LIAO *et al.*, 2020).

Essa estrutura de dissacarídeos, apresentada na Figura 2, recebe o nome de celobiose e possui um alto grau de cristalinidade, chegando a 89%, além de regiões amorfas (BEVILAQUA, 2013). As regiões amorfas são aquelas onde as fibras estão mais distantes entre si, apresentando-se menos compactadas, como pode-se

observar na Figura 3. A celulose também apresenta uma área superfícial específica de aproximadamente 37 m²g⁻¹ (PENG *et al.,* 2020).



Fonte: Bevilaqua, 2013.

Na estrutura cristalina, os átomos são altamente ordenados e ligados por ligações de hidrogênio, e o empacotamento das cadeias impede a penetração de água e enzimas no interior das suas microfibrilas. No caso da celulose, esta estrutura confere rigidez à parede celular vegetal, tendo como consequência a prevenção da sua degradação por microorganismos (ISLAM *et al*, 2018).

As fibras nesta região também apresentam uma maior resistência a tração, podendo chegar a quinze vezes mais do que na região amorfa (ABDULAAH *et al.,* 2014). Já nas regiões amorfas, a água e as enzimas conseguem acessar a estrutura, facilitando a sua hidrólise . A celulose também apresenta algumas falhas em suas estruturas, denominadas de microporos, que aumentam a sua superfície de contato com outras moléculas (SANTOS, 2014).



Fonte: adaptado de Santos, 2014.

A celulose é comumente utilizada na indústria de papel (Ll *et al.*, 2019a), porém esta não é sua única aplicabilidade. Muitos pesquisadores já demonstraram o grande potencial que esta possui ao ser hidrolisada para produzir glicose, que por fermentação produz etanol 2G (LIU *et al.,* 2019). Além de açúcares, a hidrólise pode produzir os chamados inibidores da fermentação, como o 5-hidroximetilfurfural (HMF), que pode ser utilizado na produção de poliésteres, poliamidas e poliuretano, (PANG *et al.*, 2019).

2.1.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose é responsável pelo crescimento e desenvolvimento das plantas e, diferentemente da celulose, representa um grupo mais heterogêneo de polissacarídeos ramificados (Figura 4). Estes são compostos por cadeias mais curtas de pentoses ligadas ao éter, como a xilose e a arabinose, hexoses correspondentes a glicose, manose, galactose, fucose e ramose, alguns ácidos açúcarados como o 4-O-metil glucurônico e também alguns grupos acetil (ácido acético) e feruloil ligados ao éster (NAIDU, 2018). Este conjunto de diferentes açúcares faz com que a hemicelulose seja exclusivamente amorfa e essencialmente termoplástica (VIEIRA, 2016), sendo mais fácil realizar a sua hidrólise quando comparada com a celulose.

A xilana é um heteropolissacarídeo formado por resíduos de xilose e é o principal constituinte da hemicelulose, considerado o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza (SILVA, 2019), porém a quantidade de cada açúcar presente na hemicelulose depende exclusivamente do tipo de parede celular e varia de espécie para espécie. Além disso a xilana está ligada as estruturas de celulose e lignina, onde está diretamente associada à celulose por ligações de hidrogênio, e à lignina por ligações covalentes nos complexos lignina-carboidrato (LIAO *et al.*, 2020).

A hemicelulose possui diversas aplicações, comumente empregada na composição de biofilmes utilizados nas embalagens de alimentos (VINOD *et al.*, 2020), sendo uma alternativa sustentável aos plásticos sintéticos. Além disso há estudos em sua utilização em produtos biomédicos e emulsificantes, na obtenção de adesivos, espessantes e aditivos para plásticos (NAIDU *et al.*, 2018). Possui um grande valor na indústria farmacêutica onde é utilizada no encapsulamento de fármacos, na produção de xilitol, um substituto do adoçante (OLIVEIRA, 2017), além de possuir potencial na produção de etanol, ácido láctico e ácido levulínico (ABAIDE *et al.*, 2019b).



2.1.1.3 Lignina

Considerado o terceiro componente mais abundante e crucial presente em uma biomassa lignocelulósica, a lignina é uma subtância incrustante encontrada em todas as plantas terrestres, desde madeira a pequenos arbustos, e também em algas aquáticas. É responsável pela resistência mecânica das plantas, pela proteção contra ataques microbianos, pelo transporte de água e nutrientes. Por aumentar a resistência da estrutura a ataques químicos e enzimáticos, a lignina reduz a digestibilidade do material vegetal por animais, além disso ela atua como uma cola entre as paredes celulares da celulose e da hemicelulose (SINGH, 2019).

Assim como a celulose e a hemicelulose, a estrutura da lignina depende dos fatores biológicos e ambientais. A lignina é composta por moléculas amorfas tridimensionalis, que são altamente complexas, formadas principalmente por unidades aromáticas de fenilpropano, p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S), ligadas a uma variedade de ligações incluindo ester, éter e carbono-carbono, como pode ser observado na Figura 5, o que faz com que seja um polímero altamente resistente à degradação química e biológica (LIAO *et al.,* 2020).

A lignina possui considerável teor energético e pode ser utilizada na geração de calor através da sua queima em caldeiras para a produção de vapor, que pode ser utilizado em turbinas para a geração de energia elétrica (LI *et al.*, 2020). Entretanto, a lignina pode ser modificada quimicamente para ser utilizada como matéria-prima na produção de compostos fenólicos, aromáticos, ácidos dibásicos e metanol (MENG *et al.*, 2019), além de agir como agente quelante e ser utilizado no processo de adsorção de metais pesados e pesticidas (ABAIDE *et al.*, 2019a).

As moléculas que constituem a lignina não possuem nenhuma ligação com os açúcares presentes na celulose e hemicelulose, deste modo não podem ser utilizadas na produção de biocombustíveis de segunda geração. Devido à sua alta complexidade, até os mais baixos teores de lignina podem retardar ou impedir o processo de conversão da biomassa em açúcares fermentescíveis, etapa importante para a produção de etanol (OLIVEIRA, 2017).



Figura 5- Cadeia aromática da lignina e seus respectivos grupos funcionais.

Fonte: SALIBA et al., 2001.

2.2 PROCESSOS DE CONVERSÃO DA BIOMASSA

Existem muitos processos conhecidos para a conversão da biomassa lignocelulósica, os quais podem ser mecânicos, químicos, bioquímicos ou termoquímicos, como apresentado na Figura 6. Entretanto, para que a escolha do processo seja industrialmente viável é necessário levar em consideração as características da biomassa escolhida.

Os métodos mecânicos são necessários para a retirada de impurezas, redução e seleção do tamanho das partículas da matéria-prima utilizando moinhos e peneiras (ALVES, 2018). Os processos químicos são aqueles que realizam mudanças na estrutura molecular por uma ou mais reações com outras substâncias como, por exemplo, o processo de hidrólise ácida, também conhecido como branqueamento, muito utilizado nas indústrias papeleiras. Este processo pode ocorrer com ácidos concentrados ou diluídos, geralmente utiliza-se ácido sulfúrico (PHANTHONG *et al.*, 2018).



Fonte: autora.

Os processos termoquímicos são aqueles que utilizam elevadas condições de temperatura e/ou pressão para ocorrer.Os mais utilizados são a pirólise, a combustão, a liquefação e a gaseificação. A pirólise é a degradação térmica que ocorre em

elevadas temperaturas na ausência de oxigênio, onde um dos objetivos do processo é converter a biomassa lignocelulósica em bio-óleo, carvão vegetal e gás (HU, GHOLIZADEH, 2019). A combustão comumente é utilizada para a geração de energia térmica, em fornos ou caldeiras, servindo para a produção de vapor para o processo ou para acionamento de de turbinas. A liquefação ocorre em temperaturas em torno de 300 °C e uma pressão entre 5 e 20 MPa, utilizada para a produção de óleos, líquidos e gases (PERKINS *et al.*, 2019). Já a gaseificação ocorre em pressões mais brandas, de até 3 Mpa, e temperaturas mais elevadas, entre 500 e 1400 °C, utilizada para a produção de CO₂, H₂O, CO, H₂, CH₄, todos no estado gasoso (MOTTA *et al.*, 2018; SIWAL *et al.*, 2020).

Nos processos bioquímicos tem-se a digestão anaeróbia, que envolve a degradação bacteriana do material orgânico biodegradável na ausência de oxigênio, utilizado na produção de biogás, e a fermentação, que utiliza microorganismos para converter o substrato fermentescível em produtos como álcoois e ácidos orgânicos. A hidrólise enzimática também é considerada um processo bioquímico, que tem como objetivo a obtenção de açúcares fermentescíveis e bioprodutos.

2.2.1 Hidrólise

A hidrólise é o processo da abertura da estrutura lignocelulósica e a quebra dos monômeros de celulose em glicose e de hemicelulose em xilose e arabinose, ambos açúcares fermentescíveis utilizados na produção de etanol. A hidrólise geralmente é realizada por meio de ácidos concentrados, como o ácido sulfúrico, entretanto a utilização destes ácidos pode levar a corrosão das partes metálicas dos equipamentos durante o processo, ressaltando-se a preocupação com o tratamento e descarte dos solventes residuais. (ZHANG *et al.*, 2013).

O processo de hidrólise pode ser em batelada ou contínuo. No processo em batelada, a solução ácida é substituída de forma intemitente para manter a eficiência do processo.Porém, além das desvantagens mencionadas anteriormente, este processo necessita de um longo período de tratamento e resulta em uma baixa concentração de açúcares, além de alta concentração de inibidores como o HMF e o furfural (SILVA, 2019).

A hidrólise alcalina utiliza bases fortes para a obtenção de açúcares e/ou produtos químicos, ocorrendo demaneira similar à hidrólise ácida, ou seja, também

necessita de um descarte adequado no final do processo, além de ser necessário equipamentos resistentes à base utilizada. Ainda existem os processos de hidrólise que são ambientalmente amigáveis, como a hidrólise enzimática e a hidrólise que utiliza água em estado sub/super crítico (WOICIECHOWSKI *et al.,* 2020).

2.2.1.1 Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática é o processo de tratamento biológico, no qual as enzimas são usadas para digerir ou modificar as fibras de celulose (PHANTHONG *et al.*, 2018). Geralmente, o tratamento biológico com enzima pode ser realizado em condições brandas, pH próximo a 5 e temperatura entre 45 e 50 °C. No entanto, é necessário muito tempo de operação para se obter elevados teores de açúcares, geralmente de 48 a 72 horas, além de ser imprescindível um complexo enzimático, que possuielevado custo. Pode-se destacar ainda que é necessário realizar um pré-tratamento para abertura da estrutura e deslignificação, que também é considerado uma etapa de elevado custo no processo (SUN *et al.*, 2016).

Apesar disso, a hidrólise enzimática vem sendo escolhida, nos últimos anos, por utilizar menos energia, por necessitar de condições de processo mais amenas e por não haver a preocupação com corrosão de equipamentos e neutralização de solventes, como ocorre nas hidrólises ácida e alcalina. A celulase é o complexo enzimático comumente utilizado para realizar a hidrólise de biomassas lignocelulósicas, e é composto por endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidades que atuam por meio da ação sinérgica (PASQUINI, 2020).

As endoglucanases são responsáveis pela quebra das cadeias de celulose, agindo principalmente nas regiões amorfas, diminuindo seu o grau de polimerização, as tranformando em polissacarídeos mais simples. Já as exoglucanase são enzimas processivas que hidrolisam os terminais não-redutores da cadeia de celulose e removem a celobiose presente. E, por fim, as β -glicosidades são responsáveis por hidrolisar a celobiose removida em glicose.Estas enzimas são não-processivas, ou seja, o substrato deve ser liberado após cada clivagem para permitir a liberação da nova molécula de glicose (NA *et al.,* 2015).

2.2.1.2 Hidrólise sub/supercrítica

A hidrólise com água em condições sub/supercríticas é considerada um método promissor de conversão de biomassa, pois oferece altas taxas de conversão em um curto intervalo de tempo quando comparada com a hidrólise enzimática, além de oferecer alta seletividade por meio do ajuste de temperatura e pressão. Muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando tecnologias supercríticas e subcríticas, devido às vantagens que podem oferecer, como uma ampla faixa de mudanças nas propriedades físicas e químicas de uma biomassa, por exemplo, por meio da modificação da pressão e da temperatura (PERKINS *et al.,* 2019).

