

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

Bárbara Pezzini Moreira

**AVALIAÇÃO INTEGRADA DO PRÉ-TRATAMENTO DO FARELO DE ARROZ  
DESENGORDURADO COM SOLVENTES EUTÉTICOS E POSTERIOR  
HIDRÓLISE COM ÁGUA SUBCRÍTICA**

Santa Maria, RS  
2022

Bárbara Pezzini Moreira

**AVALIAÇÃO INTEGRADA DO PRÉ-TRATAMENTO DO FARELO DE ARROZ  
DESENGORDURADO COM SOLVENTES EUTÉTICOS E POSTERIOR  
HIDRÓLISE COM ÁGUA SUBCRÍTICA**

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. Dra. Fernanda de Castilhos  
Co-orientador: Prof. Dr. Ederson Rossi Abaide

Santa Maria, RS

2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Moreira, Bárbara Pezzini

AVALIAÇÃO INTEGRADA DO PRÉ-TRATAMENTO DO FARELO DE ARROZ DESENGORDURADO COM SOLVENTES EUTÉTICOS E POSTERIOR HIDRÓLISE COM ÁGUA SUBCRÍTICA / Bárbara Pezzini Moreira.- 2022.

76 f.; 30 cm

Orientadora: Fernanda de Castilhos

Coorientador: Ederson Rossi Abaide

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, RS, 2022

1. Hidrólise com água subcrítica 2. Pré-tratamento com solvente eutético 3. Farelo de arroz I. de Castilhos, Fernanda II. Rossi Abaide, Ederson 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.

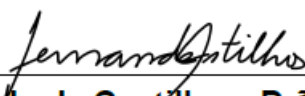
Declaro, BÁRBARA PEZZINI MOREIRA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Bárbara Pezzini Moreira**

**AVALIAÇÃO INTEGRADA DO PRÉ-TRATAMENTO DO FARELO DE ARROZ  
DESENGORDURADO COM SOLVENTES EUTÉTICOS E POSTERIOR  
HIDRÓLISE COM ÁGUA SUBCRÍTICA**

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**.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2022



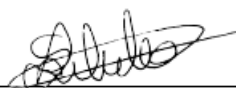
---

**Fernanda de Castilhos, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**  
(Presidente/Orientadora)



---

**Flávio Dias Mayer, Dr. (UFSM)**



---

**Sarita Cândida Rabelo, Dr<sup>a</sup>. (UNESP)**

Santa Maria, RS  
2022

*À minha mãe, Débora Pezzini Moreira, por ser meu esteio e minha inspiração para  
seguir em frente*

*Dedico também ao meu pai, Adalécio Gomes Moreira, que mesmo tendo partido,  
sempre estará no meu coração como motivador para minhas conquistas.*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, Débora Pezzini Moreira, pelo amor incondicional e apoio nessa jornada.

Ao meu amor, Julio Portes da Silva Neto, por todo apoio, paciência e companheirismo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Fernanda de Castilhos, pela confiança e por todos ensinamentos.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Ederson Rossi Abaide, por todo auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao meu professor e amigo, Dr. Daniel Lachos Perez por toda ajuda e motivação.

À minha colega, Crisleine Perinazzo Draszewski pela ajuda durante este processo.

Ao meu colega, João Cláudio Martins Vieira, pelo auxílio e troca de conhecimento.

À todos meus sinceros agradecimentos.

*“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”. (Roger Von Oech)*

## RESUMO

### AVALIAÇÃO INTEGRADA DO PRÉ-TRATAMENTO DO FARELO DE ARROZ DESENGORDURADO COM SOLVENTES EUTÉTICOS E POSTERIOR HIDRÓLISE COM ÁGUA SUBCRÍTICA

AUTOR: Bárbara Pezzini Moreira

ORIENTADOR: Prof. Dra. Fernanda de Castilhos

Co-orientador: Prof. Dr. Ederson Rossi Abaide

Nesta dissertação, o farelo de arroz desengordurado foi submetido a pré-tratamentos com solventes eutéticos visando a deslignificação e o enriquecimento no conteúdo de carboidratos. A biomassa foi completamente caracterizada. 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. Foram avaliadas as alterações nos grupos funcionais relativos à celulose e hemiceluloses para os pré-tratamentos na temperatura de 120 °C com uma razão biomassa/solvente eutético de 1:10 em 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 o melhor tempo foi o de 4 horas. A análise termogravimétrica (TGA) do sólido restante indicou que o maior grau de deslignificação (redução de 2,5 vezes) e o maior conteúdo de hemiceluloses (44,1%) foi obtido com a mistura entre Cloreto de Colina: Ureia com água. No entanto, ensaios preliminares mostraram que o uso desta amostra para posterior hidrólise subcrítica foi operacionalmente inviável. Assim, o solvente eutético mais adequado para o pré-tratamento foi o formado por Cloreto de colina:Glicerol, que gerou um grau de deslignificação de 1,3 vezes, apresentou uma mudança no conteúdo de celulose de 27,8% para 11,3% e aumentou o teor de hemiceluloses de 11,6% para 40,1%, quando comparadas as amostras *in natura* e pré-tratada. A hidrólise subcrítica foi realizada em reator no modo de operação semi-contínuo. As variáveis do processo avaliadas foram a temperatura (230 e 260 °C) e a razão mássica entre solvente/alimentação (R-50 e R-100). O tempo total de reação foi de 20 min com uma pressão fixa de 10 MPa. O maior rendimento em açúcares fermentescíveis ( $14,37 \pm 1,12$  g/100 g de biomassa) foi obtido a 260 °C /R-100 para as amostras de farelo de arroz desengordurado pré-tratadas com o solvente cloreto de colina:glicerol. O farelo de arroz desengordurado submetido ao pré-tratamento apresentou um rendimento em açúcares 2,20 vezes maior comparado às amostras *in natura*.

**Palavras-chave:** Biomassa lignocelulósica. Cloreto de Colina. Glicerol. Ureia.



## ABSTRACT

### INTEGRATED EVALUATION OF THE PRE-TREATMENT OF DEGREASED RICE BRAN WITH DEEP EUTETIC SOLVENTS AND SUBCRITICAL HYDROLYSIS WITH SUBCRITICAL WATER

AUTHOR: Bárbara Pezzini Moreira

ADVISOR: Prof. Dra. Fernanda de Castilhos

CO-ADVISOR: Prof. Dr. Ederson Rossi Abaide

In this dissertation, defatted rice bran was subjected to pre-treatments with deep eutectic solvents aiming at delignification and enrichment in carbohydrate content. The biomass was completely characterized. Four mixtures of eutectic solvents were evaluated: Choline Chloride: Glycerol, Choline Chloride: Glycerol with water, Choline Chloride: Urea and Choline Chloride: Urea with water. Changes in functional groups related to cellulose and hemicelluloses were evaluated for pretreatments at 120 °C with a 1:10 biomass/eutectic solvent ratio at 2, 4 and 6h using Fourier transform infrared spectrophotometry (FT-IR). For the pre-treatments with the 4 mixtures of eutectic solvents, the best time was 4 hours. Thermogravimetric analysis (TGA) of the remaining solid indicated that the highest degree of delignification (2.5-fold reduction) and the highest hemicellulose content (44.1%) was obtained with the mixture of Choline Chloride: Urea with water. However, preliminary essays showed that the use of this operational sample for further analysis was unfeasible. Thus, the most suitable eutectic solvent for pretreatment was the one formed by Choline Chloride:Glycerol, which generated a degree of delignification of 1.3 times, showed a change in cellulose content from 27.8% to 11.3 % and increased the hemicellulose content from 11.6% to 40.1%, when comparing the *in natura* and pre-treated samples. Subcritical hydrolysis was carried out in a reactor in semi-continuous mode. The process variables evaluated were the temperature (230 and 260 °C) and the mass ratio between solvent/feed (R-50 and R-100). The total reaction time was 20 min in a fixed pressure of 10 MPa. The highest yield of fermentable sugars ( $14.37 \pm 1.12$  g/100 g of biomass) was obtained at 260 °C /R-100 for the defatted rice bran samples pre-treated with the solvent Choline Chloride:Glycerol. The defatted rice bran submitted to pre-treatment showed a yield of sugars 2.20 times higher compared to *in natura* samples.

**Keywords:** Lignocellulosic biomass. Choline Chloride. Glycerol. Urea

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Composição do núcleo do arroz.....	15
Figura 2. Diagrama esquemático do processamento do arroz .....	16
Figura 3. Estrutura celulose.....	18
Figura 4. Regiões cristalina e amorfa da celulose .....	19
Figura 5. Formação de 5-HMF e dos ácidos levulínico e fórmico.....	19
Figura 6. Principais compostos da estrutura das hemiceluloses .....	20
Figura 7. Formação do furfural a partir da xilose.....	21
Figura 8. Principais álcoois constituintes da lignina .....	21
Figura 9. Processos de conversão da biomassa lignocelulósica.....	22
Figura 10. Estado físico da água em diferentes temperaturas e pressões.....	25
Figura 11. Variações da constante dielétrica da água em função da temperatura a pressão constante .....	26
Figura 12. Fluxograma de unidade de multipropósitos em sistema semi-contínuo ...	27
Figura 13. Efeito do pré-tratamento na estrutura lignocelulósica .....	29
Figura 14. Formação da ligação entre um AH (Cloreto de Colina) e um DH.....	31
Figura 15. Molécula do Cloreto de Colina .....	33
Figura 16. Compostos usados como DHs.....	33
Figura 17. Diagrama esquemático da metodologia aplicada.....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Diferentes composições do farelo de arroz .....	17
Tabela 2. Números de trabalhos publicados na plataforma <i>Science Direct</i> referentes a busca “ <i>deep eutectic solvents</i> ” .....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>2G</b>	Segunda Geração
<b>AH</b>	Aceitadores de Hidrogênio
<b>CLAE</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>CIC</b>	Cloreto de Colina
<b>DES</b>	<i>Deep eutectic solvent</i>
<b>DH</b>	Doadores de Hidrogênio
<b>FTIR</b>	Espectrofotometria no Infravermelho com Transformada de Fourier
<b>Gli</b>	Glicerol
<b>HAS</b>	Hidrólise com água subcrítica
<b>HMF</b>	5-Hidroximetilfurfural
<b>TGA</b>	Análise Termogravimétrica
<b>U</b>	Ureia

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1	OBJETIVOS .....	14
1.1.1	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>14</b>
1.1.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>15</b>
2.1	FARELO DE ARROZ.....	15
<b>2.1.1</b>	<b>Composição do Farelo de arroz</b> .....	<b>17</b>
2.1.1.1	<i>Celulose</i> .....	18
2.1.1.2	<i>Hemiceluloses</i> .....	19
2.1.1.3	<i>Lignina</i> .....	21
2.2	PROCESSOS DE CONVERSÃO DE BIOMASSA .....	22
<b>2.2.1</b>	<b>Hidrólise</b> .....	<b>23</b>
2.2.1.1	<i>Hidrólise sub/supercrítica</i> .....	24
2.3	PRÉ-TRATAMENTO .....	28
<b>2.3.1</b>	<b>Solventes eutéticos</b> .....	<b>30</b>
2.3.1.1	<i>Propriedades dos AHs e DHs</i> .....	32
2.3.1.2	<i>Aplicações dos solventes eutéticos</i> .....	34
<b>3</b>	<b>ESTADO DA ARTE</b> .....	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>ARTIGO</b> .....	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	<b>67</b>
<b>6</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>70</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Diante do cenário energético atual, onde há uma crescente preocupação com o esgotamento dos combustíveis de origem fóssil, o incentivo a busca por recursos renováveis como matéria-prima para a produção de combustíveis está cada vez maior. Nesse contexto a biomassa lignocelulósica é considerada uma alternativa para produção de biocombustíveis renováveis devido à sua capacidade de conversão e ampla disponibilidade (NEW *et al.*, 2019). As principais fontes de biomassa lignocelulósica são resíduos do tipo florestais, agrícolas, sólidos urbanos orgânicos e industriais, como madeira, papel e celulose (ASHOKKUMAR *et al.*, 2022).

O arroz (*Oryzae sativa*) é uma das principais culturas de cereais em todo o mundo (SOHAIL *et al.*, 2017) No Brasil, segundo o boletim da CONAB (2021), a produção de arroz na safra de 2020/2021 foi de, aproximadamente, 11,7 milhões de toneladas, dos quais 8,27 milhões de toneladas foram produzidos no estado do Rio Grande do Sul. O processamento para obtenção do arroz branco polido gera alguns coprodutos sólidos, como a casca, a palha e o farelo de arroz (ABAIDE *et al.*, 2019a)

O farelo de arroz é um coproduto proveniente do processo de moagem do arroz, que é geralmente utilizado como ração animal e na extração de óleo (SOARES *et al.*, 2016). Este farelo é composto por um grande teor de nutrientes, que podem ser explorados para geração de produtos com maior valor agregado. Além disso contém alto teor de carboidratos, possibilitando seu uso como um recurso renovável para geração de biocompostos. Após a extração do óleo do farelo de arroz, o subproduto gerado é chamado de farelo de arroz desengordurado, e sua fração lignocelulósica (35–50%) também pode ser utilizada para produção de biocombustíveis, como etanol de segunda geração (LI *et al.*, 2020).

Para produção de etanol de segunda geração a partir de uma biomassa lignocelulósica, é necessário primeiramente promover a dissociação da celulose e das hemiceluloses em seus açúcares monoméricos, que serão submetidos ao processo de fermentação. Os processos geralmente utilizados para essa dissociação são a hidrólise ácida e a hidrólise enzimática. No entanto, ambos os processos apresentam desvantagens associadas à aplicação industrial. Na hidrólise ácida, ocorre a formação de produtos inibidores que afetam a subsequente fermentação e o uso de alguns ácidos pode ocasionar a corrosão em equipamentos, enquanto a hidrólise enzimática apresenta um alto custo e longo tempo de reação (ABAIDE *et al.*, 2019b).

Diante das desvantagens associadas aos processos citados, vem crescendo a quantidade de estudos que aplicam a hidrólise subcrítica para promover a dissociação da celulose e das hemiceluloses presentes em diferentes biomassas lignocelulósicas. O uso da água apresenta vantagens em comparação aos reagentes utilizados na hidrólise ácida e enzimática, como uma menor geração de resíduos e produtos inibidores, tempos de reação mais curtos, redução na corrosão gerada, menor custo e não emprego de solventes tóxicos (LACHOS-PEREZ *et al.*, 2016). Alguns trabalhos que aplicam a hidrólise com água subcrítica (HAS) no farelo de arroz desengordurado para obtenção de açúcares e outros compostos com valor agregado podem ser encontrados na literatura (WATCHARARUJI *et al.* (2008), SUNPHORKA *et al.* (2012)).

No processo de conversão de biomassa lignocelulósica em açúcares e bioprodutos, é importante a aplicação de uma etapa de pré-tratamento para aumentar o rendimento da posterior etapa de hidrólise. Várias técnicas podem ser empregadas no pré-tratamento da biomassa, incluindo métodos físicos, químicos, biológicos e físico-químicos. Os métodos físico-químicos e químicos são considerados os processos de pré-tratamento mais eficientes no aumento do rendimento da hidrólise (ASHOKKUMAR *et al.*, 2022). No entanto, os produtos químicos comumente utilizados para o pré-tratamento, incluindo ácidos, bases, sais inorgânicos e líquidos iônicos, possuem algumas desvantagens como alta degradação do açúcar, alta corrosividade, baixo potencial de reciclabilidade, alto custo e alta necessidade de energia (OKUOFU *et al.*, 2020).

Neste contexto, o emprego dos solventes eutéticos (DES – *Deep Eutectic Solvents*) surgem como uma nova alternativa para o fracionamento da biomassa lignocelulósica e deslignificação. O DES é uma mistura de dois ou mais produtos químicos, onde um atua como doador de ligações de hidrogênio (DH) e o outro como aceitador de ligações de hidrogênio (AH) (MULEY *et al.*, 2019). As ligações de hidrogênio formadas são responsáveis por diminuir o ponto de fusão da mistura em comparação com os compostos individuais (WANG; LEE, 2021). Os DESs possuem muitas características favoráveis, incluindo a disponibilidade de matérias-primas, fácil síntese, propriedades ajustáveis, biodegradabilidade e reciclabilidade satisfatória (ZHOU *et al.*, 2022). Os DESs já foram aplicados no pré-tratamento de diferentes coprodutos de arroz, como a casca e a palha, visando a deslignificação da estrutura lignocelulósica e o aumento no rendimento de açúcares (LI *et al.*, 2018; NAGOOR GUNNY *et al.*, 2019).

A partir do presente contexto, da necessidade de se conhecer diferentes rotas tecnológicas para processamento de biomassas lignocelulósicas, avaliando a integração de tecnologias, o uso de solventes eutéticos para o pré-tratamento do farelo de arroz desengordurado e a sequencial hidrólise subcrítica em modo de operação semi-contínuo do material é foco deste trabalho. O aumento no rendimento e eficiência deste processamento será avaliado a partir das principais respostas, como a mudança na composição lignocelulósica a partir do pré-tratamento e a composição das soluções hidrolisadas na etapa sequencial.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o emprego do pré-tratamento do farelo de arroz desengordurado com solventes eutéticos na modificação na estrutura lignocelulósica bem como no rendimento de açúcares fermentescíveis e bioprodutos obtidos pelo processamento do material pré-tratado utilizando hidrólise com água subcrítica.

### 1.1.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar o farelo de arroz desengordurado em relação a composição lignocelulósica e os grupos funcionais na superfície;
2. Avaliar o efeito do pré-tratamento do farelo de arroz desengordurado utilizando diferentes misturas de solventes eutéticos sob as modificações na composição lignocelulósica da biomassa;
3. A partir de farelo de arroz desengordurado pré-tratado e o *in natura*, avaliar o processo de hidrólise com água subcrítica, com relação as variáveis razão solvente/alimentação e temperatura, por meio do rendimento, eficiência e do perfil cinético de açúcares fermentescíveis e bioprodutos.

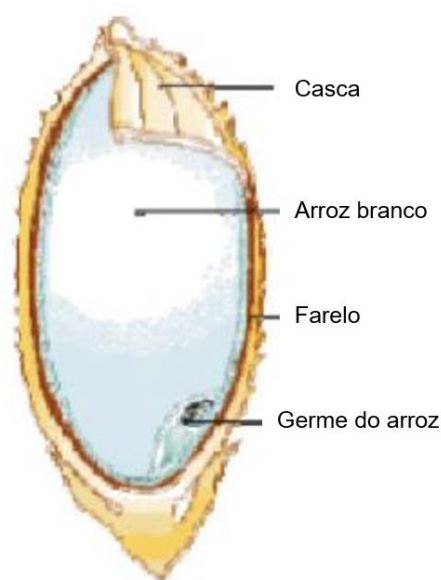


## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 FARELO DE ARROZ

O farelo de arroz é um dos coprodutos gerados no processo de obtenção de arroz branco polido, juntamente com a casca e a palha de arroz. O farelo é obtido durante a moagem da camada externa do arroz descascado representando 10% da massa total do grão de arroz (Figura 1) (GUL *et al.*, 2015). No Brasil, a produção de arroz na safra 2020/2021 foi de 11,7 milhões de toneladas (CONAB, 2021), o que implica na geração de aproximadamente 1,17 milhões de toneladas de farelo de arroz.

Figura 1. Composição do núcleo do arroz



Fonte: Anal, 2018

Em sua maioria, o farelo de arroz gerado é utilizado para alimentação animal, enquanto uma pequena quantidade é utilizada industrialmente para extração de óleo (BENITO-ROMÁN *et al.*, 2019). O sólido restante da extração do óleo é denominado farelo de arroz desengordurado, que é geralmente descartado ou utilizado para diminuir o custo da ração animal (HATA *et al.*, 2008). A Figura 2 apresenta um diagrama esquemático do processamento de arroz, ilustrando os coprodutos gerados em cada etapa.

Figura 2. Diagrama esquemático do processamento do arroz



Fonte: adaptado de Anal, 2018

### 2.1.1 Composição do Farelo de arroz

O farelo de arroz é rico em proteínas (13-19%), gorduras (9-23%), fibras (20-33%), amido (16-27%), vitaminas e minerais (9-29%), além de conter compostos fenólicos e antioxidantes lipofílicos, como tocoferóis, tocotrienóis e  $\gamma$ -orizanol. Esses compostos podem ser extraídos do farelo e utilizados na obtenção de produtos com maior valor agregado. Óleo de farelo de arroz, por exemplo, tem se tornado potencialmente interessante para a indústria alimentícia pela possibilidade de sua utilização como óleo de fritura (ANAL, 2018; LIU *et al.*, 2021). Segundo dados apresentados por Pal e Pratap (2017), a Índia foi o principal produtor de óleo de farelo de arroz entre 2015 e 2016, com 427,7 mil toneladas produzidas, seguida da China, com uma produção de 90 mil toneladas métricas.