A hidrólise com água em estado supercrítico é definida como aquela que utiliza água em uma temperatura e pressão acima do seu ponto crítico (374 °C e 22 MPa), como indicado na Figura 7. Nesta condição ela se encontra em sua forma densa não condensável, onde apenas uma fase existe, ou seja, as propriedades da fase vapor se fundem às da fase líquida, resultando em um comportamento intermediário entre gás e líquido (SMITH *et al.*, 2019).

Este comportamento faz com que a água supercrítica tenha uma alta solubilidade para compostos orgânicos e reduzida solubilidade para sais, comparada com a água em condições ambientes. O aumento desta solubilidade acelera as taxas de reações, o que ocasiona a produção de compostos inibidores e produtos de degradação. Ao se utilizar a hidrólise da celulose com água em condição supercrítica, elevados rendimentos de oligossacarídeos são obtidos. Em contrapartida, há um elevado rendimento de produtos de fragmentação de glicose, como furfural, eritrose e outros produtos não fermentescíveis (ZHAO *et al.,* 2019).

Já a hidrólise utilizando água em estado subcrítico apresenta uma menor prédisposição para a geração de altas taxas de inibidores quando comparada a supercrítica, além de utilizar temperaturas abaixo de 374 °C, consequentemente utilizando menos energia no processo. Nas condições de alta pressão e alta temperatura, há maior facilidade de penetração da água na estrutura complexa de matrizes lignocelulósicas devido a sua baixa viscosidade e alta difusividade. Ainda, há o aumento da constante de dissociação, tornando a água um ácido ou uma base forte, agindo como reagente, solvente e catalisador (COCERO *et al.*, 2018).



Figura 7 – Diagrama de fases para um fluído puro.



Temperatura

Na hidrólise com água subcrítica, os compostos da biomassa passam por reações tendo como produtos moléculas solúveis em água, como glicose, frutose, galactose, manose, xilose e arabinose (MANZANARES *et al.*, 2020). Durante este processo, o oxigênio presente na biomassa é removido por desidratação sob a forma de água e pela descarboxilação sob a forma de dióxido de carbono. O processo de hidrólise subcrítica ocorre de forma rápida, alcança temperaturas elevadas (150 – 374°C) em pequeno intervalo de tempo, apresenta menor risco de corrosão (exceto para biomassas que tenham muitos minerais) e mínima geração de resíduos, não utiliza solventes tóxicos e não requer desintoxicação e neutralização após o tratamento (XU *et al.*, 2016).

Muitos pesquisadores vêm utilizando a tecnologia subcrítica para a conversão de biomassa. Lachos-Perez *et al.* (2017) utilizaram esta tecnologia para a obtenção de açúcares e formação de carvão da palha da cana-de-açúcar com temperaturas variando de 190 a 260 °C. O rendimento máximo de açúcares foi observado em 200 °C, com uma conversão de 32%. Já Abaide *et al.* (2019a), realizaram a hidrólise subcrítica em modo semi-contínuo (Figura 8), à 180, 220 e 260 °C em diferentes razões de água para massa sólida de palha de arroz. Os mesmos obtiveram um rendimento máximo de 33,4% em peso na condição de 220 °C.

Vedovatto *et al.* (2021), utilizaram a metodologia de Abaide *et al.* (2019), visando a obtenção de açúcares fermentescíveis de resíduos da soja. Os autores obtiveram um rendimento de 10,5 g de açúcares redutores por 100 g de biomassa em

uma temperatura de 220 °C. Torres-Mayanga *et al.* (2019) realizou a hidrólise subcrítica em resíduo de grãos proveniente de cervejarias em temperaturas de 140 a 210 °C obtendo uma conversão em açúcare fermentescíveis totais de 35 g por 100 g de biomassa a uma temperatura de 210 °C com razão de fluxo de água/biomassa de 64.





Fonte: Abaide et al., 2019c.

É importante destacar que nenhum dos autores citados realizaram algum tipo de pré-tratamento para remoção da lignina presente na estrutura lignocelulósica. A lignina presente nestas biomassas é considerada um empecilho na hidrólise, visto que ela é refratária às condições do processo e dificulta a quebra da celulose e da hemicelulose em açúcares, uma vez que está fortemente ligada a estas estruturas. Deste modo a deslignificação sem degradação da celulose é a chave para um eficiente e seletivo aprimoramento subsequente da celulose, que deve ser realizado por intermédio de um pré-tratamento.

2.3 PRÉ-TRATAMENTO

O principal objetivo do pré-tratamento é realizar a abertura da matriz estrutural lignocelulósica (Figura 9), para minimizar a interação entre celulose, hemicelulose e lignina, solubilizando a lignina e/ou a hemicelulose, além de aumentar a acessibilidade da celulose para a etapa subsequente, seja ela a hidrólise subcrítica, enzimática,

ácida ou alcalina, que convertem os polissacarídeos em açúcares fermentescíveis (SILVA, 2019). Os açúcares fermentescíveis são utilizados para a produção de etanol de segunda geração que somente será viável caso ocorra um processo eficaz na deslignificação da biomassa, visto que a presença da lignina dificulta a hidrólise, além de poder interferir na fermentação devido a presença de inibidores.

Muitos métodos de pré-tratamento já foram avaliados, como o tratamento ácido e o alcalino. O tratamento ácido resulta em elevada concentração de açúcares hemicelulósicos no líquido e em uma fração sólida de celulose com capacidade de conversão enzimática, porém incorrendo em um alto custo dos materiais utilizados na construção dos reatores. Durante a neutralização, após o tratamento com H₂SO₄, há a formação de CaSO₄, além de grande quantidade de inibidores (GOMES *et al.*, 2020).



Figura 9 – Alterações estruturais na matriz lignocelulósica após o pré-tratamento.

Fonte: Adaptado de Abaide et al., 2019c.

O tratamento alcalino é o método mais utilizado nas indústrias de papel e celulose. É eficiente na remoção da lignina e parte da hemicelulose, além de reduzir a cristalinidade da celulose. Porém, as fibras longas de celulose obtidas causam uma resistência (*kraft*) ao produto final, o que dificulta a quebra destas fibras em monômeros durante o processo de hidrólise. O resíduo deste pré-tratamento é composto por materias orgânicas solúveis e insolúveis, além de outros compostos inorgânicos. Para a separação e tratamento destes são necessárias várias etapas de separação, o que encarece o processo final (WOICIECHOWSKI *et al.,* 2020).

Os tratamentos hidrotérmicos, a explosão a vapor e a ozonólise também podem ser utilizados como pré-tratamentos. Os tratamentos hidrotérmicos não requerem nenhum catalisador, não causam problemas de corrosão e minimizam a formação de inibidores devido ao pH neutro. A água hidrata a celulose facilitando a quebra de seus monomeros, porém remove a maior parte da hemicelulose e apenas uma pequena parte da lignina (MANZANARES *et al.,* 2020). Já a explosão a vapor modifica a estrutura da parede celular por meio de vapor a alta pressão, produzindo uma pasta rica em açúcares hemicelulósicos e celulose. Entretanto, o produto desta hidrólise contém lignina e hemicelulose residual, exigindo-se a utilização de um catalisador ácido, caso contrário os açúcares serão degradados em ácidos fórmico e levulínico que podem inibir os processos de fermentação (RABEMANOLONTSOA *et al.,* 2016). A ozonólise, assim como o pré-tratamento ácido, degrada a lignina e concomitantemente hidrolisa a biomassa em açúcares, ainda exigindo que o reator proporcione o máximo de contato possível da biomassa com o gás ozônio, o que implica em um elevado consumo de gás, encarrecendo o processo (KUMAR *et al.,* 2020);

Além destes métodos de pré-tratamento, o uso dos chamados solventes verdes vem sendo cada vez mais estudado nos últimos anos, como os líquidos iônicos (LIs) e os solventes eutéticos profundos (DESs). Os LIs possuem uma alta eficácia na fragmentação da biomassa, na deslignificação e, consequentemente, na diminuição da cristalinidade da amostra, o que é de extrema importância nas etapas posteriores, principalmente na hidrólise enzimática. No entanto, a maioria dos LIs são caros e alguns podem ser ambientalmente tóxicos, além de ser necessário uma etapa de pósprocessamento para a remoção do LI residual, visto que este pode inibir a atividade enzimática (MA *et al.,* 2016). Por outro lado, os DESs possuem um baixo custo comparado os LIs, não agridem o meio ambiente e também apresentam uma alta taxa de deslignificação do material pré-tratado, sua síntese é facilitada e pode-se utilizar uma vasta gama de doadores de hidrogênio. Entretanto, assim como os LIs, também é necessário um pós-processamento utilizando lavagens e filtração com água e acetona para a remoção do DES residual e da lignina solúvel (MULEY *et al.,* 2019).

Dentre os métodos citados, o pré-tratamento com ácido diluído é um dos mais utilizados para a produção de bioetanol, mesmo não sendo eficiente na remoção da lignina ou considerado ambientalmente amigável (KUMAR *et al.*,2020). Dentre os métodos de pré-tratamentos não tóxicos e que conseguem remover uma parte considerável da lignina de uma forma eficiente destaca-se a utilização de solventes eutéticos profundos (LIU *et al.*, 2020).

2.3.1 Solventes eutéticos profundos

Abbott e colaboradores introduziram, em 2004, os chamados solventes eutéticos profundos (DESs), que são obtidos a partir da mistura de dois ou mais compostos orgânicos, sendo um que atue como aceitador de hidrôgenio (AH) e os outros que atuem como doadores de hidrôgenio (DH), e estes devem ser capazes de formar uma ligação de hidrogênio, como exemplificado na Figura 10. Além disso, uma característica importante dos DESs é possuir um ponto de fusão muito abaixo ao ponto de fusão de cada substância pura. Por exemplo, a mistura entre cloreto de colina e uréia, na proporção molar de 1:2, possui um ponto de fusão igual a 12 °C, enquanto o ponto de fusão do cloreto de colina é 302 °C e da ureia é 133 °C (CHEN *et al.*, 2018b).



Fonte: SILVA, 2019.

Os DESs não agridem o meio ambiente, visto que possuem baixa toxicidade, baixa inflamabilidade, alta biodegrabilidade, não são voláteis, possuem alta sensibilidade térmica, e podem facilmente ser sintetizados por condições de operação simples e recuperados por meio da recristalização do sal (SANTOS, 2019). Devido a estas características, os DESs vem sendo cada vez mais utilizados em diferentes campos de pesquisa, como eletroquímica, preparação de materiais, extração, purificação e catálise. O número de relatórios que tratam do conceito geral de DES publicados nos últimos 10 anos são apresentados na Figura 11. Estes foram pesquisados nas plataformas *Scopus* e *Web of Science*, utilizando a palavra-chave "deep eutectic solvent". Pode-se observar que, apesar do crescente número de estudos utilizando os DESs, ultrapassando 2600 trabalhos só no último ano, sendo 2300 artigos de pesquisa e os demais revisões e capítulos de livro, ainda é um campo novo quando comparado com outros métodos de pré-tratamentos e que deve ser melhor explorado.





Fonte: autora

Por existir uma vasta possibilidade de síntese destes solventes é necessário saber suas características como a condutividade, a estabilidade térmica, os efeitos dos doadores e aceitadores de hidrogênio, além da melhor razão molar para a síntese considerando-se um determinando objetivo, como por exemplo para a abertura de uma estrutura lignocelulósica (XU *et al.,* 2020).

O perfil de condutividade está ligado diretamente com a viscosidade dos DESs e estes, assim como as demais características dos DESs, variam de acordo com seus componentes químicos individuais (AH e DH). Suas características também variam com a presença ou não de água na mistura, visto que ao adicionar-se água a condutividade do solvente irá aumentar até um certo ponto. Entretanto, a diluição dos DESs na água ou sua síntese na presença de água pode levar à perda da ligação de hidrogênio e, consequentemente, no desaparecimento da estrutura espacial do DES (DIAS, 2016). Por esse motivo, estudos são realizados a fim de determinar a fração de água ideal para cada DESs como demonstrado por Dai *et al.* (2015), que informaram que, ao se adicionar 20% de água ocasiona o aumento da condutividade do solvente cai abruptamente, além disso a adição de água ocasiona o aumento da condutividade do solvente. Porém, ao se aumentar a porcentagem de água não ocorre mais nenhuma

modificação significativa no solvente, mas pode ocorrer o enfraquecimento das ligações de hidrogênio.

2.3.1.1 Aceitadores de hidrogênio (AH)

O cloreto de colina (ânion –CI) possui uma capacidade relativamente grande de formar redes de ligações de hidrogênio com diferentes DHs, comparados a outros AHs, como o Brometo de Colina ou o lodeto de Colina que apresentam um menor raio atômico e maior eletronegatividade. D esta forma o íon –CI tende a formar ligações de hidrogênio relativamente mais fortes com DHs., além disso o cloreto de colina possui a vantagem de não ser tóxico e ser biocompatível, ele pode ser amplamente utilizado para a preparação de DESs (CHEN *et al.*, 2018a). O cloreto de colina é caracterizado como um sal de amônio quartenário ligado ao cátion orgânico conhecido como colina. A colina (Figura 12) foi isolada pela primeira vez em 1849, por um estudioso chamado Strecker, na bile de suínos, onde recebeu este nome devido aos ácidos biliares chamados ácidos cólicos. Embora ela também seja chamada de vitamina B4, ela não satisfaz a definição de uma vitamina, devido ao fato de não participar no metabolismo como uma coenzima. Os animais, em sua grande maioria, são capazes de sintetizar colina no fígado por metilação da etanolamina (NASCIMENTO, 2020).





CH₃ Fonte: NASCIMENTO, 2020.

A colina é um composto solúvel em água e álcool e insolúvel em solventes orgânicos, sendo uma base forte que se decompõe em soluções alcalinas. A característica proeminente de sua estrutura química é o seu trio de grupos metil, que possibilita servir como um doador de grupos metílicos. A colina pura é um líquido viscoso altamente alcalino, sendo que a sua forma usual é o cloreto de colina que apresenta de 60 a 70% de colina (FERREIRA, 2019).

O cloreto de colina (CIC) é obtido da mistura de colina com o ânion de cloreto (Figura 13). Possui característica higroscópica, podendo resultar em perdas de

aminas solúveis em água quando adicionadas a pré-misturas, pois aumenta o teor de água livre no meio, resultando em maior potencial reativo (ZHAO *et al.*, 2019).

Figura 13 – Molécula do cloreto de colina



Fonte: NASCIMENTO, 2020.

2.3.1.2 Doadores de hidrogênio (DH)

Desempenham um papel vital na estabilidade térmica dos DESs, que dependem principalmente da fraca interação intermolecular. O doador de ligações de hidrogênio, forma um solvente eutético com o cloreto de colina por meio de ligações de hidrogênio. A Tabela 2 apresenta alguns compostos que podem ser utilizados como DHs, juntamente com sua temperatura de degração térmica (Ti), temperatura de degração térmica do DES (T_{DES}) e a diferença entre as duas temperaturas (ΔT) quando utilizados com o cloreto de colina como aceitador de hidrogênio.

Como demonstrado na Tabela 2, a formação do DES melhora a estabilidade térmica dos DHs. Os valores positivos do ΔT são provenientes da estabilidade térmica do solvente obtido. Nota-se assim que os solventes eutéticos à base de CIC e ureia e à base de CIC e glicerol (Gli) apresentam uma capacidade maior de formar ligações de hidrogênio, visto que apresentam uma estabilidade térmica maior, tornando-se assim solventes mais eficientes na abertura da estrutura lignocelulósica quando comparado com os demais DES. Isso implica na necessidade de uma adição maior de energia (aumento de temperatura) para que os DES à base dos demais DHs alcançassem a eficiência do DES à base de glicerol e à base de ureia na quebra das ligações da biomassa lignocelulosica (FERREIRA, 2019).

Portanto a diferença entre a estabilidade térmica do DES e do DH correspondente sé usada para caracterizar a intensidade da ligação de hidrogênio, enquanto o ΔTi éo usado para caracterizar a estabilidade térmica do DES, existindo uma correlação entre a força intermolecular (ligações de hidrogênio) e a estabilidade térmica do DES. Além dos tipos de doares e receptores de hidrogênio, a razão molar destes também influência na estabilidade térmica dos DESs (CHEN *et al.,* 2018b).

Composto	Molécula	Т _{DH} (°С)	T _{DES} (°C)	ΔT i DES-DH
Glicerol	но он он	155,9	175,5	19,6
Etileno Glicol	H _ C _ H H _ C _ H H - O _ H	79,2	90,3	11,1
Acetamina	O NH ₂	80,9	78,1	-2,8
Ureia	O II H ₂ N	157,6	172,7	15,1
N-Metil-Ureia		162,1	164,3	2,2
Xilitol	но но но	255,3	261,1	5,8

Tabela 2 – DHs e suas temperaturas de degradação térmica

Fonte: Chen et al., 2018a.

A mistura de cloreto de colina (AH) com ureia (DH), por exemplo, na razão de 1:2, formaria um solvente eutético estável, com equivalência no número de receptores e doadores de hidrogênio, o que não ocorreria para razões diferentes, como por exemplo 2:1 e 1:1, onde não há número de doadores o suficiente para a formação de um solvente eutético. Ainda, pode-se destacar que com o aumento excessivo de doadores também não ocorre a síntese do solvente eutético (FERREIRA, 2019).

2.3.2 Aplicações para o DESs

Abbot *et al.* (2004) realizaram um estudo sobre as propriedades dos DESs, comparando-as com as dos líquidos iônicos, demonstrando que estes solventes têm potencial para aplicações em grande escala em galvanoplastia de zinco, fabricação de baterias, bem como na produção de catalisadores para reações de Diels-Alder. Os autores também destacaram que estas aplicações podem ser estendidas a outros metais usando misturas de sais hidratados.
Santos *et al.* (2020) utilizaram DES à base de cloreto de colina para a purificação de biodiesel utilizando como doadores de hidrogênio o glicerol, o etilenoglicol e o trietilenoglicol. Os autores conseguiram uma remoção de impurezas insolúveis em água de 98% quando utilizado um solvente com CIC: glicerol: trietilenoglicol (1:2:1), em um tempo de lavagem de 60 minutos. Li *et al.* (2019b) também fez uso dos DES para a dessulfurização de combustíveis, chegando a uma purificação de 99%

Liu *et al.* (2017) realizaram a extração da lignina de madeira por um tratamento assistido por microoondas a 80 °C, utilizando um solvente eutético sintetizado a partir de CIC e ácido oxálico di-hidratado, obtendo um líquido rico em oligômeros de lignina com alta pureza (96%). Já Chen *et al* (2018b) realizaram o mesmo sistema com CIC e ácido lático obtendo um líquido rico em lignina (cerca de 87%).

Azzizi *et al.* (2014) utilizaram solventes eutéticos como catalisadores na obtenção de corantes de 4H-cromenos, obtendo um corante por meio de uma reação simples, ambientalmente amigável e com vários nucleófilos, incluindo indóis, tióis, aminas secundárias, cianeto e azina. Fischer *et al.* (2016) também utilizaram solventes eutéticos como catalisadores para a síntese de éster fenetílico de ácido cafeíco.

Mukesh *et al.* (2014) utilizaram um DES de CIC:tioureia para a produção de nanofibras de quitina que foram utilizadas para preparar grânulos de um gel bionanocompósito usados para estudar a liberação lenta de 5-fluorouracil, um medicamento anticâncer. No mesmo ano, Chakrabarti *et al.* realizaram uma pesquisa referente a aplicação de DES para armazenamento de energia renovável em baterias de fluxo redox. Já em 2013 Singh *et al.*, utilizaram solventes eutéticos assistidos por ultrassom para a síntese rápida de energia de oxazóis, constataram uma economia de 85% de energia quando comparado ao método convencional.

O DES também pode ser utilizado em processos de extração, como por exemplo, a extração de óleos essencias de semestes de cominho, que podem chegar a um aumento no rendimento de 96% utilizando um DES à base de CIC:ácido L-láctico (razão molar 1:3) e com adição de 40% em massa de água (ZHAO *et al.,* 2019).

Apesar das várias formas de utilização do solvente eutético, uma das mais estudadas nos últimos anos é no pré-tratamento de biomassas com o intuito da remoção da lignina. A Tabela 3 apresenta os trabalhos encontrados na literatura utilizando DESs para o pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas com o objetivo de remover a lignina e reduzir a cristalinidade da amostra.

Como pode-se observar na Tabela 3, muitos solventes eutéticos já foram utilizados para o pré-tratamento de muitas biomassas em diferentes condições de operações, com diferentes doadores de hidrogênio e todos se mostraram promissores no processo de deslignificação.

	Gui	Razão	Temperatura	or de lightind	Remocão de	
Biomassa	DESs			Tempo	lignina	Referência
Pele do café	CIC:Gli	1:2	150 °C	3 h	16%	Procentese <i>et</i> <i>al.,</i> 2018
Palha de milho	CIC: ácido fórmico	1:2	130 °C	3 h	23%	Xu <i>et al.,</i> 2016
Sabugo de milho	CIC:ácido láctico	1:15	90 °C	24 h	93%	Zhang <i>et al.,</i> 2016
Espiga de milho	CIC:Gli	1:2	150 °C	16 h	30%	Procentese <i>et</i> <i>al.,</i> 2015
Resíduo de palma	CIC:ureia	1:2	110 °C	4 h	15%	Nor <i>et al.,</i> 2016
Palha de arroz	CIC:ácido láctico	1:5	60 °C	12 h	58%	Kumar <i>et al.</i> 2015
Casca de melância	CIC:ácido láctico	1:6	120 °C	3 h	43%	Fakayode <i>et</i> <i>al.,</i> 2020

Tabela 3 – Prés-tratamentos e	ncontrados na literatura,	com as biomassas	, DESs e condições
utilizadas,	juntamente com o teor d	le lignina removida.	
		_	

Fonte: a autora.

2.3 ESTADO DA ARTE

A revisão

È importante destacar que até o momento, não foram encontrados trabalhos na literatura, a partir das plataformas de buscas científicas (Science direct e Scopus), que avaliaram de modo integrado a utilização de solventes eutéticos à base de CIC: glicerol e CIC: ureia para o pré-tratamento da casca de arroz com a posterior hidrólise subcrítica em um sistema semi-contínuo.

Alguns estudos realizados serviram como base para a fundamentação desta dissertação. Água no estado subcrítico foi utilizada em modo semi-contínuo para hidrolisar a casca de arroz por Abaide et al. (2019b) a uma pressão de 15 MPa, a 220°C, com diferentes razões de solvente/biomassa. Chen et al. (2018b), utilizou

DESs a base de CIC: Gli, razão de 1:2, com adição de água e/ou ácido para o prétratamento de gramíneas onde obteve uma deslignificação de 63% para uma mistura eutética entre CIC: Gli: (razão de 1:2) com adição de 20% de água em massa e 1% de ácido sulfúrico. Já Nor et al. (2016) utilizou um DES a base de CIC:ureia na razão de 1:2, para o pré-tratamendo de resíduos de palma e obteve uma remoção de lignina de 15%. Assim esse estudo científico tem caráter inovador visando agregar maior conhecimento com relação a uma possível rota tecnológica para a produção de açúcares fermentescíveis e bioprodutos.

3 ARTIGO – Submetido a Periódico Internacional

SUBCRITICAL WATER HYDROLYSIS OF RICE HUSKS PRETREATED WITH DEEP EUTECTIC SOLVENT FOR ENHANCE FERMENTABLE SUGARS PRODUCTION

Crisleine P. Draszewski^a, Carolina A. Bragato^a, Daniel Lachos-Perez^a, Dian Celante^a, Clarissa P. Frizzo^b, Fernanda Castilhos^a, Marcus V. Tres^c, Giovani L. Zabot^c, Ederson R. Abaide^a, Flávio D. Mayer^{a*}

^a Department of Chemical Engineering, Federal University of Santa Maria, 1000, Roraima Avenue, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil

^b Chemistry department, Federal University of Santa Maria, 1000, Roraima Avenue, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil

^c Laboratory of Agroindustrial Processes Engineering (LAPE), Federal University of Santa Maria (UFSM), 1040, Sete de Setembro St., Center DC, Cachoeira do Sul - RS, 96508-010, Brazil

*Corresponding author: <u>flavio.mayer@ufsm.br</u> (Flávio D. Mayer): Phone: +55 (51) 99677.7356

Abstract

Rice husks is a residue with relevant amount of cellulose, hemicelluloses and lignin. The potential of deep eutectic solvent was investigated in rice husks pretreatment to delignification and increase in cellulose content. Sequential subcritical water hydrolysis was applied in the best pretreatment condition aiming to produce fermentable sugars. Fourier Transform Infrared Spectroscopy was used in pretreated rice husks to evaluated the increase in cellulose content at different pretreatment time (1, 2, 4 and 6 h), with choline chloride: glycerol and choline chloride: urea. The lignocellulosic composition was determined by thermogravimetric analysis. In the assay at 230 °C with R of 40, the highest yields of reducing sugars were obtained ($49.9 \pm 2.41 \text{ g}/100 \text{ g}$ biomass) and efficiency ($67.91 \pm 3.28 \text{ g sugars}/100 \text{ g carbohydrates}$).