Além dos componentes funcionais, o farelo de arroz também apresenta em sua composição celulose, hemiceluloses e lignina. A composição lignocelulósica do farelo de arroz pode variar de acordo com a variedade do grão, bem como com a safra/região. A Tabela 1 mostra composições do farelo de arroz relatadas em diferentes estudos.

Tabela 1. Diferentes composições do farelo de arroz

Celulose	Hemiceluloses	Lignina	Outros	Fonte
15,5%	31,1%	11,5%	41,8%	Sunphorka <i>et al.</i> 2012
35%	20%	-	45%	Qi <i>et al.</i> 2015
20%	18%	32%	30%	Wen <i>et al.</i> 2017
35%	15%	16%	34%	Favaro <i>et al.</i> 2017
42%	20%	18%	-	Li <i>et al.</i> 2020
42%	26%	22%	-	Sivaramakrishnan <i>et al.</i> 2021

Fonte: Autoria própria

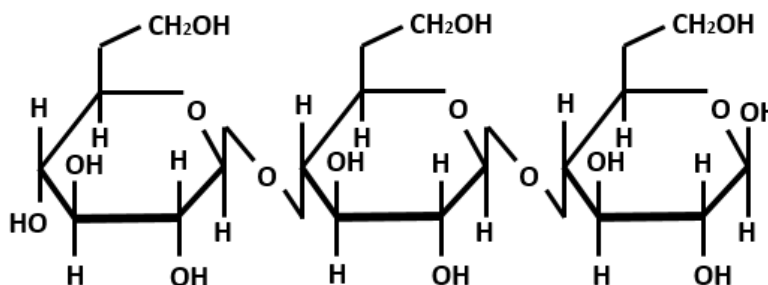
Para o farelo de arroz desengordurado o estudo de Sunphorka *et al.* (2012) relata valores levemente distintos na composição lignocelulósica quando comparado ao farelo de arroz com óleo, sendo 16% de celulose, 29,8% de hemiceluloses e 12,7% de lignina. O conteúdo lignocelulósico do farelo de arroz desengordurado permite que este seja utilizado para obtenção de produtos com maior valor agregado, como açúcares fermentescíveis utilizados na produção de etanol de segunda geração.

Sendo assim, se torna necessário o conhecimento da organização estrutural da celulose, das hemiceluloses e da lignina na matriz lignocelulósica.

### 2.1.1.1 Celulose

A celulose, um polissacarídeo macromolecular linear, é o principal constituinte da parede celular de um vegetal, conferindo-lhe rigidez e estabilidade. Este polissacarídeo consiste em uma cadeia longa de unidades de glicose ligadas por ligações de  $\beta$ -(1,4) glicosídico (Figura 3) e é o principal componente da biomassa lignocelulósica. Por estar presente em diversos tipos de biomassa, é considerado o recurso orgânico renovável mais abundante do planeta (WANG *et al.*, 2017). Devido as características de biocompatibilidade, estereorregularidade, hidrofiliidade e grupos hidroxila reativos, a celulose é um recurso flexível para produção de materiais como filmes, compostos, fibras, combustíveis e produtos químicos (ASHOKKUMAR *et al.*, 2022).

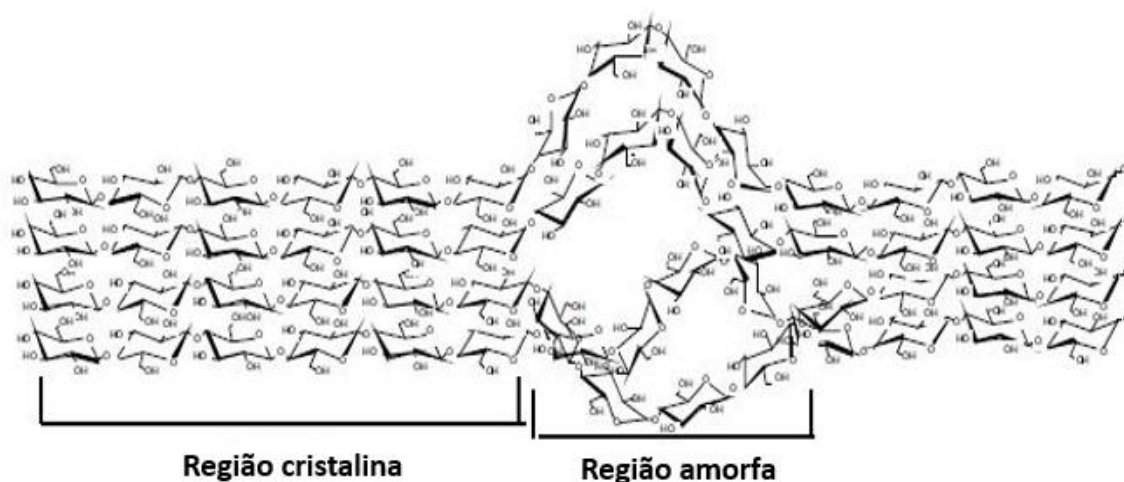
Figura 3. Estrutura celulose



Fonte: adaptado de Hammed *et al.*, 2019

A celulose apresenta duas formas estruturais, uma cristalina e uma amorfa, como apresentada na Figura 4. A estrutura cristalina é formada através de ligações de hidrogênio e forças de van der Waals estabelecidas com as cadeias de celulose vizinhas, tornando-a insolúvel em água e alguns solventes orgânicos comuns. Já na estrutura amorfa as redes de ligações de hidrogênio são mal organizadas, facilitando a sua ruptura e a biodegradação quando comparada com a forma cristalina (YANG; CHING; CHUAH, 2019).

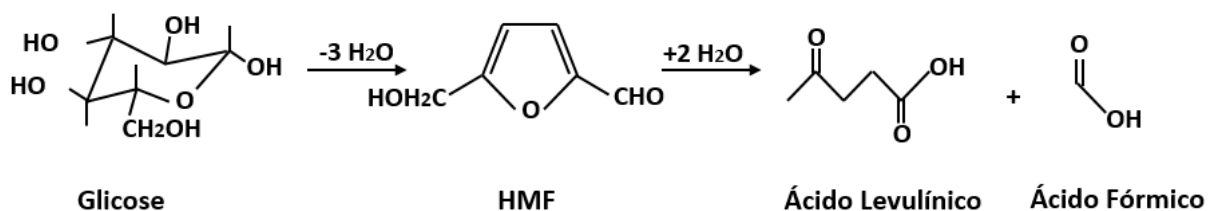
Figura 4. Regiões cristalina e amorfa da celulose



Fonte: Farinas, 2011

A estrutura da celulose pode ser hidrolisada em unidades de glicose por meio de diferentes vias, como a utilização de ácidos ou enzimas. No entanto, independente da via escolhida para a conversão, é necessário avaliar as condições do processo a fim de que a formação de compostos de degradação, como o 5-hidroxi metilfurfural (5-HMF), o ácido levulínico e o ácido fórmico (Figura 5), seja minimizada. O 5-HMF é um furaldeído originado de reações de desidratação de hexoses, e sua presença confere ao composto a característica de baixa hidrofobicidade e permeabilidade à membrana, que acarreta em baixas velocidades de conversão. Em temperaturas elevadas, o 5-HMF pode se decompor em ácido levulínico e ácido fórmico (TOSCAN, 2013).

Figura 5. Formação de 5-HMF e dos ácidos levulínico e fórmico



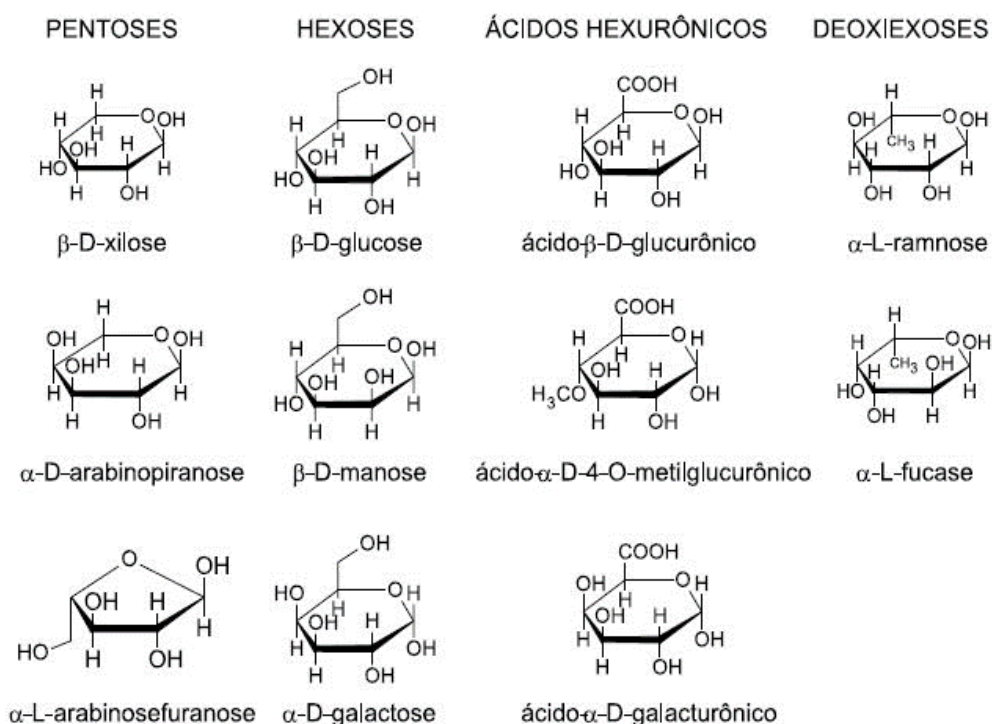
Fonte: adaptado de Rasmussen; Sørensen; Meyer, 2014.

### 2.1.1.2 Hemiceluloses

As hemiceluloses são polímeros constituídos de polissacarídeos heterogêneos de cadeia curta, formados por unidades de pentoses como a xilose e arabinose, hexoses como a manose, a glicose e a galactose, bem como alguns ácidos urônicos

(GÍRIO *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2017). A Figura 6 apresenta os principais compostos das hemiceluloses. A natureza amorfa das hemiceluloses, bem como um baixo grau de polimerização e a possível submissão em processos de pré-tratamento aumentam seu uso em várias aplicações industriais, como na produção de hidrogéis, carreadores de medicamentos e cosméticos (ASHOKKUMAR *et al.*, 2022).

Figura 6. Principais compostos da estrutura das hemiceluloses

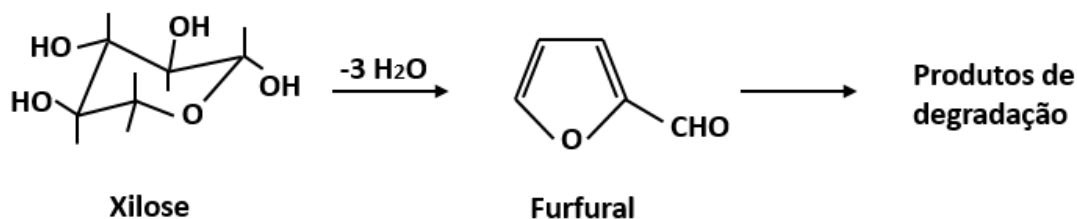


Fonte: Morais *et al.*, 2005.

Os grupos acetatos próprios das hemiceluloses, ligados aleatoriamente aos grupos hidroxila dos açúcares fornecem mais oportunidades para alterações químicas e enzimáticas regioseletivas do que a celulose, devido à diversidade nos conteúdos de açúcar, conexões glicosídicas e os compostos reativos na unidade de repetição de xilose (YOUSUF; PIROZZI; SANNINO, 2019). Essas alterações químicas podem ser efetuadas a partir de diferentes tratamentos. O tratamento ácido, por exemplo, é capaz de romper ligações glicosídicas e despolimerizar as hemiceluloses, aumentando ao mesmo tempo o potencial de desidratação dos monômeros liberados na hidrólise. A água em altas temperaturas e pressões possui a capacidade de hidrolisar as hemiceluloses, provocando a liberação de ácidos como o ferúlico, cumárico e acético, que posteriormente agem como catalisadores de reação e provocam a auto hidrólise da biomassa (SOREK *et al.*, 2014).

As pentoses geradas após a hidrólise das hemiceluloses, como a xilose e a arabinose, podem sofrer uma desidratação formando o furfural como principal produto, como mostra a Figura 7. O furfural é um composto que causa efeitos inibitórios no crescimento de microrganismos na posterior fermentação do produto hidrolisado (CHOI et al., 2015; LIN; QIAO; YUAN, 2009).

Figura 7. Formação do furfural a partir da xilose

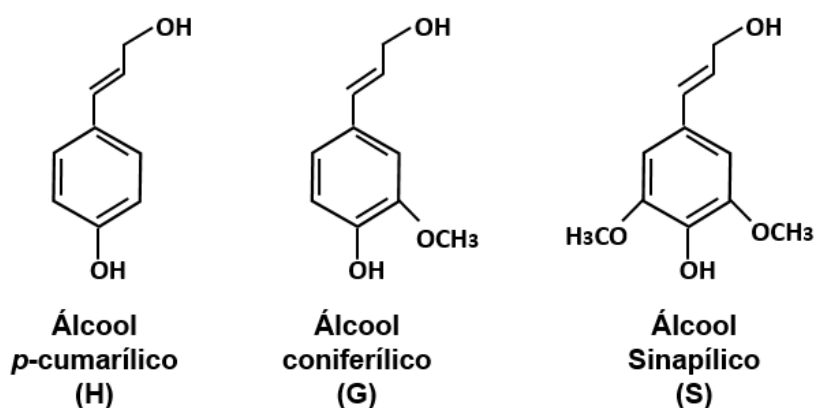


Fonte: adaptado de Marabezi, 2009

### 2.1.1.3 Lignina

A lignina é uma macromolécula que envolve parcialmente os polissacarídeos da parede celular da planta, sendo composta por três componentes fenólicos principais, o álcool p-cumarílico, o álcool coniferílico e o álcool sinapílico (Figura 8). A lignina é responsável por fornecer suporte mecânico e elástico, bem como facilitar o transporte de água e nutrientes, fornecendo uma barreira química para patógenos microbianos (DAVISON *et al.*, 2013; MENON; RAO, 2012). Essa barreira também protege as ações de agentes químicos e físicos, influenciando significativamente no processo de hidrólise da celulose e das hemiceluloses, o que torna a lignina o principal causador da recalcitrância (TOSCAN, 2013).

Figura 8. Principais álcoois constituintes da lignina



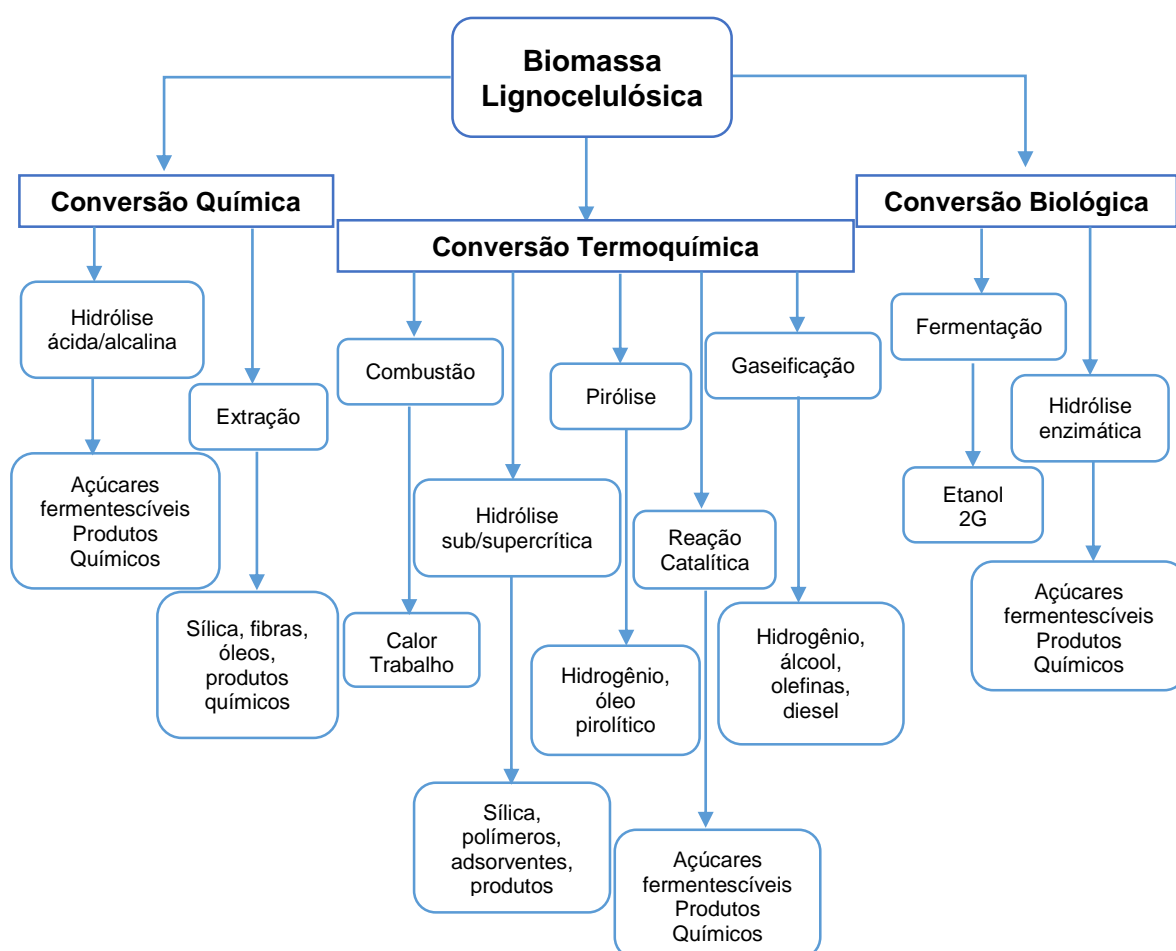
Fonte: adaptado de Yousuf; Pirozzi; Sannino, 2019

Por funcionar como uma cola celular, preenchendo a lacuna entre as fibras de celulose e a tez das hemiceluloses e mantendo os polissacarídeos unidos, torna-se difícil a remoção completa da lignina da estrutura lignocelulósica (ZOGHLAMI; PAËS, 2019). Processos de pré-tratamento altamente severos, como a utilização de ácidos, bases, agentes de oxidação, solventes e agentes físicos como calor e pressão, são capazes de remover a lignina da estrutura em diferentes proporções (TOSCAN, 2013).

## 2.2 PROCESSOS DE CONVERSÃO DE BIOMASSA

A conversão da biomassa lignocelulósica pode ser realizada a partir de diferentes métodos conhecidos, que podem ser mecânicos, químicos, bioquímicos e termoquímicos, como mostra a Figura 9. No entanto, o método mais adequado a ser empregado industrialmente depende das características da biomassa utilizada.

Figura 9. Processos de conversão da biomassa lignocelulósica



Fonte: desenvolvida pelo autor



Os processos mecânicos utilizam moinhos e peneiras para redução do tamanho das partículas, eliminação de certas impurezas e classificação da matéria-prima (SILVA *et al.*, 2012). Os processos químicos realizam alterações na estrutura química das moléculas da substância processada ao reagir com outros compostos. Em uma biorrefinaria, por exemplo, a hidrólise pode ser citada como processo químico típico, promovendo a despolimerização de carboidratos nos componentes requeridos (VELVIZHI *et al.*, 2022).

Os processos termoquímicos são realizados na presença de calor, sendo possível a utilização de catalisadores. Os principais métodos são a combustão, a gaseificação, a liquefação e a pirólise (SINGH *et al.*, 2016). A combustão é o processo mais amplamente utilizado para a conversão de biomassa, sendo considerada uma tecnologia de baixo custo disponível comercialmente (ZHANG; XU; CHAMPAGNE, 2010). A liquefação é realizada em ambiente aquoso a temperaturas que variam de 200 a 380 °C, convertendo a biomassa em um óleo bruto renovável com grande poder calorífico e outros subprodutos (SAHOO *et al.*, 2021). Já a gaseificação converte a biomassa em combustíveis gasosos ricos em energia como H<sub>2</sub>, CO e CH<sub>4</sub> utilizando uma faixa de temperatura elevada de 800 a 1300 °C (PANWAR; KOTHARI; TYAGI, 2012). A pirólise é um processo de degradação termoquímica, que ocorre na faixa de temperatura de 400 °C – 700 °C, com ausência total ou parcial de oxigênio, produzindo principalmente bio-óleo, bio-char e gases pirolíticos (KUMAR *et al.*, 2020b; MISHRA; MOHANTY, 2020).