Keywords: Rice husk; Deep eutectic solvent; Biorefinery; Eco-frendly route; Subcritical water hydrolysis; Sugars.

1. Introduction

The high consumption and exploitation of fossil energy, combined with the increase of negative environmental impacts in industrial production processes, promote an urgent demand for other sources of energy. Thus, there is a gradual growth in the search for clean, reliable, environmental friendly and alternative energy sources to replace the conventional energy [1]. Fortunately, biomass is a renewable resource that could be processed into bioproducts accordingly the biorefinery concept [2].

Rice husks (RH) is a lignocellulosic biomass residue from rice processing. RH is an agroindustrial biomass waste that is readily available. Annually, 180 million tons is generated in the world and 70% is burned for energy production [3]. The lignocellulosic composition of RH varies with several factors, such as crop, climate and region, however according to the literature, RH is mainly composed by 28 wt% cellulose and 18.5 wt% hemicelluloses [4]. Studies have been increased to enable the use of RH as a resource for biorefining, taking into account the process sustainability to produce biofuels. However, to enhance the production of biofuels, it is important to hydrolyse cellulose and hemicelluloses into sugars that are used for fermentation [5].

Obtaining valuable products by dissociating cellulose and hemicelluloses can be improved by several processes that have been developed. Dilute acid and enzymatic hydrolysis are processes commonly used [5,6]. For industrial scale viability some advantages and disadvantages of these processes must be considered. Enzymatic hydrolysis has a long reaction time and very high costs, whereas diluted acid hydrolysis produces high concentrations of inhibitors, which affect the fermentation process [7]. Thus, there is an increase in the search for sustainable technologies to improve the processing yields of lignocellulosic biomass.

Subcritical water hydrolysis (SWH) is a clean and effective process to dissociate cellulose and hemicelluloses. SWH uses water as an environmentally friendly solvent, occurs in a short time and does not generate residual solvents [8]. However, the heterogeneous and recalcitrant structure of lignin partially hinder conversion to valuable products. The high lignin content in lignocellulosic biomass makes processing difficult for bioethanol production, both for chemical, physical or biological routes [9]. Alkaline and acidic methods for pretreatment of lignocellulosic biomass are commonly used, nevertheless, they have drawbacks such as corrosion of equipment and high cost products purification [10]. Some pretreatments are being developed for

delignification of lignocellulosic biomass, using mild, green and sustainable solvents. Deep eutectic solvents (DES) as pre-treatment methods for lignocellulosic biomass are environmentally friendly solvents, easily prepared, with low toxicity, pure, nonflammable and easily biodegraded [11].

RH delignification using DES have been studied by several authors [12,13] and also for obtaining sugars by subsequent fermentation, aiming at the production of bioethanol [4,14]. However, in the best our acknowledgment no studies were found using recognized search platforms (e.g. Scopus and Science direct) envolving DES pretreatment with sequential use of SWH in RH as lignocellulosic biomass for obtaining fermentable sugar. Thus, the main objective of this work was to study delignification potential of DES, choline chloride: glycerol (ChCl:Gly), choline chloride: urea (ChCl:U) and aqueous mixture of them (individually) submitted to different process times and the subsequent utilization of RH pretreated to feed semi-continuous subcritical water reactor to obtain high quantities of bioproducts and sugars.

2. Materials and methods

2.1 Raw material and deep eutectic solvent synthesis

RH were acquired from the rice manufacturing agribusiness located in the Rio Grande do Sul - Brazil. RH were subjected to drying at 60 °C for 1 day. In sequence, they were ground using Willey Knife Mill (FT-60, STAR Macro, Brazil). The RH were stored in a refrigerated system (- 5 °C) prior to the experiments.

Drying of choline chloride (ChCl) was performed for 2h at 60 °C. At room temperature the DES synthesis was performed using methodology already studied [15]. A mixture (ratio 1:2) of choline chroride and glycerol (Gly) at 60 °C with permanent stirring (180 rpm) is carried out observing the solvent until the moment it becomes transparent. The solvent ChCl:Gly in aqueous medium was prepared using 20% water in the mixture. Choline chloride:urea (ChCl:U) and Aqueous ChCl:U were synthesized using the same procedure as described above.

2.2 Deep eutectic solvent pretreatment

All the pretreatment were conducted following an adaptation of previously studied methods [16]. Thus, 1 g RH mixed with 10 g of DES (1:10 biomass/DES ratio) in high pressure reactor in closed systems at 120 °C and pretreated in an oven at different times (1, 2, 4 and 6h). The pretreatment solvents were: ChCI:Gly, ChCI:U, aqueous ChCI:Gly and aqueous ChCI:U. After the high temperature reaction step, 30 ml of a mixture of acetone: water (1:1, v: v) was added to the pre-treated paste, already cooled to 25 °C and the solids were stored.

2.3 Experimental procedure to obtain hydrolyzed solution by subcritical water

The experimental system used to obtain hydrolyzed solutions from untreated RH and hydrolyzed pretreated RH is the same used by previous works [17,18]. The untreated RH and pretreated RH were hydrolyzed by subcritical water with duplicate assays using methodology adapted from a previous study [18]. In a brief description, 10 g of samples (untreated RH or pretreated RH) were loaded in the reactor and the pump maintained a constant flow rate of water. With the reactor already pressurized, the water supply was interrupted and the outlet valve closed. The heating system was switched on to increase the temperature up to the set point (experimental assays at 200 °C, 230 °C and 260°C). For constant temperature, the pressure was 15 MPa.

The reaction time was fixed at 10 min and the solvent / feed ratio (R) (g water / g biomass) was evaluated, changing the value of the feed flow. For an R of 25 and 40 the flow rates were 25 and 40 mL / min, respectively. The time intervals for collecting the hydrolyzate solutions were: 0.5 min (first 3 min), 1 min (3-6 min) and 2 min (6-10 min) intervals. The hydrolyzed samples were stored in a refrigerated system for further analysis (composition of sugars, inhibitors and bioproducts).

2.4 Solid characterization

For untreated RH, moisture, ash content and total extracts were determined by triplicate analyzes according to standard methodology (NREL, 2020). Untreated RH and pretreated RH were analyzed by Fourier-transform infrared spectroscopy FT-IR

(IR Prestige 21, Shimadzu, Japan). The spectral range analyzed was 1200 and 1000 cm-1 with a nominal resolution of 4 cm-1. The aim is to evaluate the increase in bands regarding the cellulose groups, of the pretreated RH at different time intervals (1, 2, 4 and 6h) with different mixtures of DES (ChCl:Gly, ChCl:U, ChCl:Gly:W20% and ChCl:U:W20%)

The thermal degradation behavior of untreated RH and pretreated RH in the better time (highest peak in FT-IR analyses for cellulose functional groups), was analyzed by a thermogravimetric analyzer (Model DTG60 / 60H, Shimadzu, Japan). In each experiment it was carried out with a constant flow rate (50 mL/min) of N2 (99.99% purity). The temperature range of the analysis was 25 to 800 °C with a heating rate of 10 °C/min. Raw thermogravimetric data were converted into derivative thermograms (DTG). The aim is to quantify the percentage (free of extracts) of cellulose, hemicelluloses and lignin using a previously defined method [18,19].2.5 Hydrolyzed solution characterization

2.5.1 Reducing sugars

The reducing sugars (RS) of hydrolyzed solutions were analyzed by dinitrosalicylic acid (DNS) colorimetric method (Miller, 1959). RS yield (YRS; g sugar equivalents in glucose /100 g biomass) was calculated according to Eq. 1 and the efficiency E (g sugar /100 g carbohydrates (hemicelluloses and cellulose)) was calculated according to Eq.2.

$$Y = \frac{m_{RS}}{m_f} x 100 \tag{1}$$

$$E = \frac{m_{RS}}{m_{CA}} x 100 \tag{2}$$

Where: mRS is the mass (g) of RS in the hydrolysed solution, mf is the mass (g) of untreated RH (or pretreated RH) fed into the reactor (g), and mCH is the mass (g) of carbohydrates (hemicelluloses + cellulose).

2.5.2 Fermentable sugars, bioproducts and inhibitors

The determination of the content of sugars (glucose, cellobiose, xylose and arabinose), fermentation inhibitors (Hydroxymethylfurfural and furfural) and

bioproducts (acetic, levunic and formic acids) was performed by methodology used in the literature [4]. Briefly, High-performance liquid chromatography (HPLC) (Proeminence UFLCXR, Shimadzu, Japan) equipped with a refractive index detector (RID 10A, Shimadzu, Japan) was used. A Hi-Plex H column (300 mm x 7.7 mm) (Agilent, USA) was used at 55 °C for determination of glucose, cellobiose, xylose, arabinose, acetic acid, formic acid and levulinic acid. For determination of inhibitors (furfural and 5-hydroxymethylfurfural (HMF)) was used the same HPLC equipment with a photodiode array detector (PDA 20-A, Shimadzu, Japan). A Shim-Pak ODS C18 column (Shimadzu, Japan) was used.

3. Results and discussion

3.1 Fresh material characterization

The ash, moisture, ash and extractives content in untreated RH were $15.8 \pm 1.2\%$, $8.4 \pm 0.8\%$ and $13.0 \pm 1.6\%$. Moisture is an important parameter for the pretreatment, for DES pretreatment, the sample must be dried, so $8.4 \pm 0.8\%$ is a low value which would imply small energy consumption in the drying process, on an industrial scale this is relevant.

SWH for samples with high ash contents, have the undesirable consequence of equipment wear due to abrasion. Although the composition may vary due to several factors (cultivation, geographical region, variety, crop, etc.), the ash content is closer to reported by other studies [4,21]. The authors found the values of $16,6 \pm 0.7$ and 15.1 ± 0.27 % for ash content in the RH, respectively. This can be attributed to the use of RH obtained from the same region, in southern Brazil.

The cellulose, hemicelluloses, and lignin content (free mass of extractives) were 44.63%, 29.71%, and 22.0%, respectively. The values obtained for these components are used to evaluate the effect of pretreatment on RH samples. In addition, efficiency (E) is calculated using the carbohydrate content, which is determined by the amount of cellulose and hemicelluloses.

3.2 Effect of the pretreatment time on lignocellulosic content

The definition of the best pretreatment time for RH, using the 4 mixtures of DES individually, was evaluated by FT-IR. The stretches of C–O, C–C and C–OH, related to cellulose, were found close to the 1100 cm⁻¹ band. [22]. Thus, for pretreated samples, the increase in band at 1100 cm⁻¹, indicates an increase in cellulose content, which may have occurred due to delignification. The highest intensity at 1100 cm⁻¹ was for pretreatments performed at 4 and 6 h using DES mixtures: ChCl:Gly, ChCl:U and ChCl:U:W20% (Fig.1).

The sample pretreated with the ChCI:Gly:W20% mixture for 6h did not show an intense band for C–C and C–OH stretches as verified for the other mixtures. However, using the same mixture at 4h, the band has high intensity. In general, the 4h was the best pretreatment time.





Figure 1. FT-IR spectroscopy analysis of RH and pretreated RH in different times. Pretreated with (a) ChCl:Gly, (b) ChCl:Gly:W20%, (c) ChCl:U and (d) ChCl:U:W20%.

3.3 Evaluation of compositional change during pretreatment with deep eutectic solvent

The samples were analyzed by TGA to determine derivative thermograms (DTG) (Fig. 2). The temperature of each peak (DTG) obtained is used to determine the percentages of lignocellulosic compounds. The range of 330-370°C was used to determine cellulose content [23], the 175-330°C range was used for hemicelluloses [24], and 370-550 °C range was used for lignin [25].

For untreated RH peaks of 200 °C to 300 °C and 300 °C to 370 °C appeared. The peaks appearing for untreated RH refer to hemicelluloses and cellulose. According to Fig. 1.a, when RH was subjected to pretreatment with ChCI:Gly:W20%, an increase in the cellulose content and a reduction in the hemicellulosis content according to the peaks. For ChCI:Gly, there is no abrupt reduction in the intensity of the peak of hemicelluloses, however the peak relative to cellulose does not present a high intensity (Fig. 1.a). In RH samples pretreated with ChCI:U and ChCI:U:W20%, there is less

peaks intensity related to cellulose (Fig. 1.b), when compared to those pretreated with ChCI:Gly and ChCI:Gly:W20%.