Dentre os processos bioquímicos estão a fermentação e a digestão anaeróbia, ambos ocorrendo em temperaturas mais baixas comparadas aos processos termoquímicos. A fermentação utiliza microrganismos e/ou enzimas para conversão de substratos fermentescíveis em produtos como ácidos orgânicos ou álcoois (CHERUBINI, 2010). O processo de digestão anaeróbia envolve a degradação bacteriana do material biodegradável na ausência de oxigênio, resultando em produtos como biogás e outros compostos orgânicos (KHALID *et al.*, 2011).

### **2.2.1 Hidrólise**

A hidrólise é um processo de abertura da estrutura lignocelulósica, responsável por realizar a quebra da celulose e das hemiceluloses em seus respectivos monômeros. O monômero principal da celulose, a glicose, bem como os das

hemiceluloses, a xilose e a arabinose, são açúcares fermentescíveis que podem ser utilizados na produção de etanol de segunda geração (PRADO *et al.*, 2014)

O processo de hidrólise pode ocorrer por diferentes meios, geralmente ácido e enzimático. A hidrólise por meio ácido emprega geralmente ácido sulfúrico e ácido clorídrico, usando temperaturas moderadas na faixa de 100–150 °C, no entanto sua aplicação pode gerar a formação de compostos inibidores da posterior fermentação, como furfural e hidroximetilfurfural (HMF), além de provocar corrosão dos equipamentos (LENIHAN *et al.*, 2010; ZHOU; LIU; ZHAO, 2021).

O processo de hidrólise enzimática utiliza enzimas oriundas de espécies bacterianas e fúngicas para converter os polissacarídeos em açúcares e ao contrário da hidrólise ácida não formam compostos inibidores como resíduo (HUANG *et al.*, 2022). No entanto, a sua aplicação traz como desvantagens um alto custo tecnológico e tempos longos de reação (SHEN *et al.*, 2018).

Assim, uma maior atenção tem se direcionado ao desenvolvimento de tecnologias mais sustentáveis para o processamento de biomassa. Como alternativa, a hidrólise com água subcrítica vêm sendo utilizada de forma eficiente na dissociação da biomassa lignocelulósica (ABAIDE *et al.*, 2019b).

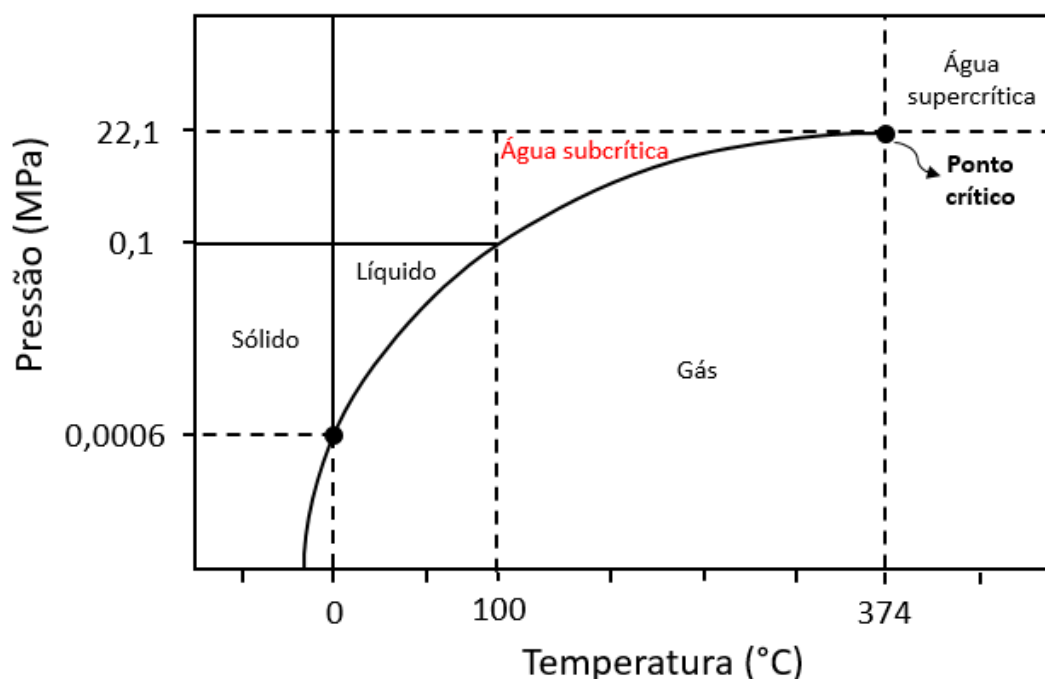
#### 2.2.1.1 Hidrólise sub/supercrítica

A tecnologia de hidrólise sub/supercrítica pode ser aplicada na utilização de biomassa residual, visando a produção de matérias-primas para novos produtos, como açúcares fermentescíveis para produção de etanol 2G. A aplicação da hidrólise sub/supercrítica apresenta vantagens como alta rapidez de reação em comparação à hidrólise enzimática e a não formação de resíduos tóxicos geralmente gerados na hidrólise ácida (ABAIDE *et al.*, 2019c; LACHOS-PEREZ *et al.*, 2017)

A hidrólise supercrítica utiliza água nas suas condições de temperatura e pressão acima do ponto crítico ( $T_c = 374$  °C e  $P = 22,1$  MPa), como apresenta a Figura 10. Nessas condições, a água não apresenta transição de fase vapor-líquido, e existe apenas na condição de fase homogênea onde as propriedades como difusividade, viscosidade e densidade estão entre as de gases e líquidos. Além disso, seu produto iônico nessas condições permite uma maior seletividade em reações químicas, alterando os mecanismos de reação iônica para radicais livres. Outra vantagem é a redução ou eliminação da resistência à transferência de massa nessas condições. No entanto, o tempo de reação para o uso desta técnica deve ser baixo, a fim de evitar a

degradação dos açúcares (glicose, xilose e arabinose) em produtos inibidores (ESCOBAR *et al.*, 2020).

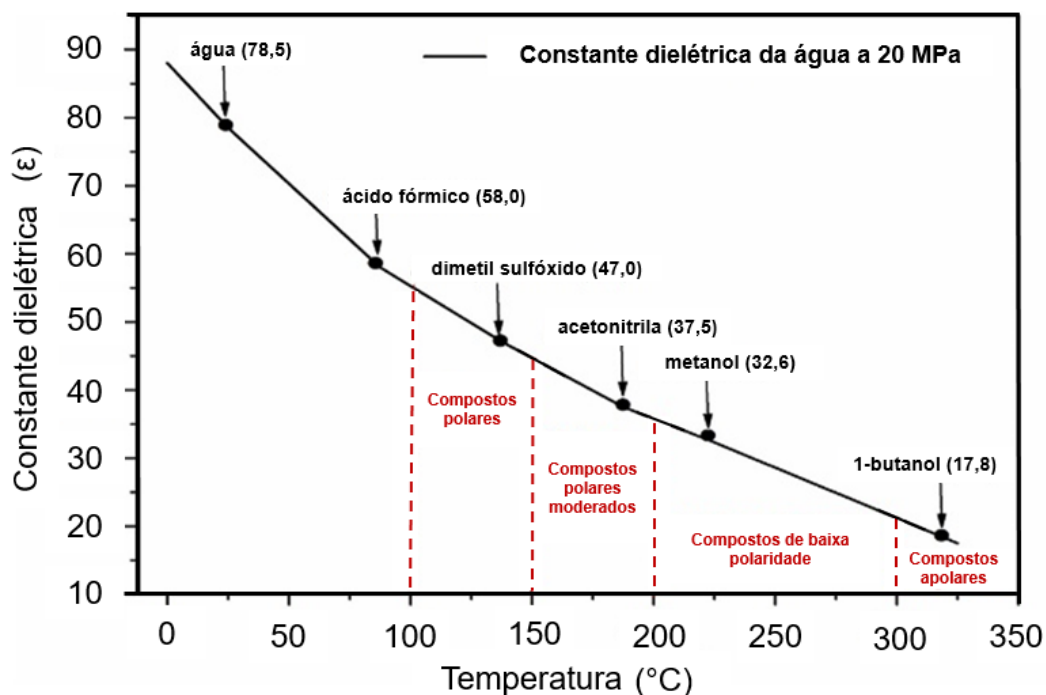
Figura 10. Estado físico da água em diferentes temperaturas e pressões



Fonte: Adaptado de Zhang *et al.*, 2020

A hidrólise subcrítica promove a quebra dos biopolímeros, celulose e hemiceluloses, produzindo açúcares fermentescíveis e bioprodutos (inibidores e ácidos orgânicos), em condições mais brandas do que as apresentadas pela água no estado supercrítico, evitando a alta formação de compostos inibidores. A faixa de temperatura em que a HAS é normalmente realizada varia de 100 a 374 °C, e a pressão deve ser suficiente para manter a água no estado líquido comprimido. Nestas condições, a água apresenta baixa viscosidade e alta difusividade, características que facilitam a sua penetração na estrutura complexa da matriz lignocelulósica da biomassa. Além disso, sua baixa constante dielétrica aumenta a solubilidade de compostos orgânicos por se tornar semelhante a solventes orgânicos apolares, como mostra a Figura 11 (COCERO *et al.*, 2018).

Figura 11. Variações da constante dielétrica da água em função da temperatura a pressão constante



Fonte: adaptado de Zhang *et al.*, 2020

O processo de HAS pode ser realizado em modo batelada, contínuo ou semi-contínuo. Para o processamento em modo batelada (descontínuo), o tempo de residência do sólido e do líquido no reator é longo, e após a reação finalizada, é necessário ainda um período de resfriamento antes da coleta do material hidrolisado. Esse longo tempo de resfriamento pode afetar a qualidade do meio, visto que alguns compostos de interesse podem sofrer degradação formando produtos inibidores. Além disso, na reação em batelada o rendimento de açúcares geralmente é baixo. Já a operação em modo contínuo pode gerar altos rendimentos de açúcares e baixos rendimentos de produto de degradação, pois o tempo de residência do sólido e do líquido é curto. Porém, para o uso deste tipo de processo é necessário o uso de bombas especiais com capacidade de bombear fluidos particulados (ZABOT *et al.*, 2019).

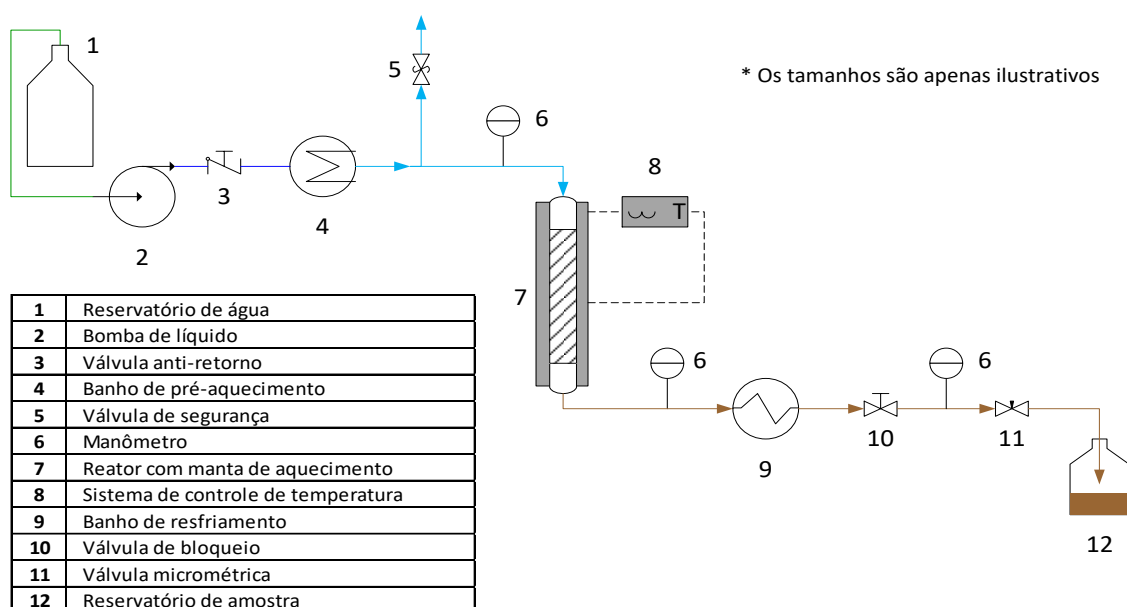
Na operação em modo semi-contínuo, o tempo de residência do sólido é longo e o do líquido é curto. A água flui continuamente pelo reator carregado com a biomassa sólida, e os produtos da reação são coletados de forma contínua, resultando em um tempo de operação menor quando comparado ao processo em batelada. Nesse processo, o rendimento de açúcares e a formação de produtos inibidores são intermediários (ZABOT *et al.*, 2019).

A tecnologia subcrítica para conversão da biomassa vem sendo amplamente estudada por pesquisadores. Lachos-Perez *et al.* (2016) utilizaram esta tecnologia para a obtenção de açúcares do bagaço da cana-de-açúcar com temperaturas variando de 100 a 250 °C. O rendimento máximo de açúcares redutores foi observado acima de 200 °C, com uma conversão de 15,5%.

Em 2019, um estudo realizado por Abaide *et al.* analisou a utilização de um sistema em modo semi-contínuo para hidrólise subcrítica de casca de arroz para obtenção de açúcares fermentescíveis (Figura 12). Os ensaios de hidrólise foram realizados em diferentes temperaturas (180, 220 e 260 °C) e razões entre a água e a biomassa sólida (7,5 e 15), e o rendimento máximo alcançado foi de 18% em massa, na condição de 220 °C e razão 7,5.

Santos *et al.* (2020) realizaram a hidrólise subcrítica também em modo semi-contínuo, à 180, 220 e 260 °C em diferentes razões de água para massa sólida de resíduos de noz-pecã. Os mesmos obtiveram um rendimento máximo de 27,1 g de açúcares redutores/100 g de biomassa para cascas de noz-pecã na condição de 220 °C e uma razão de fluxo de solvente/biomassa de 15.

Figura 12. Fluxograma de unidade de multipropósitos em sistema semi-contínuo.



Fonte: adaptado de Abaide *et al.*, 2019b.

Para o farelo de arroz desengordurado, são poucos os trabalhos encontrados na literatura que aplicam a HAS com o intuito de obter açúcares e bioproductos. Pode-se destacar o estudo desenvolvido por Watchararuj *et al.* (2008), que realizou

hidrólise com água subcrítica em modo de operação batelada sob o farelo de arroz desengordurado, a fim de determinar o rendimento de açúcares, proteína e aminoácidos. Enquanto Sunphorka *et al.* (2012) aplicou a HAS em farelo de arroz e farelo de arroz desengordurado em modo semi-contínuo, e também analisou o rendimento de proteínas e açúcares totais. Entre os dois estudos citados, o trabalho de Sunphorka *et al.* (2012) obteve um maior rendimento para açúcares totais, utilizando o modo de operação semi-contínuo, em comparação ao estudo de Watchararужи *et al.* (2008) que realizou o processo em batelada.

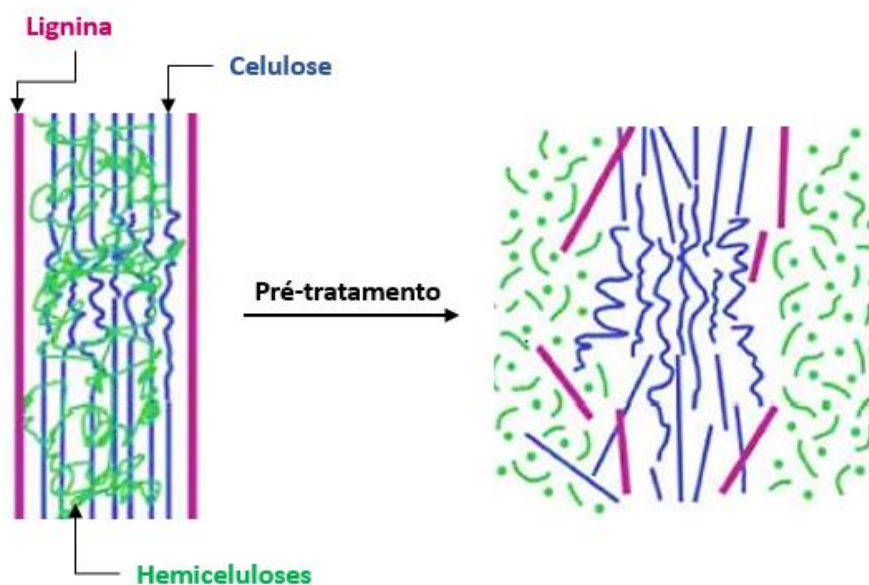
Vale ressaltar que os estudos citados acima não utilizaram um processo de pré-tratamento anterior à hidrólise da biomassa lignocelulósica, o qual foi aplicado por Draszewski *et al.* (2021) em cascas de arroz. Os autores observaram um aumento no rendimento de açúcares nas amostras hidrolisadas submetidas anteriormente ao pré-tratamento. O máximo rendimento de açúcares foi de 49,9 g/100 g de biomassa, obtido na condição de 230 °C e razão solvente/biomassa de 40, utilizando as cascas de arroz pré-tratadas com solvente eutético formado por cloreto de colina:glicerol (1:2) e 20% de água. Portanto, é de suma importância avaliar como a aplicação de um pré-tratamento pode influenciar nos rendimentos finais dos açúcares provenientes da fração celulósica da estrutura da biomassa, visando o máximo aproveitamento da matéria-prima.

### 2.3 PRÉ-TRATAMENTO

O pré-tratamento é uma etapa importante no processo de conversão da biomassa, muitas vezes aplicado com o objetivo de alterar a estrutura lignocelulósica (Figura 13), expondo a sua fração rica em carboidratos através da remoção parcial da lignina (THI; LEE, 2019). A partir da aplicação do pré-tratamento, a fração celulósica se torna mais acessível ao posterior processo de hidrólise, seja ácida, básica ou sub/supercrítica, com a finalidade de obtenção de açúcares fermentescíveis usados na produção de etanol de segunda geração.

Existem diferentes métodos de pré-tratamento apresentados na literatura, no entanto a escolha do processo ideal depende da matéria-prima a ser explorada, do impacto ambiental e, por vezes, de sua avaliação econômica. Um pré-tratamento eficaz é aquele que preserva suas frações das hemiceluloses no material, limita a formação de inibidores, requer baixo aporte de energia e é econômico (MENON; RAO, 2012).

Figura 13. Efeito do pré-tratamento na estrutura lignocelulósica



Fonte: Santos *et al.*, 2012

Dentre os processos empregados no pré-tratamento de biomassa lignocelulósica encontram-se o pré-tratamento ácido e o alcalino. O pré-tratamento ácido causa a solubilização parcial das hemiceluloses e da lignina, e torna a celulose mais acessível à conversão enzimática, podendo ser realizado com ácido concentrado ou diluído. No entanto, o uso de ácido concentrado acarreta na formação de compostos inibidores e requer equipamentos resistentes à corrosão, o que eleva o custo do processo. Assim, o pré-tratamento com ácido diluído se torna mais viável em escala industrial (MAURYA; SINGLA; NEGI, 2015).

O processo de pré-tratamento alcalino envolve o uso de bases, como hidróxido de sódio, potássio, cálcio e hidróxido de amônio, capazes de degradar as cadeias laterais de éster e glicosídica, resultando em alteração estrutural da lignina, dilatação e descristalização parcial da celulose, e solvatação parcial das hemiceluloses. Pode ser realizado em condições de temperatura ambiente, porém são necessários tempos mais longos de pré-tratamento comparado com os processos em temperaturas mais elevadas, bem como uma etapa de neutralização para remoção da lignina e de inibidores (MENON; RAO, 2012).

Outros métodos podem ser aplicados no pré-tratamento da biomassa, como a explosão a vapor. O processo de explosão a vapor promove a auto hidrólise e ruptura estrutural da biomassa através de vapor de água em alta temperatura e descompressão explosiva, aumentando a sua área superficial e a porosidade (YU *et*

*al.*, 2022). A explosão a vapor geralmente não requer nenhum produto químico na sua aplicação, no entanto são observados baixos rendimentos de sacarificação e solubilização, bem como a formação de produtos inibidores (KUMAR *et al.*, 2020a).

Tendo em vista as desvantagens apresentadas nos métodos de pré-tratamentos com solventes convencionais, uma grande atenção tem sido voltada para o uso dos chamados solventes verdes, como os Líquidos Iônicos (LI's) e os Solventes Eutéticos (DES – do inglês *Deep Eutectic Solvents*). Os LI's mostram-se altamente eficientes na deslignificação da biomassa lignocelulósica, bem como no aumento do rendimento da posterior etapa de sacarificação de biomassas ricas em carboidratos (TAN; NGOH; CHUA, 2018). No entanto, o processo de obtenção de alguns LI's pode ser ambientalmente tóxico e sua aplicação apresenta um alto custo e demanda energia para reciclagem dos solventes.

Os solventes eutéticos (DES) surgiram mais recentemente e estão emergindo rapidamente como alternativa adequada para a dissolução da biomassa lignocelulósica. São considerados uma família alternativa aos LI's, por apresentarem propriedades físico-químicas semelhantes, mas um custo muito menor e características mais favoráveis ambientalmente (PROCENTESE *et al.*, 2015). O tópico a seguir descreve com mais detalhes essa classe de solventes.

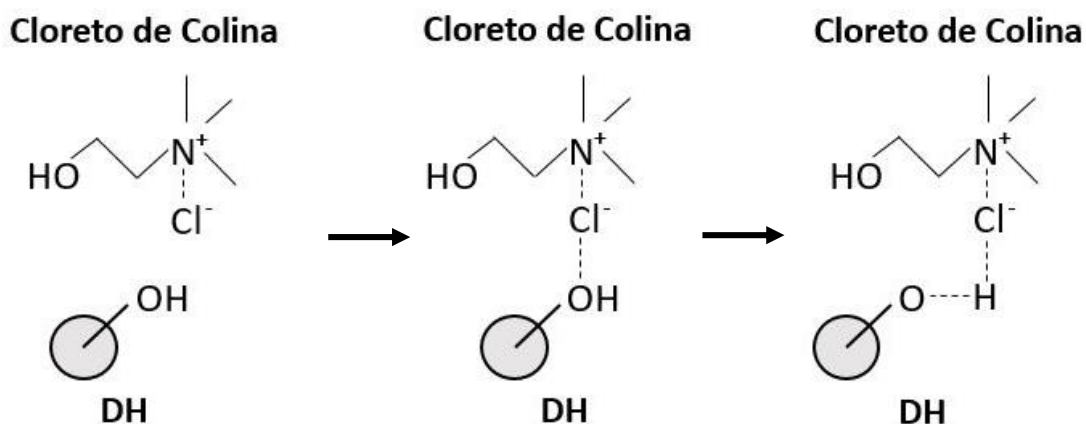
### 2.3.1 Solventes eutéticos

Os solventes eutéticos são formados a partir da mistura de dois ou mais compostos iônicos, combinados por meio de interações de ligação de hidrogênio, onde um deles atua como aceitador de hidrogênio (AH) e o outro como um doador de hidrogênio (DH), como ilustrado na Figura 14. A formação das ligações de H provoca o deslocamento de carga, acarretando em uma mistura eutética com um ponto de fusão inferior ao de cada composto individualmente (DAI *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2022).

Os DES podem ser descritos pela fórmula geral  $C_{at}^+X^-zY$ , onde  $C_{at}^+$  é o cátion proveniente do sal (normalmente um amônio quaternário), X é um haleto (geralmente Cl<sup>-</sup>), Y é um ácido de Bronsted (o doador de ligação de hidrogênio) e z refere-se ao número de moléculas de Y que reagem com X (SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014).



Figura 14. Formação da ligação entre um AH (Cloreto de Colina) e um DH



Fonte: adaptado de Catarina; Costa, 2016

Dentre as vantagens dos solventes eutéticos estão a facilidade de preparo, a alta pureza, a baixa toxicidade, o baixo ponto de fusão, a alta biodegradabilidade, a não inflamabilidade e a alta estabilidade térmica (XU *et al.*, 2020). Devido as características associadas aos DES, a sua aplicação está sendo estudada para diferentes fins, incluindo meio de reação, solventes de extração e eletrólitos. Além disso, o potencial dos DES para pré-tratamento de biomassa está sendo bastante explorado na literatura (CHEN; REZNICEK; WAN, 2018).

O primeiro trabalho publicado abordando o conceito de DES foi realizado por Abbott *et al.* (2003), onde os pesquisadores analisaram misturas de sais de amônio quaternário, como Cloreto de Colina (CIC), com diferentes amidas na proporção molar 1:2 e observaram que muitas delas apresentaram pontos de fusão abaixo de 150 °C, com destaque para a mistura de CIC e ureia, cujo ponto de fusão foi 12 °C. Além disso, observaram que as propriedades dos diferentes DESs sofriam forte influência das ligações de hidrogênio.

A partir de então vêm crescendo o número de estudos que analisam as aplicações dos DESs para diferentes fins. Segundo buscas realizadas na plataforma de pesquisa Science Direct, utilizando como palavras-chave o termo geral “*deep eutectic solvents*”, em 2015 foram 280 trabalhos publicados, número que aumentou gradualmente ao longo dos anos, como mostra a Tabela 2, atingindo um total de 1974 em 2021.

Tabela 2. Números de trabalhos publicados na plataforma *Science Direct* referentes a busca “*deep eutectic solvents*”

Ano de publicação	Número de trabalhos
2015	280
2016	336
2017	472
2018	582
2019	868
2020	1273
2021	1974

Fonte: desenvolvido pela autora

A fim de determinar a aplicação dos DESs em diferentes processos, torna-se essencial o conhecimento das suas propriedades físico-químicas, como a viscosidade, densidade e pH, visto que podem sofrer influências de algumas variáveis. A viscosidade é influenciada tanto pela adição de água na mistura, quanto pela temperatura, razão molar e DH utilizado. A alta viscosidade do DES pode afetar negativamente o processo, pois implica em baixas taxas de transferência de calor e massa, bem como diminui a condutividade do solvente (ZHOU *et al.*, 2022). A presença de água na síntese do DES tende a diminuir a sua viscosidade, aumentando assim a condutividade, porém pode levar à perda da ligação de hidrogênio e, conseqüentemente, o desaparecimento da estrutura espacial do DES (DAI, 2013).

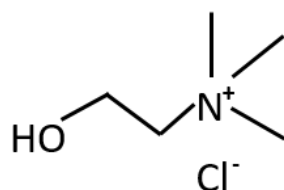
A densidade é outro parâmetro importante dos DES, pois revela a atividade e a mobilidade molecular da solução. Essa propriedade sofre e influência da temperatura e proporção molar da mistura. A densidade aumenta com o número de grupos hidroxilas presente no DES e diminui na presença de DH com uma grande cadeia alquila (DIAS, 2016; ZHOU *et al.*, 2022). Um DES com baixa densidade pode ter melhor capacidade de penetrar na estrutura da biomassa, por isso a escolha do DH adequado é de suma importância (NEW *et al.*, 2019).

### 2.3.1.1 Propriedades dos AHs e DHs

Como abordado anteriormente, os DES são formados por um aceitador de ligação de hidrogênio (AH) e um doador de ligação de hidrogênio (DH), que formam entre si uma mistura eutética. Os constituintes do AH possuem um papel fundamental

no desempenho dos DESs, afetando a disponibilidade e reatividade dos prótons. O aceitador de hidrogênio mais comumente utilizado na síntese de DES é o cloreto de colina (CIC) (Figura 15). Dentre as vantagens associadas ao CIC estão a sua biodegradabilidade, a produção em massa e a facilidade de ligação com diferentes DHs (CHEN; REZNICEK; WAN, 2018; ZHOU et al., 2022).

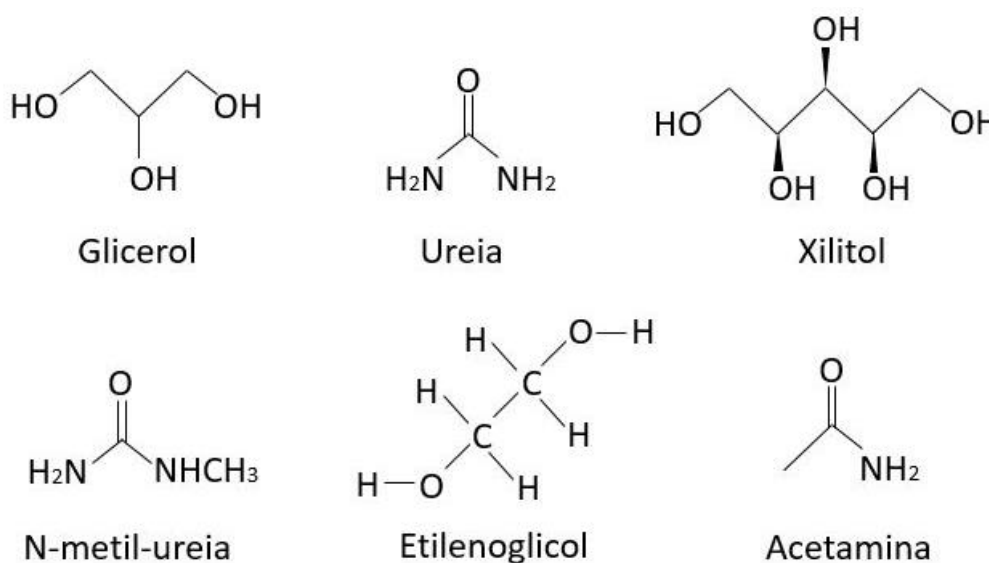
Figura 15. Molécula do Cloreto de Colina



Fonte: adaptado de Smith; Abbott; Ryder, 2014

Diversas substâncias como amidas, aminas, ácidos monocarboxílicos, ácidos dicarboxílicos, poliálcoois e polissacarídeos podem ser usadas como DH para sintetizar DESs à base de CIC. Os DHs diferem em comprimento de cadeia e números de grupos hidroxila, carbonila e de grupos amino. Alguns DHs são lineares saturados e outros são cíclicos com cadeias ramificadas (Figura 16), diferindo em acidez e polaridade. Um DH com maior polaridade tende a diminuir a capacidade de remoção de lignina do DES, portanto um DH com alta polaridade, e também acidez, pode aumentar a eficiência do pré-tratamento (XU *et al.*, 2020).

Figura 16. Compostos usados como DHs



Fonte: adaptado de Smith; Abbott; Ryder, 2014

### 2.3.1.2 Aplicações dos solventes eutéticos

Diversas são as aplicações possíveis dos solventes eutéticos, incluindo uso na produção de nanocelulose (LI *et al.*, 2018b), purificação de biodiesel (ŠALIĆ *et al.*, 2020), extração de óleos essenciais (WU *et al.*, 2021) adsorção de corantes (SADIQ *et al.*, 2021) entre outros. No entanto, a aplicação dos DES mais estudada nos últimos anos tem sido no pré-tratamento de biomassa lignocelulósica, visando analisar os efeitos na deslignificação da estrutura e aumento no rendimento dos açúcares da celulose e hemiceluloses.

Procentese *et al.* (2015) analisaram diferentes misturas de DESs (cloreto de colina: glicerol (1:2), cloreto de colina: imidazol (3:7) e cloreto de colina: ureia (1:2)) no pré-tratamento de espiga de milho, quanto à remoção de lignina insolúvel. A maior porcentagem de deslignificação obtida foi de 88% utilizando o DES cloreto de colina:imidazol (razão 3:7) na temperatura de 150 °C. No mesmo ano, Kumar, Parikh e Pravakar (2015) estudaram o pré-tratamento de palha de arroz usando cloreto de colina: ácido láctico (1:5), à 60 °C por 12 horas, e obtiveram uma remoção máxima de lignina de 60%.

O estudo realizado por Procentese e Rehmann (2018) analisou a influência de diferentes temperaturas e razões molares entre sólido/solvente no pré-tratamento de pele de café, tanto em função da deslignificação quanto no incremento de carboidratos. Como solvente utilizaram um DES formado por cloreto de colina: glicerol (razão 1:2). Os resultados mostraram que a razão de 1:16 entre biomassa/solvente e a temperatura de 150 °C geraram a maior deslignificação (de 34,02 para 25%), bem como o maior incremento na quantidade de carboidratos.

Tan, Ngoh e Chua (2018) analisaram o pré-tratamento de resíduo de palma com seis diferentes DESs (10 % em massa de sólido), à 120 °C por 8 horas, com e a maior deslignificação obtida foi de 88% utilizando cloreto de colina:ácido láctico na razão 1:5. Lou e Zhang (2022) também utilizaram cloreto de colina: ácido láctico como solvente, porém numa razão de 1:2, e a biomassa pré-tratada foi palha de trigo, à 150 °C por 3 horas, obtendo um percentual de 20% de deslignificação.

### 3 ESTADO DA ARTE

A partir do apresentado na revisão, é importante destacar que através de buscas em plataformas científicas (*Science direct e Scopus*), até o momento não foram encontrados trabalhos na literatura que avaliaram de modo integrado a utilização de solventes eutéticos à base de Cloreto de colina: glicerol e Cloreto de colina: ureia para o pré-tratamento do farelo de arroz desengordurado seguida de hidrólise com água subcrítica em um sistema semi-contínuo.

Alguns estudos da literatura serviram como base para a fundamentação desta dissertação. Abaide *et al.* (2019b) utilizaram água no estado subcrítico em modo semi-contínuo para hidrolisar a palha de arroz a uma pressão de 25 MPa, em diferentes temperaturas (180 °C, 220 °C e 260 °C) e razões de solvente/biomassa. Chen *et al.* (2018) utilizaram DESs a base de CIC: Gli, na razão de 1:2, com adição de água e/ou ácido para o pré-tratamento de gramíneas e obtiveram uma deslignificação de 63% para amostras pré-tratadas com mistura eutética entre CIC: Gli com adição de 20% de água em massa e 1% de ácido sulfúrico. Já o estudo realizado por Nor *et al.* (2016) aplicou um DES a base de CIC: ureia, na razão de 1:2, para pré-tratamento de resíduos de palma e obteve uma remoção de lignina de 15%.

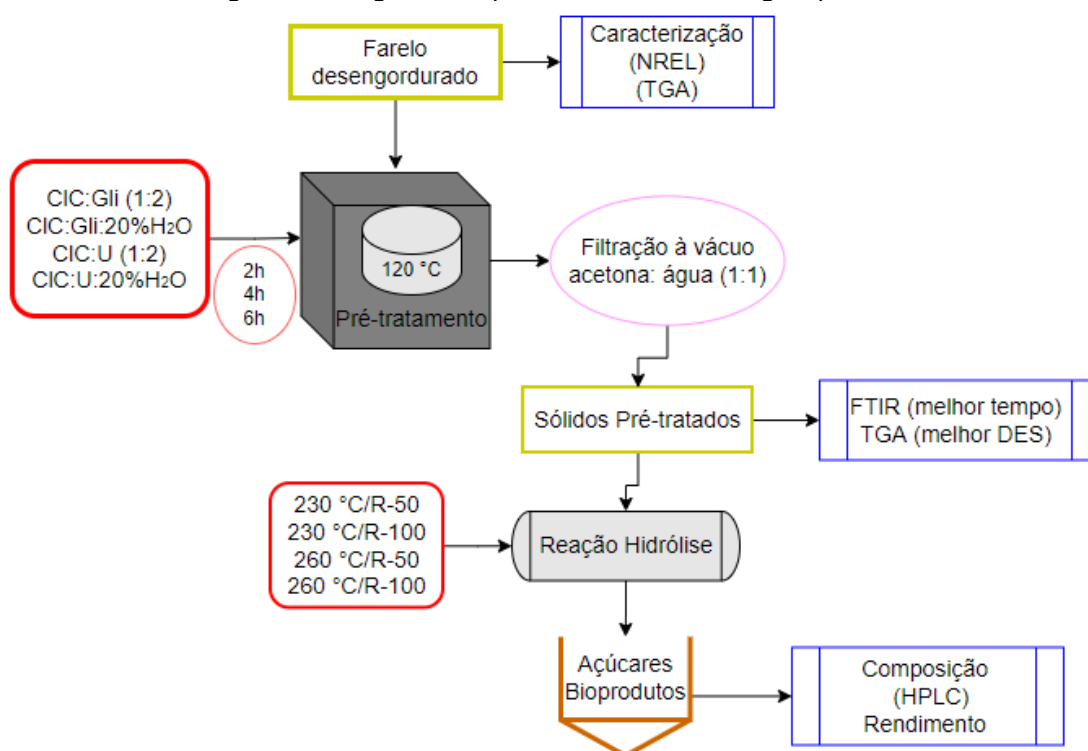
A integração dos processos de pré-tratamento com diferentes misturas de DESs e posterior hidrólise subcrítica, em diferentes temperaturas e razões solvente/biomassa, foi analisada por Draszewski *et al.* (2021) em cascas de arroz. No estudo, os autores observaram que o pré-tratamento com solvente eutético formado por cloreto de colina: glicerol (1:2) e 20 % de água, por 4 horas à 120 °C, provocou uma deslignificação da amostra de 46%, e a eficiência de açúcares apresentada por esta amostra após a hidrólise foi 430% maior que das amostras sem pré-tratamento.

Assim, o presente estudo científico possui caráter inovador visando agregar maior conhecimento com relação a uma possível rota tecnológica para a produção de açúcares fermentescíveis e bioprodutos a partir do farelo de arroz desengordurado.

#### 4 ARTIGO

O artigo em seguida, publicado em periódico internacional, apresenta a metodologia desenvolvida no presente trabalho, bem como os resultados obtidos a partir da aplicação do pré-tratamento com solventes eutéticos e posterior hidrólise subcrítica de farelo de arroz desengordurado. O diagrama abaixo (Figura 17) detalha a sequência da metodologia aplicada no estudo.

Figura 17. Diagrama esquemático da metodologia aplicada



Fonte: desenvolvida pelo autor

**Defatted Rice Bran pretreated with Deep Eutectic Solvents and sequential use as feedstock for Subcritical Water hydrolysis**

Bárbara P. Moreira<sup>a</sup>, Crisleine P. Draszewski<sup>a</sup>, Dian Celante<sup>a</sup>, Leoni Brondani<sup>a</sup>, Daniel Lachos-Perez<sup>a</sup>, Flávio D. Mayer<sup>a</sup>, Ederson R. Abaide<sup>a</sup>, Fernanda Castilhos<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> *Department of Chemical Engineering, Federal University of Santa Maria, 1000, Roraima Avenue, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil*

\*Corresponding author: [fernanda.castilhos@ufsm.br](mailto:fernanda.castilhos@ufsm.br) (Fernanda de Castilhos) Phone: +55 (55) 99160-4961

**Abstract**

Defatted rice bran has potential to processing into ethanol due to its lignocellulosic composition and agricultural productivity. The composition of the pretreated defeated rice bran with Deep Eutectic Solvent was investigated aiming the production of sugars and bioproducts using subcritical water hydrolysis. Changes in the defeated rice bran composition at different pretreatment times and mixtures of deep eutectic solvent were evaluated by the derivative of thermogravimetric analysis. The pretreated defeated rice bran presented an enrichment in the content of hemicelluloses (281.0%) and delignification (59.3 %). Under the same condition of subcritical water hydrolysis (230 °C/ R-100) the yield of fermentable sugars increased 2.20 times in the same study time interval (20 min) when comparing pretreated and untreated defeated rice bran.

**Keywords:** Choline chloride; Glycerol; Urea; Green solvents; Biomass; Subcritical conditions.



## 1. Introduction

Rice bran is a coproduct obtained during the milling of the outer layer of husked rice (*Oryza sativa L.*), constituting approximately 10 wt% (Gul et al., 2015). In terms of world food production, rice is in third position, behind only sugarcane and corn. In the year 2018, the world production of rice reached 513 million tons (FAO, 2018). Rice production in Brazil in the 2020/2021 harvest was 11.75 million tons (CONAB, 2021). Some countries such as China and India use rice bran as animal feed or as low-cost fuel (Lin et al., 2009). In addition, rice bran is also used for oil extraction in food industries. Defatted rice bran (DRB) is considered the main coproduct from the extraction process of the rice bran oil (Zhuang et al., 2019). It is a secondary coproduct with very low value and is often discarded as agricultural waste or utilized as animal feed ingredient (Gul et al., 2015; Hata et al., 2008).

The increase in the production of agricultural biomass and the growing demand for energy and fuels have stimulated new studies using lignocellulosic biomass as a sustainable source of bioproducts and energy. Specifically, the production of bioethanol and biogas from such a biomass has been receiving increasing attention (Abaide et al., 2019a). Considering the amount of carbohydrates, as cellulose (16 %) and hemicelluloses (29 %), present in the rice bran, it has a great potential to produce biofuels through fermentation (Sunphorka et al., 2012). Different processes may be used in order to dissociate cellulose and hemicelluloses into valuable products. Commonly used processes are dilute acid and enzymatic hydrolysis. However, the enzymatic route is a high cost and slow process, while acid route produces a great quantity of fermentation inhibitors due to the undesired degradation of sugars in hydrolysis (Shen et al., 2018).