Fig. 2: Derivative thermogravimetric analysis (DTG). (a) RH and samples pretreated with ChCI:Gly and ChCI:Gly:W20% and (b) RH and samples pretreated with ChCI:U and ChCI:U:W20%.

The RH composition for hemicelluloses, cellulose and lignin (Table 1) was determined by integration and normalization of DTG profiles shown in Fig. 1a and Fig. 1b, according to the The RH composition for hemicelluloses, cellulose and lignin

(Table 1) was determined by integration and normalization DTG profiles shown in Fig. 2a and Fig. 2b, according to the methodology reported by literature [19]. As a result, high amount of lignin was dissolved for all pretreatments (42-46 % of lignin removal). The delignification mechanism using DES is the cleavage of the ether bond from lignin, and the consequent dissociation of it from the lignocellulosic structure. [26]. Oil palm empty fruit brunch was submitted to pretreatment with DES (ChCI:Gly) at 120 °C during 8h and achieved a delignification of 22% without increasing the cellulose content [16].

Table 1: Lignocellulosic composition (free mass of extractives) of RH and samples pretreated at 120 °C, 1:10 biomass/DES ratio with different DES mixtures for 4h.

Pretreatment	Cellulose (%)*	Hemicelluloses (%)	Lignin (%)
RH untreated	44.6	29.7	22.0
ChCI:Gly	53.8	30.3	12.6
ChCl:Gly:W20%	71.4	13.0	12.4
ChCI:U	57.5	25.8	13.0
ChCI:U:W20%	59.0	25.7	11.8

* % mass percentage.

With the exception of pretreatment with ChCI:Gly, all samples showed a reduction in hemicelluloses content as well. Therefore, part of the hemicelluloses must have been dissociated in these pretreating. For all pretreatments, there was a positive increase in cellulose content. Pretreatment with ChCI:Gly:W20% showed the greatest increase in cellulose content (60%) when compared to untreated RH (Table 1). Previous studies have shown a change in cellulose content of Switchgrass from 31.57 to 60.26 (91% increase) using ChCI:Gly:W20% acidified with 0.9% of H2SO4, at 121 °C and 1h [15]. The present study did not use acid and achieved a delignification as high as this one. The RH pretreated with ChCI:Gly:W20% were then used in the SWH essay under different conditions.

3.4 Effect of Subcritcal water hydrolysis parameters on the efficiency and reducing sugars yields

The values obtained for RS yield and efficiency in different conditions after 10 min of reaction are shown in Table 2. The greatest YRS was obtained at 230 °C / R-

40 (49.90 \pm 2.41 g/100g biomass). The YRS was lower for experimental essay at a lower temperature (200 °C /R-25 and 200 °C /R-40). This may have been attributed due to the low content of hemicelluloses in the pretreated biomasses and consequently the non-dissociation of sugars (Xylose and Arabinose), since at this temperature only dissociation of hemicelluloses occurs [27]. There is cellulose hydrolysis, for milled samples with amorphous zones at temperatures of at least 230 °C [28].

The highest E value (Table 2) was 67.91 ± 3.28 g sugar/100 g of carbohydrates is due to the high levels of cellulose and the low lignin content in pretreated RH (Table 1). In previous work, RH were hydrolyzed by SWH at 220 °C /R-7.5 and an efficiency (E) of 39.7 ± 1.7 g/ sugar/100 g of carbohydrates was founded [4]. This value is much lower (1.71 times lower) than that found in this study, which performed the biomass pretreatment step.

Exp	Code	Liquid/solid mass ratio g water/g sample	Temperature (° C)	Y _{RS} * (g/100g biomass)	E (g/100g* carbohydrates)
1	200°C/R-25	25	200	1.05 ± 0.16	1.42 ± 0.21
2	200°C/R-40	40	200	0.05 ± 0.02	0.08 ± 0.03
3	230°C/R-25	25	230	27.05 ± 6.83	36.86 ± 9.30
4	230°C/R-40	40	230	49.90 ± 2.41	67.91 ± 3.28
5	260°C/R-25	25	260	10.78 ± 0.90	14.67 ± 1.23
6	260°C/R-40	40	260	14.92 ± 0.19	20.30 ± 0.26
7**	RH230°C/R-40	40	230	10.21 ± 0.41	15.80 ± 0.64

Table 2: Influence of parameters (temperature and solid ratio) on the RS yield (Y_{RS}) and efficiency (E) of SWH of untreated and pretreated RH (ChCl:Gly:W20%) at 15 MPa.

* Dry basis

** Assay using untreated RH

Y_{RS}: reducing sugar yield

E: Efficiency

In the kinetic profiles the YRS in Subcritical water hydrolysis at different conditions are shown in Fig. 3. For the different conditions the reaction rate does not follow a same pattern. There is a great increase in RS yield up to 6 min of reaction when evaluating the condition 230 °C /R-40. However, the conversion rate becomes

approximately zero after that time and the maximum value of 49.90 ± 1.41 g/100g biomass was reached. At 0.5 min and 2 min, the RS yield increased from 2.81 ± 0.4 g/100 g biomass to 40.59 ± 3.5 g/100 g biomass, with an average hydrolysis rate of 25.18 g/min in 100 g of biomass.





For the 230 °C/R-25 condition, the RS yield became constant after 4 min of reaction (27.05 \pm 6.83 g/100 g biomass), with a hydrolysis rate of 11.96 g/min in 100 g of biomass. The 230 °C /R-40 condition presented hydrolysis rate of approximately 2.1 times higher than the 230 °C/R-25 condition. A short residence time may have caused this behavior when the values of R of 40 and 25 g water/g biomass (both at 230 °C) are compared. These values for hydrolysis rates are much higher than other studies reported by the literature. A hydrolysis rate of 3.4 g/min in 100 g of biomass was obtained for untreated RH using SWH at 220 °C /R-7.5 condition [4]. SWH was also applied on coconut husk, defatted grape seed and pressed palm fiber [29]. The authors obtained the maximum rates of hydrolysis for the coconut husk (0.9 g/min), defatted grape seed (0.26 g/min) and pressed palm fiber (0.66 g/min). The high hydrolysis rate found in this study, can be attributed to the pretreatment of delignification with DES. The hydrolysis rate for the same condition (230 °C /R-40), but using untreated RH as feedstock in the reactor, was 4.68 g/min in 100 g of biomass. The dissociation

process of cellulose and hemicelluloses [30]. The hydrolysis rate at 230 °C /R-40 for pretreated RH was then 5.3 times higher for assays (same condition) that used untreated RH.

In experiments at the same R value for a temperature increase from 200 °C to 230 °C, there was an increase in RS yield (Fig. 3). This may have occurred due to the increase in the ionic product value of water for higher SWH temperatures. So there are higher concentrations of hydronium and greater ease in the conversion of carbohydrates. [31]. There are higher RS yields for short residence times, however at 260 °C this has not been verified (Fig. 3), which can be attributed to a greater thermal degradation of the compounds, forming volatile substances [32]. Subcritical water hydrolysis was also used to obtain sugar from soybean straw and hull [17]. In the study the best RS yield was obtained for both biomasses at 220 °C. For soybean straw and hull, the YRS was 10.27 ± 0.58 ($220 \degree C / R-18$) and 10.52 ± 0.41 ($220 \degree C / R-15$) g/100g biomass, respectively. Temperature values are very close to those used in this work. It can still be noted that the highest values for YRS, were also for the highest water / biomass ratios.

3.5 Composition of the hydrolyzate

The content of sugar, inhibitors and bioproducts were analyzed in the hydrolysates obtained (Table 3). The monosaccharide with the highest levels found in the hydrolyzate was cellobiose, followed by xylose. For pretreated RH, under conditions with R-40, where the temperature was 230 °C (4.01 ± 0.16 g/100g biomass) and 260 °C (4.36 ± 0.75 g/100g biomass), the highest values for cellobiose were obtained. The lower sugars content for the R-25 condition at 230 and 260 °C is associated with the degradation of cellobiose to glucose and sequential degradation to formic acid [27], since it is possible to visualize that the value for formic acid is high, being 5.77 ± 0.33 and 5.13 ± 0.27 g/100g biomass for conditions 230 °C /R-25 and 260 °C /R-25, respectively. This degradation is due to the longer residence time for conditions R-25 when compared to R-40, because the flow rate in the R-25 is lower [8].

	200 °C/R-25	200 °C/R-40	230 °C/R-25	230 °C/R-40	260 °C/R-25	260 °C/R-40	RH 230 °C/R-40*
Sugar (g/100g)							
Glucose	0.08 ± 0.02	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.02 ± 0.00
Cellobiose	0.81 ± 0.12	1.98 ± 0.12	1.72 ± 0.31	4.01 ± 0.16	1.18 ± 0.11	4.36 ± 0.75	0.44 ± 0.11
Xylose	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.62 ± 0.16	1.50 ± 0.19	1.00 ± 0.07	2.07 ± 0.33	0.08 ± 0.00
Arabinose	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.20 ± 0.05	0.24 ± 0.03	0.18 ± 0.00
Total	0.99	2.11	2.67	5.94	2.48	6.83	0.73
Inhibitors (g/100g)							
HMF	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.04 ± 0.02	0.12 ± 0.04	0.13 ± 0.05	0.00 ± 0.00
Furfural	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.36 ± 0.15	0.51 ± 0.16	0.98 ± 0.34	0.00 ± 0.00
Total	0.00	0.00	0.05	0.40	0.63	1.11	0.00
Organic acids (g/100g)							
Formic acid	3.16 ± 0.54	4.09 ± 0.08	5.77± 0.33	3.82 ± 0.60	5.13 ± 0.27	1.95 ± 0.14	0.26 ± 0.04
Acetic acid	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.27 ± 0.04	0.41 ± 0.04	0.40 ± 0.04	0.62 ± 0.09	0.12 ± 0.00
Levuinic acid	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.01 ± 0.00
Total	3.22	4.18	6.06	4.33	5.57	2.63	0.39

Table 3: Yields of sugars, inhibitors, and bioproducts (g/100 g biomass; dry basis) obtained by SWH of pretreated RH for 10 min.

* Assay using untreated RH

When the cellobiose and xylose content (Table 3) for pretreated RH submitted to SWH are evaluated, their values are higher than that obtained for untreated RH submitted to SWH at 230 °C /R-40. This may have occurred due to the high cellulose content in the pretreated RH. The delignification in pretreated RH also contributes to the dissociation of cellulose and hemicelluloses into cellobiose and xylose, respectively. Thus, it is notable that pretreatment with DES (ChCI:Gly:W20%) implied hydrolyzed solutions with higher levels of cellobiose and xylose sugars.

The cellobiose levels (4.36 \pm 0.75 g/100g biomass) obtained in this work (260 °C/ R-40) are higher than those found for other biomasses that were submitted to SWH. Defatted grape seed, pressed palm fiber and coconut husk were also submitted to SWH during 30 min at 260 °C (approximately)[29]. The contents of cellobiose in the hydrolyzed solutions of Coconut husk, Defatted grape seeds and Pressed palm fiber are 0.12, 0.04 and 0.41 g/100 g raw material, respectively. It is important to highlight that these biomasses were not submitted to pretreatment with DES. Regarding the inhibitors contents, very low values were found for these compounds.

The content of fermentable sugars, inhibitors and bioproducts, was also analyzed for the hydrolyzate aliquots collected at the different assay time intervals (until 10 min). (Fig. 4 and 5). For pretreated RH cellobiose and xylose were recovered up to 1.5 min. The highest content of cellobiose was 2.44 mg/g biomass (1.5 min) at 230 °C /R-25 condition. Xylose had the highest content (2.78 mg/g biomass) at 260 °C /R-40. This higher xylose content at the beginning of the SWH process was also observed in other studies [17,18]. SWH was used to hydrolyze the rice straw, with an increase in cellulose content observed at 2 and 4 min from the start of the process at 220 °C / R-15 [18]. In the first 0.5 min, higher levels of xylose were obtained from soybean straw and hull submitted to SWH at 220 °C [17]. For these studies, the biomasses were packaged in the subcritical hydrolysis reactor, and kept in water in a static manner until the temperature transient reached the desired condition, and thus the water passage process began. This may have facilitated a small conversion of sugars at the beginning of SWH [33].