As an alternative, subcritical water hydrolysis (SWH) has been applied such an effective process to dissociate cellulose and hemicelluloses. SWH uses water as a safe, non-toxic and environmentally solvent. Moreover, compared with acid and enzymatic hydrolysis,

the SWH generates fewer degradation products and requires shorter reaction times (Lachos-Perez et al., 2016). Studies have applied the subcritical water hydrolysis system to different biomasses, such as pecan waste (Santos et al., 2020), sugarcane straw (Lachos-Perez et al., 2017), rice straw and husk (Abaide et al., 2019c, 2019a), in order to evaluate process variables (temperature, time, pressure, solvent/feed ratio) that affect the yield of fermentable sugars and bioproducts.

However, the lignin content in lignocellulosic biomass partially hinders conversion to valuable products due to its heterogeneous and recalcitrant structure (Sunphorka et al., 2012). Pretreatment of biomass has been shown to be essential to improve the overall efficiency of the process, as it partially removes lignin from the lignocellulosic structure (Thi; Lee, 2019). Commonly used pretreatment, such as alkaline and acidic methods, have the disadvantages of equipment corrosion, chemical recovery or high product purification cost (H. Xu et al., 2020). In this sense, the development of some pretreatments using green, mild and sustainable processes for delignification of lignocellulosic biomass have been gaining emphasis, as the employment of ionic liquid (IL) and deep eutectic solvents (DES). They are a eutectic mixture composed of two ionic compounds, one hydrogen-bond acceptor and one hydrogen-bond donor, that are capable of self-association (Procentese et al., 2015). An ideal DES composition and pretreatment conditions may change from one biomass type to another based on its lignin content (Procentese; Rehmann, 2018). Choline chloride, glycerol and urea are constituents of DES studied by some researchers, considered cheap and easy to obtain. Pretreatment using DES breaks the carbon-carbon and aryl ether bonds of the lignocellulosic structure (Xia et al., 2018).

The importance of DES in the delignification of lignocellulosic biomass has been reported in a few studies (Chen et al., 2020; Gundupalli et al., 2022; Thi; Lee, 2019). DES pretreatment is different from the others since the high solubility of lignin caused by the

rupture of  $\beta$ -O-4 aryl ether bonds in the presence of chloride ions implies this delignification (Smink et al., 2019). Also, Deep Eutectic Solvents (DES) are low cost, environmentally friendly, biodegradable and non-toxic alternatives when compared to other pretreatments. DES were applied in the delignification of other coproducts of rice processing, as rice husks (Draszewski et al., 2021) and rice (Li et al., 2018) straw. From the knowledge of these authors, no report is available in the literature concerning the employment of DES in SWH of DRB. Therefore, the present work aimed to study the potential of pretreatments with different DES for delignification and modification in the cellulose and hemicelluloses contents, in addition to improve sugars production from sequential SWH of DRB.

## **2. Materials and methods**

### **2.1 Materials and Defatted Rice Bran preparation**

Rice bran (RB) was obtained from a rice agroindustry located in the west of the state of Rio Grande do Sul - Brazil. The RB was drying at 80 °C for 1 day and was packaged in plastic films stored at temperature of -5 °C. The n-hexane, choline chloride, glycerol and urea were supplied by Sigma-Aldrich. Soxhlet extraction was performed from RB according to the Association of Official Analytical Chemists [23]. The Soxhlet extraction process was performed until the complete removal of the oil content (extraction assays for 4h, repeated until cartridge/sample mass was constant) and with a sufficient amount of RB for sequential use in the subsequent stages of pre-treatment and SWH.

### **2.2 Deep eutectic solvent synthesis and pretreatment procedure**

The methodology for the synthesis of DES mixtures was based on previously studied work (Chen; Reznicek; Wan, 2018). Shortly, a previous drying of the choline chloride was carried out at 60 °C for 5 h. Afterward, at 60 °C under agitation (150 rpm), a mixture of choline chloride and glycerol (Gly) (ratio 1:2) was mixed until the solvent became

transparent, producing ChCl:Gly. The synthesis of the other solvent (ChCl:U) was carried out using the same process described above but with urea (U) and ChCl. In order to increase the conductivity and consequently reduce the solvent viscosity, which favors the diffusion in the lignocellulosic structure, water was added to the mixtures (Dai et al., 2015). So a mixtures of DES with 20% water were also prepared and they were named as ChCl:Gly:H<sub>2</sub>O and ChCl:U:H<sub>2</sub>O.

Experimental assays for the pretreatment of DRB using all DES mixtures (ChCl:Gly, ChCl:Gly:H<sub>2</sub>O, ChCl:U and ChCl:U:H<sub>2</sub>O) were based on previous studies (Draszewski et al., 2021; Tan; Ngoh; Chua, 2018). Briefly, in a pressure-resistant closed reactor, 10 g of DES and 1 g of DRB (biomass ratio 1:10 / DES) were mixed, the pretreatment temperature was set at 120 °C and different intervals of time were evaluated (2, 4 and 6 h). With the reaction finished, the pretreated material was washed and vacuum filtered with 30 mL with an acetone:water mixture (1:1, v-v), used to extract the DES from the solid matrix. The remaining solids were subjected to drying at 100 °C for 24 h and later stored at -10 °C.

### 2.3 Apparatus and Experimental procedure of subcritical water hydrolysis

The experimental unit used to perform the experiments was the same used in other studies (Draszewski et al., 2021). Hydrolysis by subcritical water system used for process the untreated and pretreated DRB was based in a procedure already studied (Abaide et al., 2019a). Firstly, 2.0 g of DRB were placed inside the reactor (10 mL of useful volume), constituting the fixed bed. The system was pressurized to 10 MPa using high-pressure pump. For the settled reaction time of 20 min, distilled water was pumped at a predetermined different constant flow (5 or 10 mL/min), corresponding to a solvent/feed ratio of 50 and 100 g water/g sample, respectively. Two different temperatures conditions were evaluated (230 and 260 °C) and the assays were performed in duplicate. The values of solvent/feed ratio (R) and temperature were defined from previous studies (Lachos-Perez et al., 2016; Prado et al.,

2014b; Santos et al., 2020). Sampling of the hydrolyzed solutions was performed as follows: in the first 4 min, collections every 1 min, from 4 min to 12 min, every 2 min, and from 12 to 20 min, collections every 4 min. The collected solutions were then stored under refrigeration. Samples were subject to analytic quantification of sugars and bioproducts. The untreated DRB was also submitted to SWH essay in order to compare the effects of pretreatment on the composition of the hydrolyzate obtained.

#### 2.4 Solid characterization

Contents of moisture, extractives and ash for untreated DRB were analyzed in duplicate according to standardized methodology (NREL, 2020). The untreated and pretreated DRB had their surface functional groups identified using Fourier transform FT-IR infrared spectroscopy (IR Prestige 21, Shimadzu, Japan) (range 4000 and 900  $\text{cm}^{-1}$ ). Thermogravimetric analysis (TGA) (Model DTG60 / 60H, Shimadzu, Japan), was performed on samples of untreated DRB and on those considered to be the best pretreated samples, in an adequate time interval (FT-IR as selection criterion). High purity  $\text{N}_2$  was used an operating flow of 100 mL/min, at a heating rate of 10  $^\circ\text{C}/\text{min}$  over a range of 100 to 800 $^\circ\text{C}$ . Thermograms were derived and sequentially submitted to the integral of the profiles obtained in order to quantify the composition of cellulose, hemicelluloses and lignin, using a previously defined method (Carrier et al., 2011).

#### 2.5 Analytical Quantification of Sugars and Bioproducts

The content of sugars and bioproducts was analysed according to the methodology established in another study (Draszewski et al., 2021). Each sample of the hydrolyzed solution was conditioned in 2 mL microtubes and centrifuged at 15,000 rpm for 5 min. The supernatant was filtered on a 0.22  $\mu\text{m}$  Polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane for chromatographic analysis. The contents of cellobiose, glucose, xylose, arabinose, formic acid, acetic acid, and levulinic acid were analyzed by high-performance liquid chromatography

(HPLC) (Proeminence UFLCXR, Shimadzu, Japan) equipped with a refractive index detector (RID 10A, Shimadzu, Japan). A Hi-Plex H column (300 mm x 7.7 mm) (Agilent, USA) was used at 55 °C. As the mobile phase, a solution of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mM (pH 2.6) prepared with ultrapure water was used, which was obtained from a Mili-Q ultrapure water system (Milipore, USA). After preparation, the mobile phase was filtered under vacuum using 0.45 µm and 47 mm diameter porosity cellulose esters (Milipore, USA) and degassed in an ultrasonic bath (USC-1400, Unique, Sao Paulo). The volumetric flow rate of the mobile phase was 0.5 mL/min and the volume of injection of samples was 20 µL. The compounds were separated in the stationary phase and monitored with a refractive index (IR) detector at 30 °C for a run time of 20 min. The concentrations of each component were obtained by the correlation between the areas of the chromatograms and standard curves previously determined by standards of cellobiose, D-glucose, D-xylose and D-arabinose, formic acid, acetic acid and levulinic acid.

The analytical methodology for the determination of inhibitors (furfural and 5-hydroxymethylfurfural (HMF)) is described in the sequence. Filtered samples were analyzed in an HPLC system (Proeminence UFLCXR, Shimadzu, Japan) equipped with a photodiode array detector (PDA 20-A, Shimadzu, Japan). A Shim-Pak ODS C18 column (Shimadzu, Japan) was used. A solution of acetonitrile: water (1:4 with 1% (v/v) acetic acid) filtered on Polyvinylidene fluoride (PVDF) of 25 mm diameter with porosity of 0.22 µm (Milipore, USA) and degassed in an ultrasound bath (USC – 1400, Unique, São Paulo) was used as mobile phase. The conditions for the analysis were: 10 µL of injection volume, flow rate of 0.5 mL/min, column temperature of 30 °C, wavelength of 280 nm, detector temperature of 30 °C, and run time of 10 min. The concentrations of each component were obtained by the correlation between the areas of the chromatograms and standard curves previously

determined by furfural and HMF standards. The areas of the peaks corresponding to furfural and HMF were used to calculate their concentration in the samples.

Fermentable sugars yield  $Y_{FS}$  and efficiency  $E$  were determined by Eq.1 and Eq.2, respectively.

$$Y_{FS} = \frac{m_{FS}}{m_f} \times 100 \quad (1)$$

$$E = \frac{m_{FS}}{m_{CH}} \times 100 \quad (2)$$

Where:  $m_{FS}$  is the mass (g) of fermentable sugars (FS) in the hydrolysed solution composed by glucose, cellobiose, xylose and arabinose,  $m_f$  is the mass (g) of pretreated DRB (or untreated DRB) used in the SWH assay, and  $m_{CH}$  is the mass (g) of carbohydrates (hemicelluloses + cellulose).

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Defatted Rice Bran characterization

The moisture, extractives and ash content in untreated DRB were  $10.6 \pm 0.0$  %,  $27.2 \pm 2.5$  % and  $12.4 \pm 0.1$  %, respectively. For moisture and ash values, these results are close to those found in other studies. In these previous studies, the moisture content was around 9.0-10.0 % (Rafe; Sadeghian, 2017; Sutanto et al., 2017) and the ash content was 10.0 % (Rafe; Sadeghian, 2017; Tsuchiya; Yoshida, 2017). Different factors can affect the composition of biomass, such as the harvest, meteorological conditions and soil agronomics (Prado et al. 2014a). Also, knowledge of moisture, extractives and ash content is important, as it was used in the calculation basis for the determination of cellulose, hemicellulose and lignin contents. In general, extractives are composed by flavonoids, terpenic and phenolic compounds (Fleig et al., 2018). Other components present in untreated DRB were lignin (8.63 %), hemicelluloses (11.56 %) and cellulose (27.81 %). Knowledge of the lignocellulosic composition of DRB is important as it is the starting point to assess the effect of DES

pretreatment. Also, the content of cellulose and hemicelluloses were used to calculate the efficiency (E) in the SWH step. The removal of lignin from the lignocellulosic structure from pretreatment significantly affects the bioenergetic potential of the biomass, since it influences the efficiency of the hydrolysis process (Wang; Lee, 2021).

### 3.2 Pretreatment time effect and lignocellulosic modification

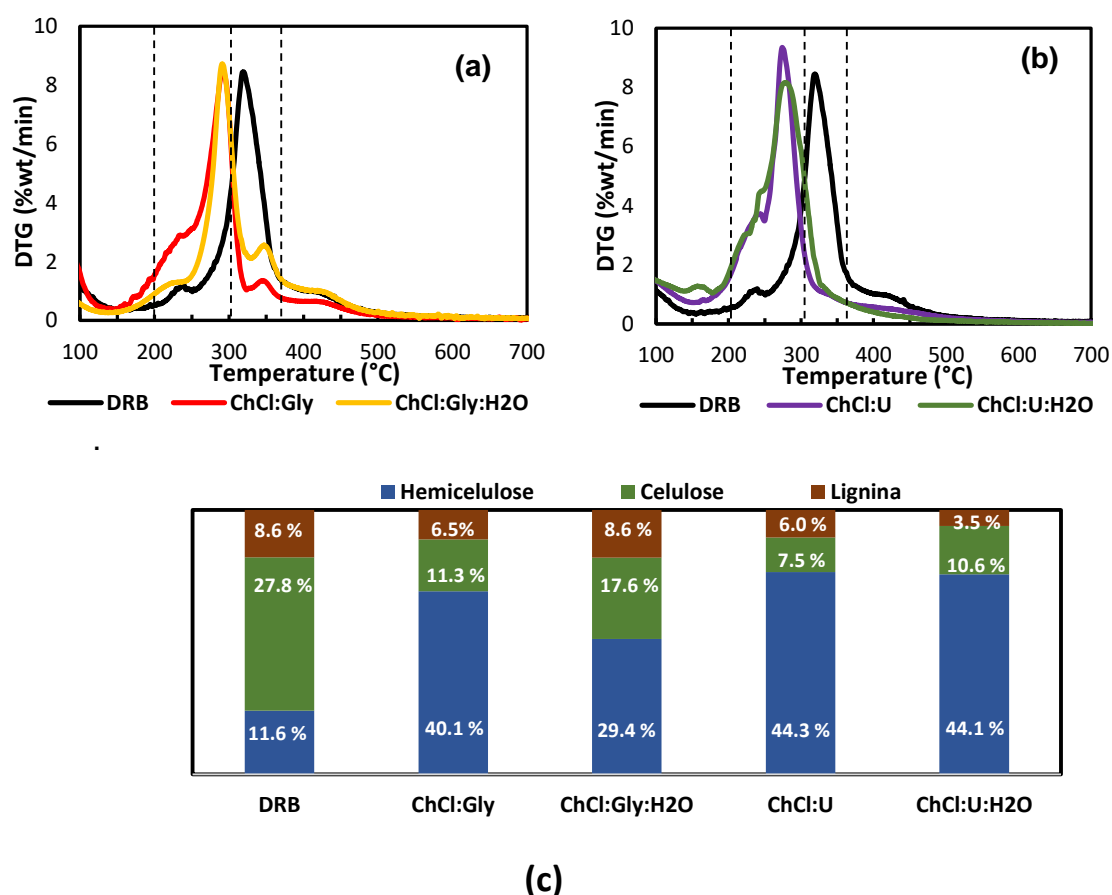
The effect of pre-treatment time, for different solvent mixtures of DES, was evaluated from changes in functional groups on the surface of untreated and pre-treated DRB (see supplementary material). The stretches of C–O, C–C and C–OH, related to cellulose, were found close to the  $1100\text{ cm}^{-1}$  band (Xu et al., 2013). Thus, for pretreated samples with all DES mixtures (except for ChCl:Gly at 6h), the decrease in band at  $1100\text{ cm}^{-1}$  indicates a reduction in cellulose content, which may have occurred due to solubilization on DES pretreatment, and so, with its removal from the solid. The C=O stretch ( $1718\text{ cm}^{-1}$ ) in unconjugated ketone, carbonyl and ester groups are related to lignin (da Costa Lopes et al., 2013). For ChCl:Gly and ChCl:Gly:H<sub>2</sub>O pretreatments the decrease in band at  $1718\text{ cm}^{-1}$ , indicates a decrement in lignin content. The delignification was due to the hydrogen bond performed by DES with the phenolic structure of lignin, which then promote the breaking of the ether bond, dissociating the structure (Alvarez-Vasco et al., 2016).

The broadband at  $3241\text{ cm}^{-1}$  was assigned to the hydroxyl group (O-H), that was an indicative of hemicelluloses (Peng et al., 2011). Thus, at approximately  $3300\text{ cm}^{-1}$ , the bands with the highest intensities are related to enrichment in hemicelluloses for all DES mixture pretreatment (see supplementary material). In pretreatment of 4 and 6h, the greatest intensity for functional groups of hemicelluloses was obtained (except for ChCl:U:H<sub>2</sub>O). For pretreating with ChCl:U:H<sub>2</sub>O, however, the highest intensity was within 2 h of assay. As the difference in the intensity of the bands for hemicellulose was small, at 4 and 6h, the time



interval of 4h was selected as the most adequate, and then used the biomass obtained from this condition for further analysis and sequential step of SWH.

The derivative thermograms (DTG) (Fig. 1.a and Fig.1.b) of samples were obtained by TGA. For untreated DRB a pronounced peak of 300°C to 370°C appeared, which refers to cellulose (Cai et al., 2013). When DRB was subjected to pretreatment with all DES an increase in the hemicelluloses content (175-330°C)(Peng; Wu, 2010) and a reduction in the cellulose and lignin (370-550°C) (Watkins et al., 2015) content were found (Fig. 1.a and Fig.1.b). This was also verified according to the FTIR (see supplementary material), with an increase in the band of 3300  $\text{cm}^{-1}$ , relative to hemicelluloses and a reduction in the bands of 1718  $\text{cm}^{-1}$  (lignin) and 1100  $\text{cm}^{-1}$  (cellulose). For ChCl:U, the peak intensity related to hemicelluloses was higher, when compared to the other 3 studied mixture of DES.



**Fig. 1:** Derivative thermogravimetric analysis (DTG) of (a) untreated DRB and samples pretreated with ChCl:Gly and ChCl:Gly:H2O, (b) untreated DRB and samples pretreated with ChCl:U and ChCl:U:H2O and (c) cellulose, hemicelluloses and lignin contents for different DES mixture pretreatment

According to the methodology reported by literature from the integration and normalization of the DTG (Fig.1.a and Fig.1.b), it was possible to calculate the composition of cellulose, hemicelluloses and lignin (Fig.1.c) in untreated and pretreated DRB (Carrier et al., 2011). The hemicelluloses content in the remaining solid after pretreatment increased for all studied DES mixtures, from 11.6 % for untreated DRB to a maximum value of 44.3 % for the essay using ChCl:U. This result was different from that reported by other studies, which obtained an increase in the cellulose content in the solid fraction, after pretreatment of different lignocellulosic biomasses (Chen; Reznicek; Wan, 2018; Draszewski et al., 2021; Procentese et al., 2017). Rice husks were pretreated using DES at 120 °C. The ChCl:Gly:H<sub>2</sub>O mixture promoted an increase in the cellulose content, which originally raised up from 44.6 % to 71.4 % (Draszewski et al., 2021). Another work evaluated the effect of pretreatment of Lettuce (*Lactuca sativa*)(cellulose content of 28.0%) using ChCl:Gly at different temperatures (80 to 150 °C). The authors obtained an increase in the cellulose content in the essay at 115 °C for 3 h of pretreatment, pretreated biomass with 35.1% of cellulose (Procentese et al., 2017).

Compared to lignin and hemicelluloses, cellulose is commonly reported as the least soluble component in DES (Oh et al., 2020), but in this study cellulose showed a high dissolution in it, remaining a pretreated solid rich in hemicelluloses. This may happen when cellulose has a high basicity of hydrogen bonding, which implies in a better dissolution of this lignocellulosic component (Wang; Lee, 2021). The reaction mechanism for cellulose solubilization from DES pretreatment depends on the breaking of intermolecular hydrogen bonds and the establishment of hydrogen bonds with the DES groups and the –OH of cellulose (Chen et al., 2019).

The lignin was dissolved for ChCl:Gly, ChCl:U and ChCl:U:H<sub>2</sub>O pretreatments and the most dissolution was of 41.69 % for ChCl:U:H<sub>2</sub>O pretreatment. Removal in lignin content

close to that found in this work was also obtained in another study, in which the effect of pretreatment of rice husks using different DES mixtures was evaluated (Draszewski et al., 2021). The authors achieved a 42 % delignification using pretreatment with ChCl:Gly mixture at 120 °C for 4 h. The delignification was attributed to the hydrogen bond between the DES electronegative halogen anion and lignin, leading to the dissolution of this structure by the cleavage of the aryl ether (C-O) bonds (J. Xu et al., 2020). In the present work, the solid remaining from the pretreatment with ChCl:U:H<sub>2</sub>O was not chosen for the SWH studies, because in a preliminary test it was operationally unfeasible, due to clogging of the pipes. Thus considering the enrichment in hemicelluloses and the delignification, the remaining solid from the pretreatment with ChCl:Gly was used in the SWH essay.

### 3.3 Hydrolysates composition from subcritical water hydrolysis

The sugar and bioproducts content were analyzed in the hydrolysates obtained at all regular time intervals of the SWH assay, and the values for the total  $Y_{FS}$  and efficiency were determined by the sum of the aliquots collected until the end of the experiments (Table 1). The sugar with the highest levels found in the hydrolyzate was xylose, followed by arabinose. In the hydrolyzed solutions obtained from SWH at 260 °C / R -100 for pretreated DRB, the content of arabinose ( $4.59 \pm 0.38$  g/100g biomass) and xylose ( $5.31 \pm 0.06$  g/100g biomass) were higher than the contents from untreated DRB. This result is consistent, since pretreated DRB has a higher hemicelluloses content. Also, as the pretreatment resulted in the delignification of the biomass, access to hemicelluloses was facilitated and thus there was greater dissociation into xylose and arabinose. In other studies, some biomasses were also subjected to SWH, however without any DES pretreatment. SWH at 260 °C, for 20 min was performed on Defatted grape seed and coconut husk (Prado et al., 2014b). The contents of xylose in the hydrolyzed solutions of Coconut husk and Defatted grape seeds and Pressed palm fiber were 1.31 and 0.16 g/100 g sample, respectively. The rice straw was subjected to

SWH at 260°C for 15 min (Abaide et al., 2019a) and these authors obtained a xylose content of 0.33 g/100 sample. This may indicate that the pretreatment with ChCl:Gly used in this study improved the yields in xylose, a sugar from hemicelluloses.

For untreated DRB the sugar content (glucose, cellobiose and arabinose) at SWH at 230°C / R-100 was lower than at 260°C / R-100. According to Table 1, SWH at 260 °C / R-100 yielded formic and levulinic acid of  $5.13 \pm 0.91$  g / 100g sample and  $1.07 \pm 0.39$  g / 100g sample, respectively. While for conditions of 230 °C / R-100 ( $4.23 \pm 1.02$ ) and 260 °C / R-100 ( $0.85 \pm 0.39$  g / 100g sample) the formic and levulinic acid contents were lower than the values mentioned above. Some reports have pointed out that it can be noted that for the higher temperature, the greater sugar degradation rate, converting glucose in formic and levulinic acid (Cocero et al., 2018; Prado et al., 2016). It is important to emphasize that it was not possible to detect the formic acid concentration for the hydrolysates of the pretreated DRB, as there was a peak overlap in the same retention time for the HPLC analyses. Possibly in trace amounts some DES was left in the pretreated solids and then carried along into the hydrolyzed solutions during the SWH.

An interesting assessment is that even with the amount of cellulose reduced by the pretreatment, the glucose yield of untreated and pretreated DRB, both hydrolyzed at 260 °C / R-100, was very similar. This can be attributed to the cellulose and lignin contents in the untreated and pretreated DRB. The untreated DRB presented 27.8% cellulose and 8.6% lignin, and the DRB pretreated with ChCl:Gly, presented 11.3% cellulose and 6.5% lignin. Even though the pretreated DRB had a lower cellulose content, as it had a lower lignin content, facilitating the dissociation of the first structure into glucose was a key point, since lignin makes the hydrolysis process difficult, as it acts as a barrier to the solvent (Abaide et al., 2019b), so when the lower content of lignin there can be a higher yield for sugars.

**Table 1.** Yields of sugars and bioproducts (g/100 g sample; dry basis) obtained by SWH of pretreated DRB for 20 min.

Component	DRB 230 °C/R-100*	DRB 260 °C/R-100*	230 °C/R-50	230 °C/R-100	260 °C/R-50	260 °C/R-100
<b>Sugar (g/100g)</b>						
Glucose	1.62 ± 0.80	2.90 ± 0.39	3.20 ± 0.01	3.95 ± 1.56	2.02 ± 0.45	2.78 ± 0.02
Cellobiose	0.75 ± 0.45	0.33 ± 0.19	1.37 ± 0.60	1.38 ± 0.32	0.42 ± 0.07	1.69 ± 0.77
Xylose	2.93 ± 0.89	2.89 ± 0.01	2.29 ± 1.07	2.57 ± 0.20	2.43 ± 0.22	5.31 ± 0.06
Arabinose	0.29 ± 0.16	0.41 ± 0.02	1.44 ± 0.73	2.67 ± 2.12	2.24 ± 1.13	4.59 ± 0.38
<b>Total</b>	5.60	6.53	8.30	10.57	7.11	14.37
<b>Inhibitors (g/100g)</b>						
HMF	0.65 ± 0.21	0.79 ± 0.54	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.11 ± 0.04	0.11 ± 0.27
Furfural	0.28 ± 0.07	0.18 ± 0.10	0.03 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.20 ± 0.03	0.20 ± 0.13
<b>Total</b>	0.93	0.97	0.04	0.04	0.31	0.31
<b>Organic acids (g/100g)</b>						
Formic acid	4.23 ± 1.02	5.13 ± 0.91	-	-	-	-
Acetic acid	1.83 ± 0.98	2.22 ± 0.27	0.21 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.56 ± 0.01	0.53 ± 0.13
Levulinic acid	0.85 ± 0.39	1.07 ± 0.09	0.10 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.27 ± 0.04	0.33 ± 0.02
<b>Total</b>	6.91	8.42	0.31	0.61	0.83	0.86

In terms of inhibitors, low values (Table 1) were obtained for HMF ( $0.01 \pm 0.00$  g/100 g sample) and Furfural ( $0.03 \pm 0.03$  g / 100 g sample) for pretreated DRB under  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$  / R-50 condition, when compared to untreated DRB submitted at SWH. Aliquots of pretreated DRB hydrolyzed at  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$  / R-100 showed lower values for acetic acid ( $0.34 \pm 0.03$  g / 100g sample) and levulinic acid ( $0.14 \pm 0.01$  g / 100g sample), a reduction of 5.4 times for acetic acid and 6.0 times for levulinic acid when compared with untreated DRB submitted at  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$  / R-100. Reduction in levulinic acid content is undesirable as it is an important bioproduct and can be used as a precursor of additives in fuels, through its conversion into 2-methyl-tetrahydrofuran and various levulinate esters (Morone; Apte; Pandey, 2015). It is important to note that for the pretreated DRB submitted to SWH there was an increase in the yield of fermentable sugars and organic acids, when compared to the same SWH condition, but for untreated DRB, what is desirable. In the literature, rice husks (RH) pretreated with DES (ChCl:Gly) submitted to SWH at  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$  / R-40, also showed an increase in the content of fermentable sugars and organic acids (Draszewski et al., 2021). For sugars content, there was an increase from 0.73 g/100g for untreated RH to 6.83 g/100g for pretreated RH. For organic acids content, a yield change from 0.0 g/100g for the untreated RH to 2.63 g/100g for the pretreated RH was observed.

### 3.4 Fermentable sugars yield, efficiency and kinetic profiles

Table 2 shows the yield values of fermentable sugars and efficiency determined by the sum of the aliquots collected until the end of the experiments (20 min). For the pretreated DRB, submitted to SWH at  $260\text{ }^{\circ}\text{C}$  / R-100, there was the highest ( $14.37 \pm 1.12$  g / 100 g of sample) fermentable sugars yield ( $Y_{FS}$ ). This  $Y_{FS}$  result was 2.2 times greater than that obtained for the same SWH condition, but using the untreated DRB. The lowest  $Y_{FS}$  was for untreated DRB at  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$  /R-100 ( $5.60 \pm 1.41$  g/100 g of sample). This can be attributed to the non-dissociation of the cellulose structure into glucose and cellobiose at SWH temperatures in

the order of 230 °C (Cocero et al., 2018). On the other hand, hemicelluloses were easily dissociated into xylose and arabinose at this temperature, and just as untreated DRB had lower hemicelluloses and higher cellulose content, the  $Y_{FS}$  was lower. It is important to highlight that the fermentable sugars yield of  $5.60 \pm 1.41$  g / 100 g sample (obtained for the hydrolysis of untreated DRB), is a satisfactory value, since within the 100 g of biomass on a dry basis, there are non-hydrolyzable components, such as extractives ( $27.2 \pm 2.5$  %), ash ( $12.4 \pm 0.1$  %) and lignin (8.63 %), which totalize 58.83 %.

**Table 2.** Fermentable sugar yield ( $Y_{FS}$ ) and efficiency (E) of SWH of untreated and pretreated DRB at 10 MPa.

Exp	Code	Solvent/feed mass ratio (g water/g sample)	Temperature (°C)	$Y_{FS}$ (g/100g sample)	E (g/100g carbohydrates)
1	230 °C/R-50	50	230	$8.31 \pm 1.19$	$16.15 \pm 2.32$
2	230°C/R-100	100	230	$10.57 \pm 2.18$	$20.56 \pm 8.87$
3	260°C/R-50	50	260	$6.87 \pm 0.59$	$13.84 \pm 1.62$
4	260°C/R-100	100	260	$14.37 \pm 1.12$	$27.95 \pm 2.17$
5*	DRB230°C/R-100	50	230	$5.60 \pm 1.41$	$14.53 \pm 3.66$
6*	DRB260°C/R-100	100	260	$6.53 \pm 0.62$	$16.98 \pm 1.60$

\* Assay using untreated DRB  
 $Y_{FS}$ : fermentable sugar yield  
 E: Efficiency

The highest efficiency (Table 2) was  $27.95 \pm 2.17$  g / 100 g of carbohydrates due to the reduced lignin composition in the pretreated DRB, and also the higher concentration of hemicelluloses (Fig. 1.c). In a general way, it could be seen that the employment of pretreatment on DRB increased the yield and efficiency, with their highest values obtained at solvent/feed mass ratio of 100. Pressed palm fiber was also submitted for SWH and the highest yield of sugar (2.83 g / 100 g biomass) was obtained at 256 °C for 30 min (Prado et al., 2014b). Another study obtained a sugar yield of 8.00 g/100g biomass for DRB submitted to SWH at 210 °C for 20 min (Watchararujji et al., 2008). It is important to note that these

authors performed the experiment in batch mode of operation, without any pretreatment on DRB.

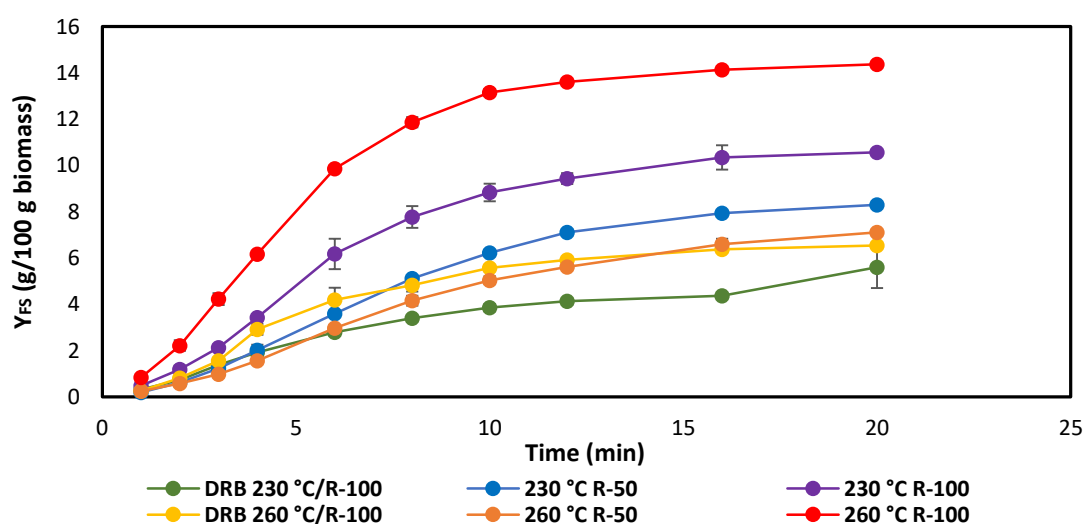
The knowledge of kinetic profiles for  $Y_{FS}$  is important for an analysis along the process time (Fig.2.a). In the first 4 minutes, it can be seen that, in general, there was a higher rate of hydrolysis for all conditions evaluated. For the untreated DRB at 230 °C and 260 °C with R-100, in the first 4 minutes of SWH, it can be assessed that the hydrolysis rate did not exceed 0.72 g / 100 g.min. In the hydrolysis conditions of 230 °C and 260 °C with R-50 for the pretreated DRB, the hydrolysis rate in the first 4 minutes did not exceed the value of 0.50 g / 100 g.min. Still evaluating in the first 4 minutes, the maximum hydrolysis rate (1.54 g / 100 g.min) was obtained at 260 °C / R-100, using pretreated DRB. This represents an increase of 2.15 times in the hydrolysis rate for the first 4 minutes when comparing the untreated with the pretreated DRB, both subjected to 260 °C / R-100 in the SWH. After 4 min of process, it may be noted that the hydrolysis rate fell for the conditions with the highest yield in sugars (230 °C / R-100 and 260 °C / R-100, pretreated DRB), but still remained larger than those observed for untreated DRB submitted at SWH. Thus, the lower content of lignin on pretreated DRB may have decreased recalcitrance in the dissociation process of cellulose and hemicelluloses (Pu et al., 2013). Clearly, for the SWH, the pretreatment in the DRB, implied in higher rates of hydrolysis, when compared to the untreated DRB. From 12 minutes, for all conditions evaluated, both untreated and pretreated DRB, presented very low hydrolysis rate, indicating the end of the carbohydrate dissociation.

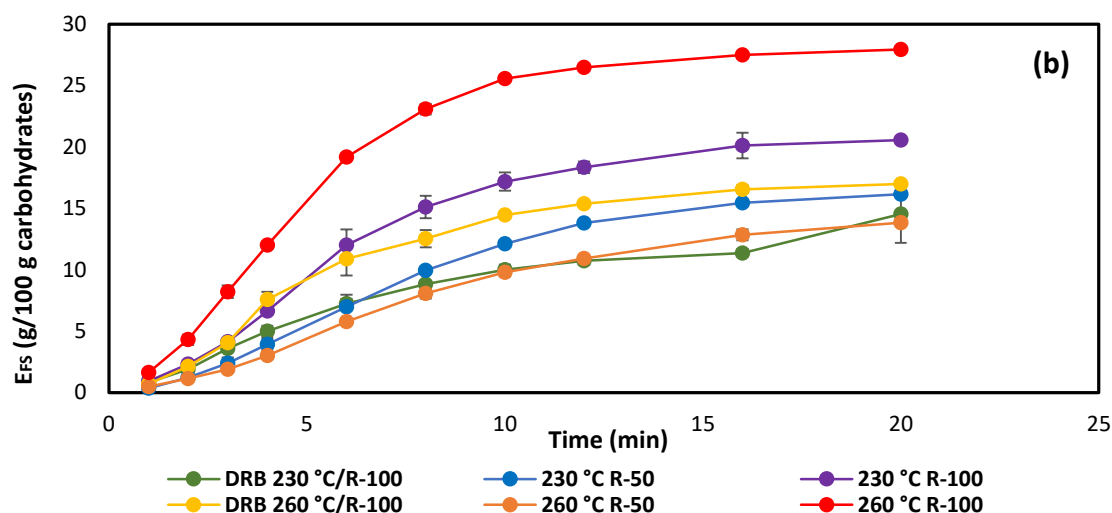
With respect to studies reported elsewhere, the SWH process was applied to hydrolyze rice husk (Abaide et al., 2019c). The authors evaluated the influence of solvent/feed ratio and temperature on hydrolysis rate. For the 220 °C / R-15 condition in the first 3 min of reaction, the hydrolysis rate was 2.7 g / 100g.min. SWH was also applied to dissociate lignocellulosic biomass from defatted grape seed, pressed palm fiber and coconut husk (Prado et al., 2014b).



The authors obtained the maximum rates of hydrolysis for the coconut husk (0.9 g / 100g.min), defatted grape seed (0.26 g / 100g.min) and pressed palm fiber (0.66 g / 100g.min).

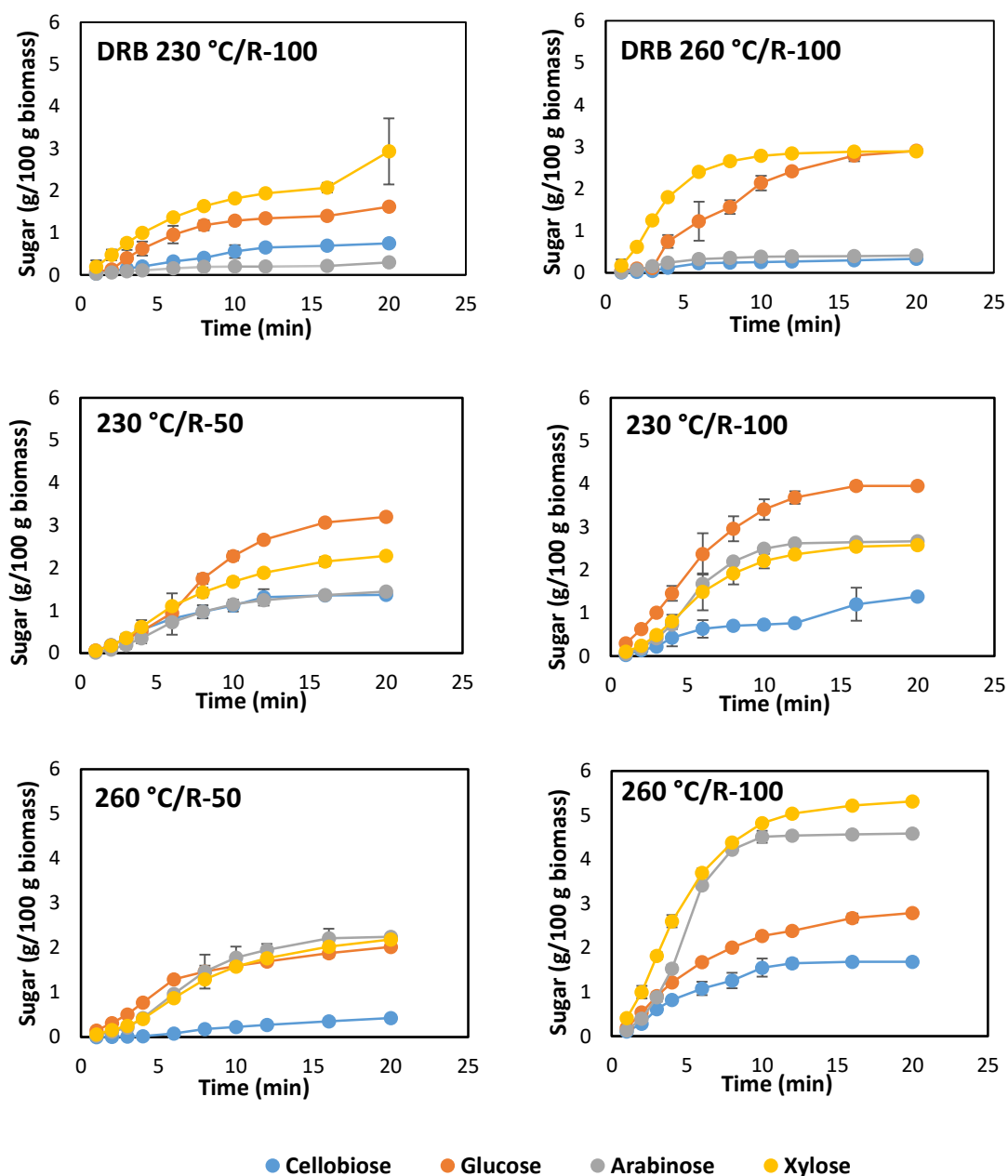
As shown in Figure 2.b, cellulose and hemicelluloses were hydrolyzed into fermentable sugars with high E values for pretreated DRB at 260 °C / R-100. In the first 4 min of reaction, a hydrolysis carbohydrates rate of 2.75 g / 100 g.min was obtained. The untreated DRB submitted to SWH at 260 °C / R-100, presented a hydrolysis carbohydrates rate of 1.89 g / 100 g.min, a difference of 0.86g / 100 g.min from the untreated DRB. The hydrolysis rate in the first 4 min of SWH at 230 °C / R-100, for the untreated and pretreated DRB, also showed a difference, however it was lower than to SWH at 260 °C / R-100 rate. For the untreated DRB submitted to 230 °C / R-100, in the first 4 minutes, 1.21 g /100 g.min was obtained, while for the pre-treated DRB under the same hydrolysis condition, the hydrolysis rate was 1 .66 g /100 g.min, a difference of 0.45 g/ 100 g.min. Again, pretreated DRB presented the highest values of  $Y_{FS}$  and efficiency throughout the experiment time.