Fig. 4: Yield of sugars (non-accumulated samples) for untreated RH and pretreated RH at 15 MPa.



Fig. 5: Yield of bioproducts and inhibitors (non-accumulated samples) for untreated RH and pretreated RH at 15 MPa.

The untreated RH submitted to SWH at 230 °C /R-40, presented values for the sugar contents much lower (in the order of 0.5 mg/g) to those obtained for the pretreated RH also submitted to SWH. This can be attributed to the higher lignin content (recalcitrant structure) of untreated RH, and the lower cellulose content [27,30]. The glucose content obtained was very low, which may have occurred due to degradation in formic acid (Fig. 5). The levels of formic acid obtained for pretreated RH were in the range of 3 to 7 mg /g biomass. For the other bioproducts and inhibitors, the values found were much lower than those obtained for formic acid in all SWH conditions, both for pretreated RH and untreated RH. The low levels for inhibitors, imply less difficulties in adapting microorganisms in the subsequent process of fermentation for the production of bioethanol [34].

4. Conclusion

RH have been pretreated with DES (ChCI:Gly, ChCI:Gly:W20%, ChCI:U and ChCI:U:W20%). High cellulose content (71.4%) was found using ChCI:Gly:W20% at 120 °C during 4h, otherwise delignification, was achieved for all pretreatments (42-46 %). Pretreated RH presented high E (67.91 \pm 3.28 g sugars/100 g carbohydrates) at 230 °C /R-40. For untreated RH at the same SWH condition, E was 15.80 \pm 0.64 28 g sugars/100 g carbohydrates. This indicates an 430% increase in E using pretreated RH. Based on the conclusions, it is possible to propose an integrated environmentally friendly process with potential use for RH.

Conflict of interest

The authors inform that there are no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), National Council of Technological and Scientific Development (CNPq: 407105/2016-6; 409583/2018-9), the Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS: 17/2551–0000893–6; 19/2551-0001261-6; 19/2551-0001790-1), M. V. Tres, E. R. Abaide, F. D. Mayer, F. Castilhos and G. L. Zabot (304882/2018-6) and CNPq for the productivity grants.

REFERENCES

[1] U. De Corato, I. De Bari, E. Viola, M. Pugliese, Assessing the main opportunities of integrated biorefining from agro-bioenergy co/by-products and agroindustrial residues into high-value added products associated to some emerging markets: A review, Renew. Sustain. Energy Rev. 88 (2018) 326–346. https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.02.041.

 [2] L. Faba, E. Díaz, S. Ordóñez, Recent developments on the catalytic technologies for the transformation of biomass into biofuels: A patent survey, Renew. Sustain. Energy Rev. 51 (2015) 273–287. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.06.020.

 S. Fahad, M. Adnan, M. Noor, M. Arif, M. Alam, I.A. Khan, H. Ullah, F. Wahid, I.A.
 Mian, Y. Jamal, A. Basir, S. Hassan, S. Saud, Amanullah, M. Riaz, C. Wu, M.A. Khan, D.
 Wang, Major constraints for global rice production, Elsevier Inc., 2018. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814332-2.00001-0.

 [4] E.R. Abaide, G. Ugalde, M. Di Luccio, R. de F.P.M. Moreira, M. V. Tres, G.L. Zabot,
 M.A. Mazutti, Obtaining fermentable sugars and bioproducts from rice husks by subcritical water hydrolysis in a semi-continuous mode, Bioresour. Technol. 272 (2019) 510–520. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.075.

[5] B.B.Y. Lau, E.T. Luis, M.M. Hossain, W.E.S. Hart, B. Cencia-Lay, J.J. Black, T.Q. To, L. Aldous, Facile, room-temperature pre-treatment of rice husks with tetrabutylphosphonium hydroxide: Enhanced enzymatic and acid hydrolysis yields, Bioresour. Technol. 197 (2015) 252–259. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.056.

[6] J. Li, M. Lu, X. Guo, H. Zhang, Y. Li, L. Han, Insights into the improvement of alkaline hydrogen peroxide (AHP) pretreatment on the enzymatic hydrolysis of corn stover: Chemical and microstructural analyses, Bioresour. Technol. 265 (2018) 1–7. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.082.

[7] Z. Shen, K. Zhang, M. Si, M. Liu, S. Zhuo, D. Liu, L. Ren, X. Yan, Y. Shi, Synergy of lignocelluloses pretreatment by sodium carbonate and bacterium to enhance enzymatic hydrolysis of rice straw, Bioresour. Technol. 249 (2018) 154–160. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.008.

[8] J.M. Prado, D. Lachos-Perez, T. Forster-Carneiro, M.A. Rostagno, Sub- A nd

supercritical water hydrolysis of agricultural and food industry residues for the production of fermentable sugars: A review, Food Bioprod. Process. 98 (2016) 95–123. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.11.004.

[9] H. Xu, J. Peng, Y. Kong, Y. Liu, Z. Su, B. Li, X. Song, S. Liu, W. Tian, Key process parameters for deep eutectic solvents pretreatment of lignocellulosic biomass materials: A review, Bioresour. Technol. 310 (2020) 123416. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123416.

[10] A. Lorenci Woiciechowski, C.J. Dalmas Neto, L. Porto de Souza Vandenberghe, D.P. de Carvalho Neto, A.C. Novak Sydney, L.A.J. Letti, S.G. Karp, L.A. Zevallos Torres, C.R. Soccol, Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances, Bioresour. Technol. 304 (2020) 122848. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122848.

[11] E.R. Abaide, C.C. Muller, C.P. Draszewski, M. V. Tres, M.A. Mazutti, G.L. Zabot, Chemistry of Ionic Liquid, Switchable Solvents, Supercritical Carbon Dioxide and Sub/Supercritical Water, in: Inamuddin, A.M. Asiri (Eds.), Adv. Nanotechnol. Appl. Supercrit. Fluids, Springer, 2020: pp. 165–198. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-44984-1_8.

[12] N. Kumar, P.D. Muley, D. Boldor, G.G. Coty IV, J.G. Lynam, Pretreatment of waste biomass in deep eutectic solvents: conductive heating versus microwave heating, Ind. Crop. Prod. 142 (2019) 111865. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111865.

[13] M. Okur, D.D. Eslek Koyuncu, Investigation of pretreatment parameters in the delignification of paddy husks with deep eutectic solvents, Biomass and Bioenergy. 142 (2020) 105811. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105811.

[14] N. Phaiboonsilpa, M. Ogura, K. Yamauchi, H. Rabemanolontsoa, S. Saka, Two-step hydrolysis of rice (Oryza sativa) husk as treated by semi-flow hot-compressed water, Ind. Crops Prod. 49 (2013) 484–491. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.025.

 [15] Z. Chen, W.D. Reznicek, C. Wan, Deep eutectic solvent pretreatment enabling full utilization of switchgrass, Bioresour. Technol. 263 (2018) 40–48. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.058. [16] Y.T. Tan, G.C. Ngoh, A.S.M. Chua, Evaluation of fractionation and delignification efficiencies of deep eutectic solvents on oil palm empty fruit bunch, Ind. Crops Prod. 123 (2018) 271–277. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.091.

[17] F. Vedovatto, G. Ugalde, C. Bonatto, S.F. Bazoti, H. Treichel, M.A. Mazutti, G.L. Zabot, M. V. Tres, Subcritical water hydrolysis of soybean residues for obtaining fermentable sugars, J. Supercrit. Fluids. 167 (2021) 105043. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.105043.

[18] E.R. Abaide, S.R. Mortari, G. Ugalde, A. Valério, S.M. Amorim, M. Di Luccio, R. de F.P.M. Moreira, R.C. Kuhn, W.L. Priamo, M. V. Tres, G.L. Zabot, M.A. Mazutti, Subcritical water hydrolysis of rice straw in a semi-continuous mode, J. Clean. Prod. 209 (2019) 386– 397. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.259.

[19] D. Lachos-Perez, F. Martinez-Jimenez, C.A. Rezende, G. Tompsett, M. Timko, T. Forster-Carneiro, Subcritical water hydrolysis of sugarcane bagasse: An approach on solid residues characterization, J. Supercrit. Fluids. 108 (2016) 69–78. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.10.019.

[20] G.L. Miller, Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar, Anal. Chem. 31 (1959) 426–428. https://doi.org/10.1021/ac60147a030.

[21] O.P. Fleig, E.S. Lopes, E.C. Rivera, R. Maciel Filho, L.P. Tovar, Concept of rice husk biorefining for levulinic acid production integrating three steps: Multi-response optimization, new perceptions and limitations, Process Biochem. 65 (2018) 146–156. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.11.015.

[22] F. Xu, J. Yu, T. Tesso, F. Dowell, D. Wang, Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review, Appl. Energy. 104 (2013) 801–809. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.12.019.

[23] J. Cai, W. Wu, R. Liu, G.W. Huber, A distributed activation energy model for the pyrolysis of lignocellulosic biomass, Green Chem. 15 (2013) 1331–1340. https://doi.org/10.1039/c3gc36958g.

[24] Y. Peng, S. Wu, The structural and thermal characteristics of wheat straw hemicellulose, J. Anal. Appl. Pyrolysis. 88 (2010) 134–139. https://doi.org/10.1016/j.jaap.2010.03.006.

[25] D. Watkins, M. Nuruddin, M. Hosur, A. Tcherbi-Narteh, S. Jeelani, Extraction and characterization of lignin from different biomass resources, J. Mater. Res. Technol. 4 (2015) 26–32. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2014.10.009.

[26] C. Alvarez-Vasco, R. Ma, M. Quintero, M. Guo, S. Geleynse, K.K. Ramasamy, M. Wolcott, X. Zhang, Unique low-molecular-weight lignin with high purity extracted from wood by deep eutectic solvents (DES): A source of lignin for valorization, Green Chem. 18 (2016) 5133–5141. https://doi.org/10.1039/c6gc01007e.

[27] M.J. Cocero, A. Cabeza, N. Abad, T. Adamovic, L. Vaquerizo, C.M. Martínez, M.V.
 Pazo-Cepeda, Understanding biomass fractionation in subcritical & supercritical water, J.
 Supercrit. Fluids. 133 (2018) 550–565. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.08.012.

[28] Y. Yu, H. Wu, Effect of Ball Milling on the Hydrolysis of Microcrystalline Cellulose in Hot-Compressed Water, Environ. Energy Eng. 57 (2011) 793–800.

[29] J.M. Prado, T. Forster-Carneiro, M.A. Rostagno, L.A. Follegatti-Romero, F. Maugeri Filho, M.A.A. Meireles, Obtaining sugars from coconut husk, defatted grape seed, and pressed palm fiber by hydrolysis with subcritical water, J. Supercrit. Fluids. 89 (2014) 89–98. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.02.017.

[30] Y. Pu, F. Hu, F. Huang, B.H. Davison, A.J. Ragauskas, Assessing the molecular structure basis for biomass recalcitrance during dilute acid and hydrothermal pretreatments, Biotechnol. Biofuels. 6 (2013) 1–13. https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-15.

[31] A. Purnomo, Y.A.W. Yudiantoro, J.N. Putro, A.T. Nugraha, W. Irawaty, S. Ismadji, Subcritical water hydrolysis of durian seeds waste for bioethanol production, Int. J. Ind. Chem. 7 (2016) 29–37. https://doi.org/10.1007/s40090-015-0059-3.

[32] A.R.R. Pinto, F. Antas, R.C.D. Santos, S. Bowra, P. Simões, S. Barreiros, A. Paiva, Effect of reactor configuration on the subcritical water hydrolysis of recycled paper mill sludge, J. Anal. Appl. Pyrolysis. 127 (2017) 68–74. https://doi.org/10.1016/j.jaap.2017.08.021.

[33] E.R. Abaide, M. V. Tres, G.L. Zabot, M.A. Mazutti, Reasons for processing of rice coproducts: Reality and expectations, Biomass and Bioenergy. 120 (2019) 240–256. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.11.032. [34] G.. Zabot, A. E.R, T. M.V, M. M.A, Bioethanol in the world energy matrix, in: T. H,
A. S.L.Jr, F. G, M. C (Eds.), Ethanol as a Green Altern. Fuel Insight Perspect., 2019: pp. 107–138.