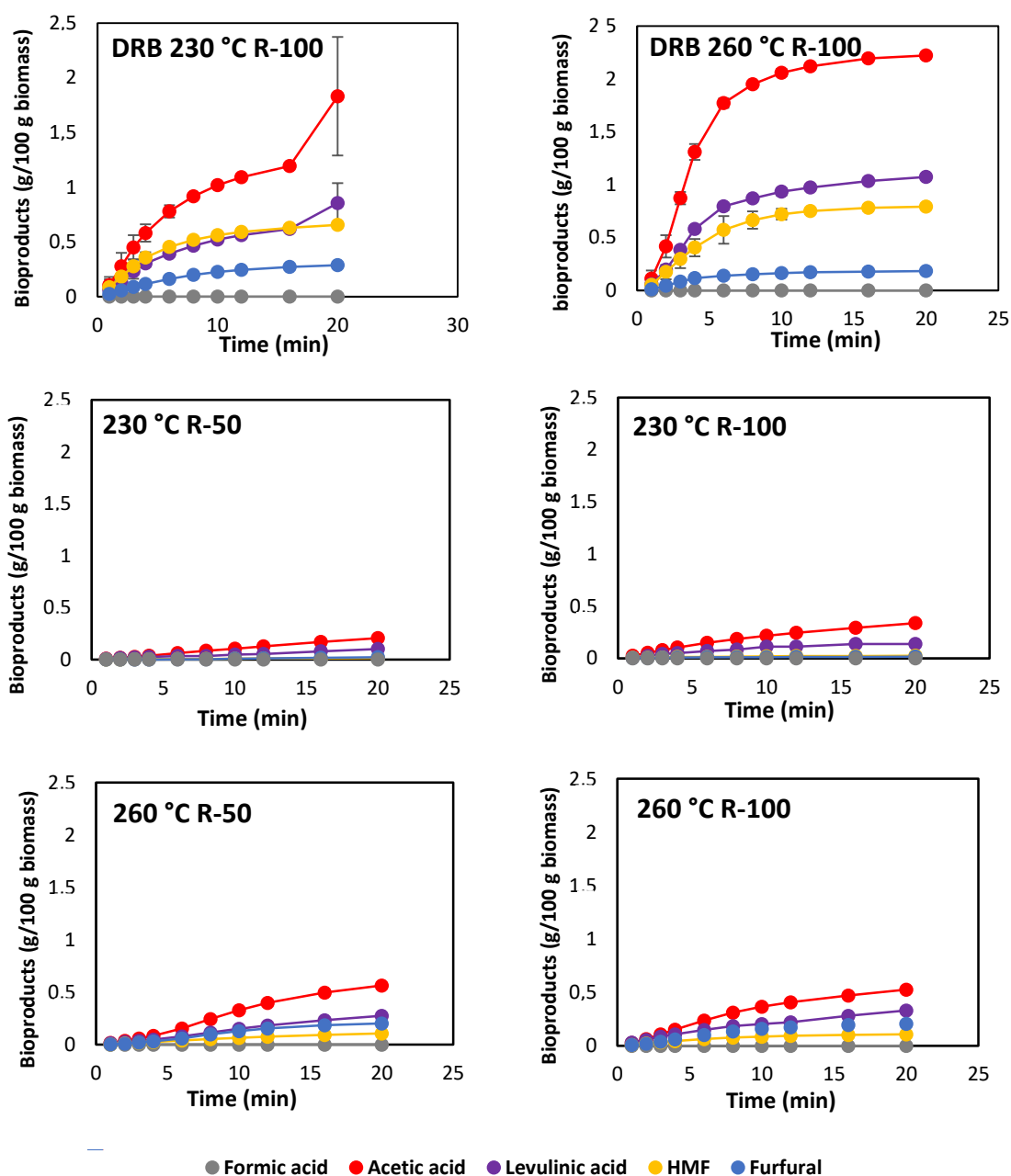
**Fig. 2:** FS yield and efficiency profiles for untreated and pretreated DRB at 10 MPa (accumulated samples).

A kinetic profile for sugar and bioproducts molecules is highlighted in Fig.3 and Fig 4. For pretreated DRB submitted at SWH at 260 °C / R-100, xylose and arabinose kinetic profiles presented the maximum hydrolysis rate (0.53 g / 100g.min) on the first 8 min of process. For glucose, the hydrolysis rate up to 8 min of the process was 0.25 g / 100 g.min, being reduced to 0.05 g / 100 g.min in the remaining 12 min of the experiment (until 20 min). The hydrolysis rate for xylose and arabinose from untreated DRB subjected to the same condition (260 °C / R-100) was much lower, equal to 0.33 and 0.04 g / 100 g.min, respectively. This is expected, since at 260 °C there is a higher rate of cellulose dissociation and greater degradation of the sugars (xylose and arabinose) of the hemicelluloses into organic acids (Cocero et al., 2018). Thus, the hydrolysis rate for these sugars was improved when comparing SWH using untreated and pretreated DRB.



**Fig. 3.** Kinetic profiles of glucose, cellobiose, xylose and arabinose (accumulated samples) for untreated and pretreated DRB at 10 MPa.

In Figure 4, at 260 °C/ R-100 condition, the hydrolysis rate in the first 5 min for acetic acid was higher for untreated DRB (0.23 g / 100g.min) when compared to pretreated DRB (0.03 g / 100 g.min). Acetic acid can reduce the capacity of microorganisms to produce ethanol (Vedovatto et al., 2021), so the pretreatment condition of 260 °C / R-100 which presented higher yields in sugars and lower acetic acid content, is interesting for favoring the viability of this strategy in ethanol production.



**Fig. 4.** Kinetic profiles of bioproducts (accumulated samples) for untreated and pretreated DRB at 10 MPa.

For the SWH assays, in all the conditions studied, which used pretreated DRB, the hydrolysis rate of the byproducts remained constant over 20 min, demonstrating that if the reaction continued, these molecules would still be produced but at very low contents. For pretreated DRB in all experimental conditions evaluated for SWH, the kinetic profile for HMF and furfural presented lower value, when compared to untreated DRB submitted to SWH at 230 °C and 260 °C. The reduction in the lignin content reduces the recalcitrance of

lignocellulosic biomass, facilitating the hydrolysis of carbohydrates and reducing the degradation of fermentable sugars into inhibitors, as there is greater access to the solvent at that time of residence evaluated (Prado et al., 2016). There was rapid degradation of cellulose and hemicelluloses, associated to a high acetic acid content, in the first 5 min for all SWH conditions for untreated DRB. For pretreated DRB the hydrolysis rate of inhibitors was constant.

#### **4. Conclusion**

In this work, four DES were employed in pretreatment of DRB. A high hemicelluloses content (44.1 %) and delignification degree (2.45) were found using ChCl:U:H<sub>2</sub>O at 120 °C during 4h. Pretreated DRB with ChCl:Gly presented high  $Y_{FS}$  ( $14.37 \pm 1.12$  g / 100 g biomass) at 260 °C /R-100. For untreated DRB at the same SWH condition,  $Y_{FS}$  was  $6.53 \pm 0.62$  g / 100 g biomass. This indicates a 2.20 increase in  $Y_{FS}$  using pretreated DRB. Thus, DES pretreatment may be a promising alternative for delignification and enrichment in hemicelluloses. The sequential SWH demonstrated potential to obtain fermentable sugar.

#### **Conflict of interest**

The authors inform that there are no conflicts of interest.

#### **Acknowledgements**

The authors would like to thank the Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS: 19/2551-0001261-6 and 19/2551-0001790-1), E. R. Abaide, F. D. Mayer and F. Castilhos and CNPq for the productivity grants.

#### **REFERENCES**

Abaide, E.R., Mortari, S.R., Ugalde, G., Valério, A., Amorim, S.M., Di Luccio, M., Moreira, R. de F.P.M., Kuhn, R.C., Priamo, W.L., Tres, M. V., Zobot, G.L., Mazutti, M.A., 2019a. Subcritical

- water hydrolysis of rice straw in a semi-continuous mode. *J. Clean. Prod.* 209, 386–397.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.259>
- Abaide, E.R., Tres, M. V., Zobot, G.L., Mazutti, M.A., 2019b. Reasons for processing of rice coproducts: Reality and expectations. *Biomass and Bioenergy* 120, 240–256.  
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.11.032>
- Abaide, E.R., Ugalde, G., Di Luccio, M., Moreira, R. de F.P.M., Tres, M. V., Zobot, G.L., Mazutti, M.A., 2019c. Obtaining fermentable sugars and bioproducts from rice husks by subcritical water hydrolysis in a semi-continuous mode. *Bioresour. Technol.* 272, 510–520.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.075>
- Alvarez-Vasco, C., Ma, R., Quintero, M., Guo, M., Geleynse, S., Ramasamy, K.K., Wolcott, M., Zhang, X., 2016. 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, 5133–5141.  
<https://doi.org/10.1039/c6gc01007e>
- Cai, J., Wu, W., Liu, R., Huber, G.W., 2013. A distributed activation energy model for the pyrolysis of lignocellulosic biomass. *Green Chem.* 15, 1331–1340. <https://doi.org/10.1039/c3gc36958g>
- Carrier, M., Loppinet-Serani, A., Denux, D., Lasnier, J.M., Ham-Pichavant, F., Cansell, F., Aymonier, C., 2011. Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass. *Biomass and Bioenergy* 35, 298–307.  
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.08.067>
- Chen, Y.L., Zhang, X., You, T.T., Xu, F., 2019. Deep eutectic solvents (DESs) for cellulose dissolution: a mini-review. *Cellulose* 26, 205–213. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2130-7>
- Chen, Z., Bai, X., Lusi, A., Zhang, H., Wan, C., 2020. Insights into Structural Changes of Lignin toward Tailored Properties during Deep Eutectic Solvent Pretreatment. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 8, 9783–9793. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c01361>
- Chen, Z., Reznicek, W.D., Wan, C., 2018. Deep eutectic solvent pretreatment enabling full utilization of switchgrass. *Bioresour. Technol.* 263, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.058>

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

CONAB, 2021. Monitoring the Brazilian crop. Grains / 2020/2021 crop.

da Costa Lopes, A.M., João, K.G., Rubik, D.F., Bogel-Łukasik, E., Duarte, L.C., Andreus, J., Bogel-Łukasik, R., 2013. Pre-treatment of lignocellulosic biomass using ionic liquids: Wheat straw fractionation. *Bioresour. Technol.* 142, 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.032>

Dai, Y., Witkamp, G.J., Verpoorte, R., Choi, Y.H., 2015. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chem.* 187, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.123>

Draszewski, C.P., Bragato, C.A., Lachos-Perez, D., Celante, D., Frizzo, C.P., Castilhos, F., Tres, M. V., Zobot, G.L., Abaide, E.R., Mayer, F.D., 2021. Subcritical water hydrolysis of rice husks pretreated with deep eutectic solvent for enhance fermentable sugars production. *J. Supercrit. Fluids* 178, 105355. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105355>

FAO, 2018. Rice market monitor.

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

Gul, K., Yousuf, B., Singh, A.K., Singh, P., Wani, A.A., 2015. Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food - A review. *Bioact. Carbohydrates Diet. Fibre* 6, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2015.06.002>

Gundupalli, M.P., Tantayotai, P., Panakkal, E.J., Chuetor, S., Kirdponpattara, S., Thomas, A.S.S., Sharma, B.K., Sriariyanun, M., 2022. Hydrothermal pretreatment optimization and deep eutectic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass: An integrated approach. *Bioresour. Technol. Reports* 17, 100957. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.100957>

- Hata, S., Wiboonsirikul, J., Maeda, A., Kimura, Y., Adachi, S., 2008. Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. *Biochem. Eng. J.* 40, 44–53.  
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.11.016>
- Lachos-Perez, D., Martinez-Jimenez, F., Rezende, C.A., Tompsett, G., Timko, M., Forster-Carneiro, T., 2016. Subcritical water hydrolysis of sugarcane bagasse: An approach on solid residues characterization. *J. Supercrit. Fluids* 108, 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.10.019>
- Lachos-Perez, D., Tompsett, G.A., Guerra, P., Timko, M.T., Rostagno, M.A., Martínez, J., Forster-Carneiro, T., 2017. Sugars and char formation on subcritical water hydrolysis of sugarcane straw. *Bioresour. Technol.* 243, 1069–1077. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.080>
- Li, A.L., Hou, X.D., Lin, K.P., Zhang, X., Fu, M.H., 2018. Rice straw pretreatment using deep eutectic solvents with different constituents molar ratios: Biomass fractionation, polysaccharides enzymatic digestion and solvent reuse. *J. Biosci. Bioeng.* 126, 346–354.  
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.03.011>
- Lin, L., Ying, D., Chaitep, S., Vittayapadung, S., 2009. Biodiesel production from crude rice bran oil and properties as fuel. *Appl. Energy* 86, 681–688.  
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2008.06.002>
- Morone, A., Apte, M., Pandey, R.A., 2015. Levulinic acid production from renewable waste resources: Bottlenecks, potential remedies, advancements and applications. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 51, 548–565. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.06.032>
- NREL, 2020. National Renewable Energy Laboratory [WWW Document]. URL <https://www.nrel.gov/bioenergy/biomass-compositional-analysis.html>
- Oh, Y., Park, S., Jung, D., Oh, K.K., Lee, S.H., 2020. Effect of hydrogen bond donor on the choline chloride-based deep eutectic solvent-mediated extraction of lignin from pine wood. *Int. J. Biol. Macromol.* 165, 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.145>



- Peng, X.W., Ren, J.L., Zhong, L.X., Cao, X.F., Sun, R.C., 2011. Microwave-induced synthesis of carboxymethyl hemicelluloses and their rheological properties. *J. Agric. Food Chem.* 59, 570–576. <https://doi.org/10.1021/jf1036239>
- Peng, Y., Wu, S., 2010. The structural and thermal characteristics of wheat straw hemicellulose. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 88, 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2010.03.006>
- Prado, J.M., Follegatti-Romero, L.A., Forster-Carneiro, T., Rostagno, M.A., Maugeri Filho, F., Meireles, M.A.A., 2014a. Hydrolysis of sugarcane bagasse in subcritical water. *J. Supercrit. Fluids* 86, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.11.018>
- Prado, J.M., Forster-Carneiro, T., Rostagno, M.A., Follegatti-Romero, L.A., Maugeri Filho, F., Meireles, M.A.A., 2014b. Obtaining sugars from coconut husk, defatted grape seed, and pressed palm fiber by hydrolysis with subcritical water. *J. Supercrit. Fluids* 89, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.02.017>
- Prado, J.M., Lachos-Perez, D., Forster-Carneiro, T., Rostagno, M.A., 2016. Sub- And supercritical water hydrolysis of agricultural and food industry residues for the production of fermentable sugars: A review. *Food Bioprod. Process.* 98, 95–123. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.11.004>
- Procentese, A., Johnson, E., Orr, V., Garruto Campanile, A., Wood, J.A., Marzocchella, A., Rehmann, L., 2015. Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent saccharification of corncob. *Bioresour. Technol.* 192, 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.053>
- Procentese, A., Raganati, F., Olivieri, G., Russo, M.E., Rehmann, L., Marzocchella, A., 2017. Low-energy biomass pretreatment with deep eutectic solvents for bio-butanol production. *Bioresour. Technol.* 243, 464–473. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.143>
- Procentese, A., Rehmann, L., 2018. Fermentable Sugar Production from a Coffee Processing By-product after Deep Eutectic Solvent Pretreatment. *Bioresour. Technol. Reports* 4, 174–180. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.10.012>

- Pu, Y., Hu, F., Huang, F., Davison, B.H., Ragauskas, A.J., 2013. Assessing the molecular structure basis for biomass recalcitrance during dilute acid and hydrothermal pretreatments. *Biotechnol. Biofuels* 6, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-15>
- Rafe, A., Sadeghian, A., 2017. Stabilization of Tarom and Domesiah cultivars rice bran: Physicochemical, functional and nutritional properties. *J. Cereal Sci.* 74, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.01.019>
- Santos, M.S.N. do., Zobot, G.L., Mazutti, M.A., Ugalde, G.A., Rezzadori, K., Tres, M. V., 2020. Optimization of subcritical water hydrolysis of pecan wastes biomasses in a semi-continuous mode. *Bioresour. Technol.* 306, 123129. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123129>
- Shen, Z., Zhang, K., Si, M., Liu, M., Zhuo, S., Liu, D., Ren, L., Yan, X., Shi, Y., 2018. Synergy of lignocelluloses pretreatment by sodium carbonate and bacterium to enhance enzymatic hydrolysis of rice straw. *Bioresour. Technol.* 249, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.008>
- Smink, D., Juan, A., Schuur, B., Kersten, S.R.A., 2019. Understanding the Role of Choline Chloride in Deep Eutectic Solvents Used for Biomass Delignification. *Ind. Eng. Chem. Res.* 58, 16348–16357. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b03588>
- Sunphorka, S., Chavasiri, W., Oshima, Y., Ngamprasertsith, S., 2012. Protein and sugar extraction from rice bran and de-oiled rice bran using subcritical water in a semi-continuous reactor: Optimization by response surface methodology. *Int. J. Food Eng.* 8. <https://doi.org/10.1515/1556-3758.2262>
- Sutanto, S., Go, A.W., Chen, K.H., Nguyen, P.L.T., Ismadji, S., Ju, Y.H., 2017. Release of sugar by acid hydrolysis from rice bran for single cell oil production and subsequent in-situ transesterification for biodiesel preparation. *Fuel Process. Technol.* 167, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2017.07.014>

- Tan, Y.T., Ngoh, G.C., Chua, A.S.M., 2018. Evaluation of fractionation and delignification efficiencies of deep eutectic solvents on oil palm empty fruit bunch. *Ind. Crops Prod.* 123, 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.091>
- Thi, S., Lee, K.M., 2019. Comparison of deep eutectic solvents (DES) on pretreatment of oil palm empty fruit bunch (OPEFB): Cellulose digestibility, structural and morphology changes. *Bioresour. Technol.* 282, 525–529. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.065>
- Tsuchiya, Y., Yoshida, T., 2017. Pelletization of brown coal and rice bran in Indonesia: Characteristics of the mixture pellets including safety during transportation. *Fuel Process. Technol.* 156, 68–71. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.10.009>
- Vedovatto, F., Bonatto, C., Bazoti, S.F., Venturin, B., Alves., S.L., Kunz, A., Steinmetz, R.L.R., Treichel, H., Mazutti, M.A., Zobot, G.L., Tres, M. V., 2021. Production of biofuels from soybean straw and hull hydrolysates obtained by subcritical water hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 328. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124837>
- Wang, W., Lee, D.J., 2021. Lignocellulosic biomass pretreatment by deep eutectic solvents on lignin extraction and saccharification enhancement: A review. *Bioresour. Technol.* 339, 125587. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125587>
- Watchararujji, K., Goto, M., Sasaki, M., Shotipruk, A., 2008. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresour. Technol.* 99, 6207–6213. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.021>
- Watkins, D., Nuruddin, M., Hosur, M., Tcherbi-Narteh, A., Jeelani, S., 2015. Extraction and characterization of lignin from different biomass resources. *J. Mater. Res. Technol.* 4, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2014.10.009>
- Xia, Q., Liu, Yongzhuang, Meng, J., Cheng, W., Chen, W., Liu, S., Liu, Yixing, Li, J., Yu, H., 2018. Multiple hydrogen bond coordination in three-constituent deep eutectic solvents enhances lignin fractionation from biomass. *Green Chem.* 20, 2711–2721. <https://doi.org/10.1039/c8gc00900g>

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

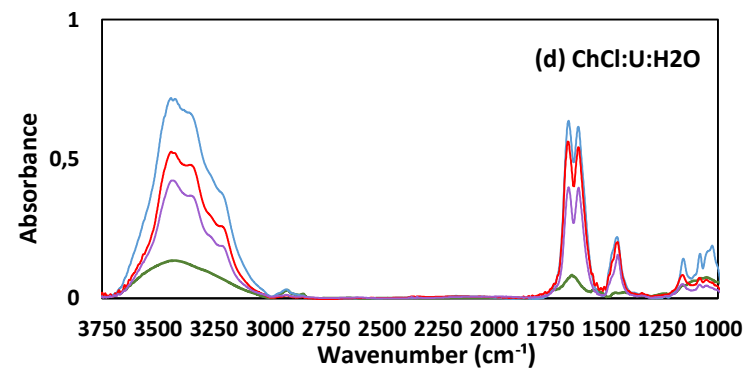
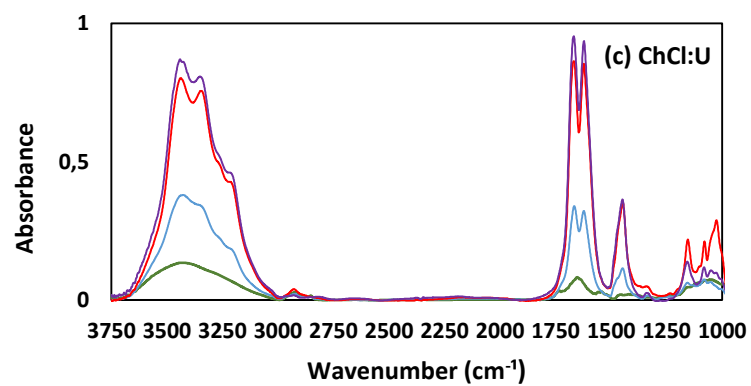
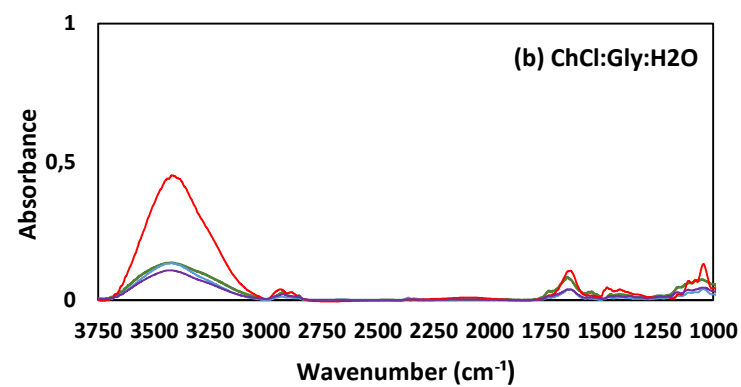
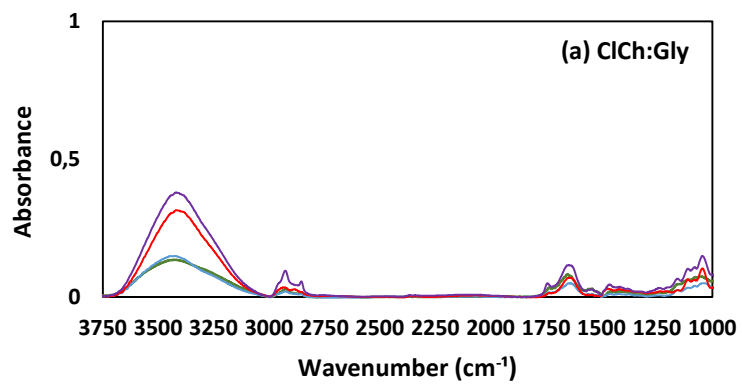
Xu, H., Peng, J., Kong, Y., Liu, Y., Su, Z., Li, B., Song, X., Liu, S., Tian, W., 2020. Key process parameters for deep eutectic solvents pretreatment of lignocellulosic biomass materials: A review. *Bioresour. Technol.* 310, 123416. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123416>

Xu, J., Li, C., Dai, L., Xu, C., Zhong, Y., Yu, F., Si, C., 2020. Biomass Fractionation and Lignin Fractionation towards Lignin Valorization. *ChemSusChem* 13, 4284–4295. <https://doi.org/10.1002/cssc.202001491>

Zhuang, X., Yin, T., Han, W., Zhang, X., 2019. Nutritional ingredients and active compositions of defatted rice bran, Rice Bran and Rice Bran Oil: Chemistry, Processing and Utilization. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812828-2.00010-X>

**Supplementary Material**

FT-IR spectra of DRB and pretreated DRB with (a) ChCl:Gly, (b) ChCl:Gly:H<sub>2</sub>O, (c) ChCl:U and (d) ChCl:U:H<sub>2</sub>O in different times.



## 5 CONCLUSÕES GERAIS

O farelo de arroz desengordurado, devido à sua composição lignocelulósica, com teor de carboidratos de 39,37%, e baixo teor de lignina (8,63%), apresenta potencial uso em processamentos para obtenção de açúcares fermentescíveis e bioprodutos. O uso dos solventes eutéticos demonstrou eficácia na deslignificação e no enriquecimento nos teores de hemiceluloses. A mistura composta por Cloreto de colina: Ureia e água gerou o maior enriquecimento do teor de hemiceluloses (44,1%) e grande capacidade na redução do teor de lignina (3,56%). Entretanto, a utilização da biomassa restante deste pré-tratamento mostrou-se operacionalmente inviável em testes preliminares, devido ao entupimento de tubulações observado durante o processo de hidrólise. Portanto, o DES que se mostrou mais adequado para o pré-tratamento do farelo de arroz desengordurado foi o formado por Cloreto de colina:Glicerol, no tempo de 4 horas, apresentando um grau de deslignificação de 1,3 vezes, um conteúdo de celulose de 11,3% e um teor de hemiceluloses de 40,1%.

O farelo de arroz desengordurado *in natura* e aquele obtido a partir do pré-tratamento com a mistura de cloreto de colina: glicerol foram submetidos, separadamente, aos ensaios de hidrólise subcrítica, com o intuito de comparar o efeito do pré-tratamento sob os perfis cinéticos e no rendimento de açúcares fermentescíveis e bioprodutos (ácidos orgânicos e inibidores). Na condição de hidrólise subcrítica com temperatura de 260 °C e razão de 100 solvente/alimentação, os ensaios que utilizaram farelo de arroz desengordurado *in natura* e pré-tratado apresentaram rendimentos em açúcares fermentescíveis de  $6,53 \pm 0,62$  e  $14,37 \pm 1,12$  g/100 g de biomassa, respectivamente. Dessa forma foi obtido um aumento de 120% no rendimento de açúcares quando comparadas as amostras *in natura* e pré-tratadas. Os inibidores, por sua vez, diminuíram de forma considerável quando submetidos à condição relatada acima, apresentando rendimentos de  $0,97 \pm 0,64$  g/100 g de biomassa e  $0,31 \pm 0,4$  g/100 g de biomassa para as amostras *in natura* e pré-tratada, respectivamente. A partir deste estudo pode-se observar que o uso dos solventes eutéticos no pré-tratamento de farelo de arroz desengordurado apresentou grande potencial, visando o aumento no rendimento de açúcares fermentescíveis obtidos através da hidrólise subcrítica.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a recuperação dos solventes eutéticos e seu reuso;
- Analisar os teores de lignina solúvel e oligômeros da celulose na fase solubilizada pelo solvente eutético;
- Avaliar o uso de farelo de arroz desengordurado pré-tratado no processo de hidrólise enzimática.

## REFERÊNCIAS

- ABAIDE, E. R. et al. Reasons for processing of rice coproducts: Reality and expectations. **Biomass and Bioenergy**, v. 120, n. November 2018, p. 240–256, 2019a.
- ABAIDE, E. R. et al. Obtaining fermentable sugars and bioproducts from rice husks by subcritical water hydrolysis in a semi-continuous mode. **Bioresource Technology**, v. 272, n. September 2018, p. 510–520, 2019b.
- ABAIDE, E. R. et al. Subcritical water hydrolysis of rice straw in a semi-continuous mode. **Journal of Cleaner Production**, v. 209, p. 386–397, 2019c.
- ABBOTT, A. P. et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. **Chemical Communications**, n. 1, p. 70–71, 2003.
- ANAL, Anil Kumar. **Food Processing By-Products and their Utilization**. USA: JohnWiley & Sons Ltd, 2018. 583 p.
- ASHOKKUMAR, V. et al. Recent advances in lignocellulosic biomass for biofuels and value-added bioproducts - A critical review. **Bioresource Technology**, v. 344, n. PB, p. 126195, 2022.
- BENITO-ROMÁN, O. et al. Valorization of rice bran: Modified supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive compounds. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 80, p. 273–282, 2019.
- CATARINA, A.; COSTA, F. Estudo Das Propriedades Termofísicas Dos Solventes Eutéticos E Desenvolvimento De Novas Membranas. p. 114, 2016.
- CHEN, Z.; REZNICEK, W. D.; WAN, C. Deep eutectic solvent pretreatment enabling full utilization of switchgrass. **Bioresource Technology**, v. 263, n. April, p. 40–48, 2018.
- CHERUBINI, F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 7, p. 1412–1421, 2010.
- CHOI, S. et al. Biorefineries for the production of top building block chemicals and their derivatives. **Metabolic Engineering**, v. 28, p. 223–239, 2015.
- COCERO, M. J. et al. Understanding biomass fractionation in subcritical & supercritical water. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 550–565, 2018.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos. **CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 8, n. Terceiro levantamento, p. 59, 2021.
- DAI, Y. et al. Ionic liquids and deep eutectic solvents in natural products research: Mixtures of solids as extraction solvents. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 11,



p. 2162–2173, 2013.

DAI, Y. **Natural Deep Eutectic Solvents and their application in natural product research and development**. 2013. 193 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia, Leiden University, Shanxi Province, 2013.

DAVISON, B. H. et al. Plant Cell Walls: Basics of Structure, Chemistry, Accessibility and the Influence on Conversion. **Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals**, p. 23–38, 2013.

DIAS, M. C. G. C. **Caracterização Do Solvente Eutético Profundo Aplicado** **Caracterização Do Solvente Eutético Profundo Aplicado Em Extração Líquido-Líquido**. 2016. 136 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

DRASZEWSKI, C. P. et al. Subcritical water hydrolysis of rice husks pretreated with deep eutectic solvent for enhance fermentable sugars production. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 178, n. July, 2021.

ESCOBAR, E. L. N. et al. Supercritical Fluids: A Promising Technique for Biomass Pretreatment and Fractionation. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, n. April, p. 1–18, 2020.

FARINAS, C. S. A parede celular vegetal e as enzimas envolvidas na sua degradação. **Embrapa Instrumentação**, v. 1, p. 13, 2011.

GÍRIO, F. M. et al. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4775–4800, 2010.

GUL, K. et al. Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food - A review. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 6, n. 1, p. 24–30, 2015.

HAMEED, S. et al. A review on biomass pyrolysis models: Kinetic, network and mechanistic models. **Biomass and Bioenergy**, v. 123, n. April 2018, p. 104–122, 2019.

HATA, S. et al. Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, n. 1, p. 44–53, 2008.

HUANG, C. et al. Lignin-enzyme interaction: A roadblock for efficient enzymatic hydrolysis of lignocellulosics. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 154, n. July 2021, p. 111822, 2022.

KHALID, A. et al. The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v. 31, n. 8, p. 1737–1744, 2011.

KUMAR, A. K.; PARIKH, B. S.; PRAVAKAR, M. 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, 2015.

KUMAR, B. et al. Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: An emerging biorefinery concept. **Fuel Processing Technology**, v. 199, n. October 2019, 2020a.

KUMAR, R. et al. Lignocellulose biomass pyrolysis for bio-oil production: A review of biomass pre-treatment methods for production of drop-in fuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 123, n. May 2019, 2020b.

LACHOS-PEREZ, D. et al. Subcritical water hydrolysis of sugarcane bagasse: An approach on solid residues characterization. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 108, p. 69–78, 2016.

LACHOS-PEREZ, D. et al. Applications of subcritical and supercritical water conditions for extraction, hydrolysis, gasification, and carbonization of biomass: A critical review. **Biofuel Research Journal**, v. 4, n. 2, p. 611–626, 2017.

LENIHAN, P. et al. Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 2, p. 395–403, 2010.

LI, A. L. et al. Rice straw pretreatment using deep eutectic solvents with different constituents molar ratios: Biomass fractionation, polysaccharides enzymatic digestion and solvent reuse. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 126, n. 3, p. 346–354, 2018a.

LI, P. et al. Recyclable deep eutectic solvent for the production of cationic nanocelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, n. July, p. 219–227, 2018b.

LI, T. et al. Structural changes and enzymatic hydrolysis yield of rice bran fiber under electron beam irradiation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 122, p. 62–71, 2020.

LIN, F. M.; QIAO, B.; YUAN, Y. J. Comparative proteomic analysis of tolerance and adaptation of ethanologenic *Saccharomyces cerevisiae* to furfural, a lignocellulosic inhibitory compound. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 11, p. 3765–3776, 2009.

LIU, Y. et al. Chemical composition, structure, physicochemical and functional properties of rice bran dietary fiber modified by cellulase treatment. **Food Chemistry**, v. 342, n. October 2019, p. 128352, 2021.

LOU, R.; ZHANG, X. Evaluation of pretreatment effect on lignin extraction from wheat straw by deep eutectic solvent. **Bioresource Technology**, v. 344, n. PB, p. 126174, 2022.

MARABEZI, K. Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de Lignina e Holocelulose em amostras de Bagaço e Palha de Cana-de-Açúcar. p. 158, 2009.

- MAURYA, D. P.; SINGLA, A.; NEGI, S. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. **3 Biotech**, v. 5, n. 5, p. 597–609, 2015.
- MENON, V.; RAO, M. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, n. 4, p. 522–550, 2012.
- MISHRA, R. K.; MOHANTY, K. Kinetic analysis and pyrolysis behaviour of waste biomass towards its bioenergy potential. **Bioresource Technology**, v. 311, n. March, p. 123480, 2020.
- MULEY, P. D. et al. Rapid microwave-assisted biomass delignification and lignin depolymerization in deep eutectic solvents. **Energy Conversion and Management**, v. 196, n. June, p. 1080–1088, 2019.
- NAGOOR GUNNY, A. A. et al. Deep eutectic solvents-halophilic cellulase system: An efficient route for in situ saccharification of lignocellulose. **Process Biochemistry**, v. 81, n. March, p. 99–103, 2019.
- NEW, E. K. et al. Potential use of pure and diluted choline chloride-based deep eutectic solvent in delignification of oil palm fronds. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 123, p. 190–198, 2019.
- NOR, N. A. M.; MUSTAPHA, W. A. W.; HASSAN, O. Deep Eutectic Solvent (DES) as a Pretreatment for Oil Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB) in Sugar Production. **Procedia Chemistry**, v. 18, n. Mcls 2015, p. 147–154, 2016.
- OKUOFU, S. I. et al. Deep eutectic solvent pretreatment of Bambara groundnut haulm for enhanced saccharification and bioethanol production. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2020.
- PAL, Y. P.; PRATAP, A. P. Rice bran oil: A versatile source for edible and industrial applications. **Journal of Oleo Science**, v. 66, n. 6, p. 551–556, 2017.
- PANWAR, N. L.; KOTHARI, R.; TYAGI, V. V. Thermo chemical conversion of biomass - Eco friendly energy routes. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 4, p. 1801–1816, 2012.
- PRADO, J. M. et al. Obtaining sugars from coconut husk, defatted grape seed, and pressed palm fiber by hydrolysis with subcritical water. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 89, p. 89–98, 2014.
- PROCENTESE, A. et al. Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent saccharification of corncob. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 31–36, 2015.
- PROCENTESE, A.; REHMANN, L. Fermentable Sugar Production from a Coffee Processing By-product after Deep Eutectic Solvent Pretreatment. **Bioresource Technology Reports**, v. 4, n. September, p. 174–180, 2018.

RASMUSSEN, H.; SØRENSEN, H. R.; MEYER, A. S. Formation of degradation compounds from lignocellulosic biomass in the biorefinery: Sugar reaction mechanisms. **Carbohydrate Research**, v. 385, p. 45–57, 2014.

SADIQ, A. C. et al. Comparative removal of malachite green dye from aqueous solution using deep eutectic solvents modified magnetic chitosan nanoparticles and modified protonated chitosan beads. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 106281, 2021.

SAHOO, A. et al. Co-Hydrothermal Liquefaction of algal and lignocellulosic biomass: Status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 342, n. August, p. 125948, 2021.

ŠALIĆ, A. et al. Biodiesel purification in microextractors: Choline chloride based deep eutectic solvents vs water. **Separation and Purification Technology**, v. 242, n. February, 2020.

SANTOS, F. A. et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004–1010, 2012.

SANTOS, M. S. N. DO. et al. Optimization of subcritical water hydrolysis of pecan wastes biomasses in a semi-continuous mode. **Bioresource Technology**, v. 306, n. March, p. 123129, 2020.

SHEN, Z. et al. Synergy of lignocelluloses pretreatment by sodium carbonate and bacterium to enhance enzymatic hydrolysis of rice straw. **Bioresource Technology**, v. 249, n. August 2017, p. 154–160, 2018.

SILVA, G. G. D. et al. Effects of grinding processes on enzymatic degradation of wheat straw. **Bioresource Technology**, v. 103, n. 1, p. 192–200, 2012.

SINGH, R. et al. Strategies for selection of thermo-chemical processes for the valorisation of biomass. **Renewable Energy**, v. 98, p. 226–237, 2016.

SMITH, E. L.; ABBOTT, A. P.; RYDER, K. S. Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 21, p. 11060–11082, 2014.

SOARES, J. F. et al. Extraction of rice bran oil using supercritical CO<sub>2</sub> and compressed liquefied petroleum gas. **Journal of Food Engineering**, v. 170, p. 58–63, 2016.

SOHAIL, M. et al. Rice bran nutraceuticals: A comprehensive review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 17, p. 3771–3780, 2017.

SOREK, N. et al. The implications of lignocellulosic biomass chemical composition for the production of advanced biofuels. **BioScience**, v. 64, n. 3, p. 192–201, 2014.

SUNPHORKA, S. et al. Protein and sugar extraction from rice bran and de-oiled rice bran using subcritical water in a semi-continuous reactor: Optimization by response surface methodology. **International Journal of Food Engineering**, v. 8, n. 3, 2012.

TAN, Y. T.; NGOH, G. C.; CHUA, A. S. M. Evaluation of fractionation and delignification efficiencies of deep eutectic solvents on oil palm empty fruit bunch. **Industrial Crops and Products**, v. 123, n. June, p. 271–277, 2018.

THI, S.; LEE, K. M. Comparison of deep eutectic solvents (DES) on pretreatment of oil palm empty fruit bunch (OPEFB): Cellulose digestibility, structural and morphology changes. **Bioresource Technology**, v. 282, n. January, p. 525–529, 2019.

TOSCAN, A. **Estratégias de pré-tratamento para fracionamento e recuperação dos componentes majoritários de biomassa lignocelulósica para uso em biorrefinarias**. 2018. 184 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, 2018.

VELVIZHI, G. et al. Integrated biorefinery processes for conversion of lignocellulosic biomass to value added materials: Paving a path towards circular economy. **Bioresource Technology**, v. 343, n. September 2021, p. 126151, 2022.

WANG, S. et al. Lignocellulosic biomass pyrolysis mechanism: A state-of-the-art review. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 62, p. 33–86, 2017.

WANG, W.; LEE, D. J. Lignocellulosic biomass pretreatment by deep eutectic solvents on lignin extraction and saccharification enhancement: A review. **Bioresource Technology**, v. 339, n. May, p. 125587, 2021.

WATCHARARUJI, K. et al. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, p. 6207–6213, 2008.

WU, M. et al. Extractive deterpenation of citrus essential oils using quaternary ammonium-based deep eutectic solvents. **Journal of Molecular Liquids**, v. 336, p. 116868, 2021.

XU, H. et al. Key process parameters for deep eutectic solvents pretreatment of lignocellulosic biomass materials: A review. **Bioresource Technology**, v. 310, n. April, p. 123416, 2020.

YANG, J.; CHING, Y. C.; CHUAH, C. H. Applications of Lignocellulosic Fibers and Lignin in. **Polymers**, v. 11, p. 1–26, 2019.

YOUSUF, A.; PIROZZI, D.; SANNINO, F. **Fundamentals of lignocellulosic biomass**. [s.l.] INC, 2019.

YU, Y. et al. Steam explosion of lignocellulosic biomass for multiple advanced bioenergy processes: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 154, n. October 2021, p. 111871, 2022.

ZABOT, G. L. et al. Subcritical hydrolysis contribution in the holistic biorefinery concept: Obtaining bioproducts and biofuels from renewable natural resources for a novel bioeconomy. In: HOSSEINI, Majid (ed.). **Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts**: technologies and

approaches for scale-up and commercialization. Texas: Elsevier, 2019. Cap. 3. p. 35-57.

ZHANG, J. et al. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 95, n. September 2019, p. 183–195, 2020.

ZHANG, L.; XU, C. (CHARLES); CHAMPAGNE, P. Overview of recent advances in thermo-chemical conversion of biomass. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 5, p. 969–982, 2010.

ZHOU, M. et al. Lignin fractionation from lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents and its valorization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 156, n. November 2021, p. 111986, 2022.

ZHOU, Z.; LIU, D.; ZHAO, X. Conversion of lignocellulose to biofuels and chemicals via sugar platform: An updated review on chemistry and mechanisms of acid hydrolysis of lignocellulose. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 146, n. December 2020, p. 111169, 2021.

ZOGLHAMI, A.; PAËS, G. Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, n. December, 2019.