4 CONCLUSÕES GERAIS

O estudo mostra que os solventes eutéticos profundos são eficazes na dissolução seletiva da lignina e no enriquecimento dos teores de celulose. Para as misturas de solventes eutéticos estudadas, o melhor tempo de pré-tratamento sob aquecimento convencional a 120 °C foi de 4 horas e, dentre os solventes utilizados, pode-se concluir que a mistura de cloreto de colina com glicerol na proporção de 1:2 com adição de 20% em peso de água resultou em uma maior porcentagem de deslignificação (43,6%) e um enriquecendo de 60% nos teores de celulose das cascas de arroz.

Ao se avaliar os resultados obtidos com relação a eficiência de conversão dos carboidratos em açúcares, é importante notar o grande aumento para este parâmetro quando se observa a eficiência ($67,91 \pm 3,28 \text{ g}/100\text{g}$ carboidratos) obtida para a casca de arroz pré-tratada e submetida a hidrólise subcrítica com água a 230 °C e razão solvente/sólido de 40 e a eficiência obtida ($15,80 \pm 0,64 \text{ g}/100\text{g}$ carboidratos) para a casca de arroz submetida a mesma condição, mas sem passar pela etapa de pré-tratamento. Como esse aumento é expressivo (430%), há uma tendência positiva ao uso de pré-tratamento de casca de arroz utilizando solvente eutético com intuito de aprimorar os resultados obtidos na hidrólsie.

5 SUGESTOES PARA FUTUROS TRABALHOS

- Estudar a recuperação dos solventes eutéticos e seu reuso;
- Avaliar a síntese de novos solventes eutéticos com novos aceitadores de hidrogênio;
- Analisar a lignina solúvel presente no líquido após o pré-tratamento;
- Realizar uma avaliação energética de todo o processo integrado.

REFERENCIAS

ABAIDE, Ederson R.; M ORTARI, Sérgio R.; UGALDE, Gustavo; VALÉRIO, Alexsandra; AMORIM, Suélen M.; LUCCIO, Marco di; MOREIRA, Regina de F.p.m.; KUHN, Raquel C.; PRIAMO, Wagner L.; TRES, Marcus V. Subcritical water hydrolysis of rice straw in a semi-continuous mode. **Journal Of Cleaner Production**, v. 209, p. 386-397, fev. 2019a.

ABAIDE, Ederson R.; UGALDE, Gustavo; LUCCIO, Marco di; MOREIRA, Regina de F.p.m.; TRES, Marcus V.; ZABOT, Giovani L.; MAZUTTI, Marcio A.. Obtaining fermentable sugars and bioproducts from rice husks by subcritical water hydrolysis in a semi-continuous mode. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 510-520, jan. 2019b.

ABAIDE, Ederson R.; TRES, Marcus V.; ZABOT, Giovani L.; MAZUTTI, Marcio A.. Reasons for processing of rice coproducts: reality and expectations. **Biomass And Bioenergy**, v. 120, p. 240-256, jan. 2019c.

ABBOTT, A. P.; BOOTHBY, D.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEED, R. K. Deep Eutetic Solvents Formed between Choline Chloride and Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids. **Jounal Of The American Chemical Society**, v. 126, n. 29, p. 9142-9147, 2004.

ALVES, Rosângela Cristina. INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR NA SOLUBILIZAÇÃO DE HEMICELULOSE E PRODUÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTÁVEIS. 2018. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia Aplicada, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2018.

AN, Yan-xia; ZONG, Min-hua; WU, Hong; LI, Ning. Pretreatment of lignocellulosic biomass with renewable cholinium ionic liquids: biomass fractionation, enzymatic digestion and ionic liquid reuse. : Biomass fractionation, enzymatic digestion and ionic liquid reuse. Bioresource Technology, v. 192, p. 165-171, set. 2015.

AZIZI, Najmedin; MARIAMI, Mahboobe; EDRISI, Mahtab. Greener construction of 4H-chromenes based dyes in deep eutectic solvent. **Dyes And Pigments**, v. 100, p. 215-221, jan. 2014.

BAE, Dong Hun; CHOI, Hyoung Jin; CHOI, Kisuk; NAM, Jae do; ISLAM, Md. Sakinul; KAO, Nhol. Fabrication of phosphate microcrystalline rice husk based cellulose particles and their electrorheological response. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p. 247-254, jun. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. . **Dados das safras de arroz**. 2020. Disponível em: https://www.gov.br/pt-br/servicos-estaduais/dados-das-safras-dearroz. Acesso em: 22 abr. 2020.

CHAKRABARTI, Mohammed Harun; MJALLI, Farouq Sabri; ALNASHEF, Inas Muen; HASHIM, Mohd. Ali; HUSSAIN, Mohd. Azlan; BAHADORI, Laleh; LOW, Chee Tong John. Prospects of applying ionic liquids and deep eutectic solvents for renewable energy storage by means of redox flow batteries. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p. 254-270, fev. 2014.

CHEN, Wenjun; XUE, Zhimin; WANG, Jinfang; JIANG, Jingyun; ZHAO, Xinhui; MU, Tiancheng. Investigation on the Thermal Stability of Deep Eutectic Solvents. **Acta Physico-Chimica Sinica**, v. 34, n. 8, p. 904-911, 2018a.

CHEN, Zhu; REZNICEK, Wesley D.; WAN, Caixia. Deep eutectic solvent pretreatment enabling full utilization of switchgrass. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 40-48, set. 2018b.

COCERO, María José. Supercritical water processes: future prospects. **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 134, p. 124-132, abr. 2018.

CONAB. A CULTURA DO ARROZ. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2020.

DAI, Y.; WITKAMP, G.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Tailoring Properties Of Natural Deep Eutectic Solvents With Water To Facilitate Their Applications. **Food Chemistry,** v. 187, p. 14-19, 2015.

DIAS, Mariana Carolina Gipiela Corrêa. **CARACTERIZAÇÃO DO SOLVENTE EUTÉTICO PROFUNDO APLICADO EM EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO**. 2016. 40 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016

FAKAYODE, Olugbenga Abiola; ABOAGARIB, Elmuez Alsir Ahmed; YAN, Dong; LI, Mo; WAHIA, Hafida; MUSTAPHA, Abdullateef Taiye; ZHOU, Cunshan; MA, Haile.

Novel two-pot approach ultrasonication and deep eutectic solvent pretreatments for watermelon rind delignification: parametric screening and optimization via response surface methodology. **Energy**, v. 203, p. 117872, jul. 2020.

FERREIRA, Ludmilla Janne Carvalho. **EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS E COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DE ÓLEO DE MILHO**. 2019. 34 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019.

FISCHER, Veronika; TOURAUD, Didier; KUNZ, Werner. Eco-friendly one pot synthesis of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) via an in-situ formed deep eutectic solvent. **Sustainable Chemistry And Pharmacy**, v. 4, p. 40-45, dez. 2016.

GOMES, Michelle Garcia; GURGEL, Leandro Vinícius Alves; BAFFI, Milla Alves; PASQUINI, Daniel. Pretreatment of sugarcane bagasse using citric acid and its use in enzymatic hydrolysis. **Renewable Energy**, v. 157, p. 332-341, set. 2020.

GRALÉN, Nils. Cellulose and cellulose derivatives (High polymers, Volume V, 2nd ed. In 3 parts). Emil Ott and Harold Spurlin, Coeditors; Asst. Editor, Mildred W. Grafflin. Interscience, New York-London, 1954.. **Journal Of Polymer Science**, v. 18, n. 89, p. 443-444, nov. 1955.

HU, Xun; GHOLIZADEH, Mortaza. Biomass pyrolysis: a review of the process development and challenges from initial researches up to the commercialisation stage. **Journal Of Energy Chemistry**, v. 39, p. 109-143, dez. 2019.

IBGE (Brasil). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatisticas. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 2020. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/home/Ispa/brasil. Acesso em: 22 abr. 2020.

ISLAM, Md. Sakinul; KAO, Nhol; BHATTACHARYA, Sati N.; GUPTA, Rahul; CHOI, Hyoung Jin. Potential aspect of rice husk biomass in Australia for nanocrystalline cellulose production. **Chinese Journal Of Chemical Engineering**, v. 26, n. 3, p. 465-476, mar. 2018.

JEONG, So-yeon et al. Pretreatment of Biomass. In: PANDEY, Ashok. **Processes** and **Technologies**. Elsevier, p. 259-264, 2015.

KUMAR, Adepu K.; PARIKH, Bhumika S.; PRAVAKAR, Mohanty. Natural deep eutectic solvent mediated pretreatment of rice straw: bioanalytical characterization of lignin extract and enzymatic hydrolysis of pretreated biomass residue. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9265-9275, 3 jun. 2015

KUMAR, M.; MISHRA, P. K.; UPADHYAY, S. N. Thermal degradation of rice husk: Effect of pre-treatment on kinetic and thermodynamic parameters. **Fuel**, v. 268, p. 117164 – 117179, 2020.

KUMARI, Dolly; SINGH, Radhika. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: a critical review. : A critical review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 90, n. 1, p. 877-891, jul. 2018.

LACHOS-PEREZ, D.; TOMPSETT, G.A.; GUERRA, P.; TIMKO, M.T.; ROSTAGNO, M.A.; MARTÍNEZ, Julian; FORSTER-CARNEIRO, T.. Sugars and char formation on subcritical water hydrolysis of sugarcane straw. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 1069-1077, nov. 2017.

LAU, B.b.y.; LUIS, E.t.; HOSSAIN, M.m.; HART, W.e.s.; CENCIA-LAY, B.; BLACK, J.j.; TO, T.q.; ALDOUS, L.. Facile, room-temperature pre-treatment of rice husks with tetrabutylphosphonium hydroxide: enhanced enzymatic and acid hydrolysis yields. : Enhanced enzymatic and acid hydrolysis yields. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 252-259, dez. 2015.

LI, Tengfei; MA, Hao; WU, Shubin; YIN, Yihui. Effect of highly selective oxypropylation of phenolic hydroxyl groups on subsequent lignin pyrolysis: toward the lignin valorization. : Toward the lignin valorization. **Energy Conversion And Management**, v. 207, p. 112551-112582, mar. 2020.

LI, Zhijian; YANG, Xiaohan; LI, Wei; LIU, Hanbin. Stimuli-responsive cellulose paper materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 210, p. 350-363, abr. 2019a.

LI, Zhuo; CUI, Yingna; LI, Changping; SHEN, Yongming. Deep desulfurization of fuels based on deep eutectic theory. **Separation And Purification Technology**, v. 219, p. 9-15, jul. 2019.b

LIAO, Yuhe; BEECK, Beau Op de; THIELEMANS, Karel; ENNAERT, Thijs; SNELDERS, Jeroen; DUSSELIER, Michiel; COURTIN, Christophe M.; SELS, Bert F.. The role of pretreatment in the catalytic valorization of cellulose. **Molecular Catalysis**, v. 487, p. 110883-110916, maio 2020.

LIU, Chen-guang; XIAO, Yi; XIA, Xiao-xia; ZHAO, Xin-qing; PENG, Liangcai; SRINOPHAKUN, Penjit; BAI, Feng-wu. Cellulosic ethanol production: progress, challenges and strategies for solutions. : Progress, challenges and strategies for solutions. Biotechnology Advances, v. 37, n. 3, p. 491-504, maio 2019.

LIU, X.; LI, T.; WU, S.; MA, H.; YIN, Y. Structural characterization and comparison of enzymatic and deep eutectic solvents isolated lignin from various green processes: Toward lignin valorization. **Bioresource Technology,** v. 310, p. 123460 – 123470, 2020.

LIU, Yongzhuang; CHEN, Wenshuai; XIA, Qinqin; GUO, Bingtuo; WANG, Qingwen; LIU, Shouxin; LIU, Yixing; LI, Jian; YU, Haipeng. Efficient Cleavage of Lignin-Carbohydrate Complexes and Ultrafast Extraction of Lignin Oligomers from Wood Biomass by Microwave-Assisted Treatment with Deep Eutectic Solvent. **Chemsuschem**, v. 10, n. 8, p. 1692-1700, 1 mar. 2017.

MA, Hui-hui; ZHANG, Bi-xian; ZHANG, Peng; LI, Shuang; GAO, Yun-fei; HU, Xiaomei. An efficient process for lignin extraction and enzymatic hydrolysis of corn stalk by pyrrolidonium ionic liquids. **Fuel Processing Technology**, v. 148, p. 138-145, jul. 2016.

MANZANARES, P.; NEGRO, M. J.; GONZÁLEZ, J. M.; BALLESTEROS, M. Processing of extracted olive oil pomace residue by hydrothermal or dilute acid pretreatment and enzymatic hydrolysis in a biorefinery context. **Renewable Energy**, v. 145, p. 1235-1245, 2020.

MENG, Yi; LU, Jie; CHENG, Yi; LI, Qiang; WANG, Haisong. Lignin-based hydrogels: a review of preparation, properties, and application. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 1006-1019, ago. 2019.

MISHRA, Shweta; KHARKAR, Prashant S.; PETHE, Anil M. Biomass and waste materials as potential sources of nanocrystalline cellulose: comparative review of preparation methods. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 418-427, mar. 2019.

MOTTA, Ingrid Lopes; MIRANDA, Nahieh Toscano; MACIEL FILHO, Rubens; MACIEL, Maria Regina Wolf. Biomass gasification in fluidized beds: A review of biomass moisture content and operating pressure effects. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 94, p. 998-1023, out. 2018.

MUKESH, Chandrakant; MONDAL, Dibyendu; SHARMA, Mukesh; PRASAD, Kamalesh. Choline chloride–thiourea, a deep eutectic solvent for the production of chitin nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, p. 466-471, mar. 2014.

MULEY, P. D.; MOBLEY, J. K.; TONG, X.; NOVAK, B.; STEVENS, J.; MOLDOVAN, D.; SHI, J. BOLDOR, D. Rapid microwave-assisted biomass delignification and lignin depolymerization in deep eutectic solvents. **Energy Conversion and Management**, v. 196, p. 1080-1088, 2019.

NAIDU, Darrel Sarvesh; HLANGOTHI, Shanganyane Percy; JOHN, Maya Jacob. Bio-based products from xylan: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 179, p. 28-41, jan. 2018.

NASCIMENTO, Rosana Colpani do. Avaliação de Fonte Herbal De Colina Como Alternativa Ao Cloreto de Colina Na Dieta Para Cães 2020. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2020.

NOR, Nur Atikah Md; MUSTAPHA, Wan Aida Wan; HASSAN, Osman. Deep Eutectic Solvent (DES) as a Pretreatment for Oil Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB) in Sugar Production. **Procedia Chemistry**, v. 18, p. 147-154, 2016.

OLIVEIRA, Mariana Roldi de. **HEMICELULOSE DE FIBRAS DE CURAUÁ (Ananas erectifolius):**: obtenção e caracterização de películas poliméricas. 2017. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Integridade de Materiais da Engenharia, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

PANG, Long; GAO, Zideng; FENG, Haojie; WANG, Shunyi; WANG, Qiuyun. Cellulose based materials for controlled release formulations of agrochemicals: a review of modifications and applications. : A review of modifications and applications. Journal Of Controlled Release, v. 316, p. 105-115, dez. 2019.

PENG, Baoliang; YAO, Zhaoling; WANG, Xiaocong; CROMBEEN, Mitchel; SWEENEY, Dalton G.; TAM, Kam Chiu. Cellulose-based materials in wastewater treatment of petroleum industry. **Green Energy & Environment**, v. 5, n. 1, p. 37-49, jan. 2020.

PERKINS, Greg; BATALHA, Nuno; KUMAR, Adarsh; BHASKAR, Thallada; KONAROVA, Muxina. Recent advances in liquefaction technologies for production of

liquid hydrocarbon fuels from biomass and carbonaceous wastes. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 115, p. 109400, nov. 2019.

PHAIBOONSILPA, Natthanon; OGURA, Mai; YAMAUCHI, Kazuchika; RABEMANOLONTSOA, Harifara; SAKA, Shiro. Two-step hydrolysis of rice (Oryza sativa) husk as treated by semi-flow hot-compressed water. **Industrial Crops And Products**, v. 49, p. 484-491, ago. 2013.

PHANTHONG, Patchiya; REUBROYCHAROEN, Prasert; HAO, Xiaogang; XU, Guangwen; ABUDULA, Abuliti; GUAN, Guoqing. Nanocellulose: extraction and application. **Carbon Resources Conversion**, v. 1, n. 1, p. 32-43, abr. 2018.

PODE, R. Potential applications of rice husk ash waste from rice husk biomass power plant. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 53, p. 1468-1485, 2016.

PROCENTESE, Alessandra; JOHNSON, Erin; ORR, Valerie; CAMPANILE, Anna Garruto; WOOD, Jeffery A.; MARZOCCHELLA, Antonio; REHMANN, Lars. Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent saccharification of corncob. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 31-36, set. 2015.

PROCENTESE, Alessandra; REHMANN, Lars. Fermentable Sugar Production from a Coffee Processing By-product after Deep Eutectic Solvent Pretreatment. **Bioresource Technology Reports**, v. 4, p. 174-180, dez. 2018.

PUTRINO, Fernando Marques; TEDESCO, Marcela; BODINI, Renata Barbosa; OLIVEIRA, Alessandra Lopes de. Study of supercritical carbon dioxide pretreatment processes on green coconut fiber to enhance enzymatic hydrolysis of cellulose. **Bioresource Technology**, v. 309, n. 1, p. 1-7, ago. 2020.

RABEMANOLONTSOA, Harifara; SAKA, Shiro. Various pretreatments of lignocellulosics. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 83-91, jan. 2016.

RASTOGI, Meenal; SHRIVASTAVA, Smriti. Recent advances in second-generation bioethanol production: an insight to pretreatment, saccharification and fermentation processes. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 80, p. 330-340, dez. 2017.

SALIBA, Eloísa de Oliveira Simões; RODRIGUEZ, Norberto Mário; MORAIS, Sérgio Antônio Lemos de; PILÓ-VELOSO, Dorila. Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 917-928, out. 2001.

SANTOS, Flávia Regina da Silva. **PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CELULASES E HEMICELULASES POR LINHAGENS FÚNGICAS MESÓFILAS ISOLADAS DO CERRADO SUL-MATO-GROSSENSE**. 2014. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2014.

SANTOS, Matheus Romeiro Manoel dos.**EMPREGO DE LÍQUIDOS IÔNICOS A BASE DE CLORETO DE COLINA (DEEP EUTECTIC SOLVENT) NO PROCESSO DE LAVAGEM DO BIODIESEL DE SOJA**. 2019. 103 .p. Dissertação (Mestrado) -Curso de Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2019.

SANTOS, Matheus Romeiro Manoel dos; SILVA, Edson Antonio da; TAVARES, Fernanda. PURIFICAÇÃO DO BIODIESEL DE ÓLEO DE SOJA POR MEIO DO EMPREGO DE LÍQUIDOS IÔNICOS ANÁLOGOS BASEADOS EM CLORETO DE COLINA. **The Journal Of Engineering And Exact Sciences**, v. 6, n. 2, p. 0139-0146, 17 jun. 2020.

SCHELL, Daniel J.; DOWE, Nancy; CHAPEAUX, Alexandre; NELSON, Robert S.; JENNINGS, Edward W.. Accounting for all sugars produced during integrated production of ethanol from lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 205, p. 153-158, abr. 2016.

SILVA, Elizabeth Gonçalves da. FERMENTAÇÃO DE LICOR DE HEMICELULOSE ADVINDO DO PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO BAGAÇO DE MALTE COM AS LEVEDURAS Scheffersomyces stipitis E Pachysolen tannophilus PARA PRODUÇÃO DE ETANOL 2G. 2019. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.

SINGH, Anita; BAJAR, Somvir; BISHNOI, Narsi R.. Enzymatic hydrolysis of microwave alkali pretreated rice husk for ethanol production by Saccharomyces cerevisiae, Scheffersomyces stipitis and their co-culture. **Fuel**, v. 116, p. 699-702, jan. 2014.

SINGH, Balvant S.; LOBO, Hyacintha R.; PINJARI, Dipak V.; JARAG, Krishna J.; PANDIT, Aniruddha B.; SHANKARLING, Ganapati S.. Ultrasound and deep eutectic solvent (DES): a novel blend of techniques for rapid and energy efficient synthesis of oxazoles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 287-293, jan. 2013.

SINGH, Sandip K.. Solubility of lignin and chitin in ionic liquids and their biomedical applications. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 265-277, jul. 2019.

SIWAL, Samarjeet Singh; ZHANG, Qibo; SUN, Changbin; THAKUR, Sourbh; GUPTA, Vijai Kumar; THAKUR, Vijay Kumar. Energy production from steam gasification processes and parameters that contemplate in biomass gasifier – A review. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122481, fev. 2020.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M.; SWIHART, M. T. Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química. 8. ed. São Paulo: Ltc, 2019. 584 p.

SUN, Shaoni; SUN, Shaolong; CAO, Xuefei; SUN, Runcang. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 49-58, jan. 2016.

SUXIA, Ren; HAIYAN, Xu; JINLING, Zhu; SHUNQING, Li; XIAOFENG, He; TINGZHOU, Lei. Furfural production from rice husk using sulfuric acid and a solid acid catalyst through a two-stage process. **Carbohydrate Research**, v. 359, p. 1-6, out. 2012.

TORRES-MAYANGA, P.C.; AZAMBUJA, S.P.H.; TYUFEKCHIEV, M.; TOMPSETT, G.A.; TIMKO, M.T.; GOLDBECK, R.; ROSTAGNO, M.A.; FORSTER-CARNEIRO, T.. Subcritical water hydrolysis of brewer's spent grains: selective production of hemicellulosic sugars (c-5 sugars). **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 145, p. 19-30, mar. 2019.

USMANI, Zeba; SHARMA, Minaxi; GUPTA, Pratishtha; KARPICHEV, Yevgen; GATHERGOOD, Nicholas; BHAT, Rajeev; GUPTA, Vijai Kumar. Ionic liquid based pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced bioconversion. **Bioresource Technology**, v. 304, p. 1-13, maio 2020.

VEDOVATTO, Felipe; UGALDE, Gustavo; BONATTO, Charline; BAZOTI, Suzana F.; TREICHEL, Helen; MAZUTTI, Marcio A.; ZABOT, Giovani L.; TRES, Marcus V.. Subcritical water hydrolysis of soybean residues for obtaining fermentable sugars. **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 167, p. 105043-105055, jan. 2021.

VIEIRA, C. F. S. Seleção e melhoramento de leveduras capazes de fermentar pentoses através de engenharia evolutiva. 2016. 111 f. Dissertação (Mestrado em

Engenharia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP, 2016.

VINOD, A.; SANJAY, M.r.; SUCHART, Siengchin; JYOTISHKUMAR, Parameswaranpillai. Renewable and sustainable biobased materials: an assessment on biofibers, biofilms, biopolymers and biocomposites. : An assessment on biofibers, biofilms, biopolymers and biocomposites. **Journal Of Cleaner Production**, v. 258, p. 120978-121002, jun. 2020.

WOICIECHOWSKI, A. L.; DALMAS NETO, C. J.; VANDENBERGUE, L. P. S.; CARVALHO NETO, D. P.; SYDNEY, A. C. N.; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; TORRES, L. A. Z.; SOCCOL, C. R. Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance: Conventional processing and recent advances. **Bioresource Tecnology**, v. 304, p. 1-9, 2020.

XU, Guo-chao; DING, Ji-cai; HAN, Rui-zhi; DONG, Jin-jun; NI, Ye. Enhancing cellulose accessibility of corn stover by deep eutectic solvent pretreatment for butanol fermentation. **Bioresource Technology**, v. 203, p. 364-369, mar. 2016.

XU, Huanfei; PENG, Jianjun; KONG, Yi; LIU, Yaoze; SU, Zhenning; LI, Bin; SONG, Xiaoming; LIU, Shiwei; TIAN, Wende. Key process parameters for deep eutectic solvents pretreatment of lignocellulosic biomass materials: a review. **Bioresource Technology**, v. 310, p. 123416-123430, ago. 2020.

ZHANG, Cheng-Wu; XIA, Shu-Qian; MA, Pei-Sheng. Facile pretreatment of lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 1-5, nov. 2016.

ZHANG, Qi; ZHANG, Pengfei; PEI, Z.j.; WANG, Donghai. Relationships between cellulosic biomass particle size and enzymatic hydrolysis sugar yield: analysis of inconsistent reports in the literature. : Analysis of inconsistent reports in the literature. Renewable Energy, v. 60, p. 127-136, dez. 2013.

ZHAO, Yiping; WANG, Peng; ZHENG, Wei; YU, Guowei; LI, Zuguang; SHE, Yuanbin; LEE, Mawrong. Three-stage microwave extraction of cumin (Cuminum cyminum L.) Seed essential oil with natural deep eutectic solvents. **Industrial Crops And Products**, v. 140, p. 111660, nov. 2019.