



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO USO DE SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS (DESs) NA
EXTRAÇÃO DE LIGNINA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Vanessa Freire de França

**João Pessoa-PB
DEZEMBRO/2022**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO DO USO DE SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS (DESS) NA EXTRAÇÃO DE LIGNINA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Vanessa Freire de França

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes.

Coorientadora: Profa. Dra. Cláudia de Oliveira Cunha

João Pessoa-PB

DEZEMBRO/2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F814a França, Vanessa Freire de.

Avaliação do uso de Solventes Eutéticos Profundos (DESS) na extração de lignina do bagaço de cana-de-açúcar / Vanessa Freire de França. - João Pessoa, 2022.

81 f. : il.

Orientação: Líliliana de Fátima B. Lira de Pontes.

Coorientação: Cláudia de Oliveira Cunha.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Lignina - Extração. 2. Biomassa Lignocelulósica. 3. Cana-de-açúcar - Bagaço. 4. Solventes Eutéticos Profundos - DES. 5. Planejamento experimental. I. Pontes, Líliliana de Fátima B. Lira de. II. Cunha, Cláudia de Oliveira. III. Título.

UFPB/BC

CDU 547.992(043)

Avaliação do uso de solventes eutéticos profundos (des) na extração de lignina em bagaço de cana-de-açúcar.

Dissertação de Mestrado apresentada pela aluna **Vanessa Freire de França** e aprovada pela banca examinadora em 16 de dezembro de 2022.



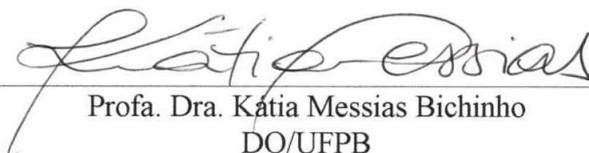
Prof. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes
DQ/UFPB
Orientadora/Presidente



Prof. Dra. Cláudia de Oliveira Cunha
DQ/UFPB
2ª. Orientadora



Prof. Dra. Márcia Helena Pontieri
DQ/UFPB
Examinadora externo



Prof. Dra. Katia Messias Bichinho
DQ/UFPB
Examinadora interna

Assinaturas da Banca realizadas em modo Webconferência em 16/12/2022, digitalizadas e certificadas pelo Prof. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes (SIAPE 1491615) 

A Deus, dono das minhas conquistas!
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar minha vida, colocando em meu caminho pessoas especiais, por ter sido meu guia e fortaleza e ter me capacitado ao longo dessa trajetória.

Aos meus pais, Reginaldo de França e Valdeni Freire de França, e meus irmãos Pedro Leonardo e Thiago Rafael, por não terem largado minha mão, por todo apoio e incentivo. Vocês sempre serão minha maior fonte de inspiração e a força para que eu continue a lutar pelos meus sonhos.

Ao meu noivo Emanuel Barbosa, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos, por toda compreensão, apoio, amor e carinho.

A minha família, meus avós Pedro Carlos, Socorro e Josefa, meus tios, em especial Erinaldo Freire, Jailson Freire e Ronaldo Freire que sempre me incentivaram, me ajudaram e por terem acreditado em mim!

Aos meus amigos Leiliane Dias, Rayane Dias, Luiz Carlos Trajano, Vanessa Brito, Rachel Maia, Jefferson Bonifácio, que sempre me ajudaram desde o início a concretizar o meu sonho, vocês são muito especiais em minha vida, obrigada a cada um por todos os ensinamentos, gargalhadas, ajuda, apoio e, sobretudo, pela amizade.

Gostaria de agradecer os meus amigos de mestrado (de bancada), que Deus colocou em meu caminho, Layane e Willyan. Agradeço por todos os ensinamentos compartilhados e por me guiarem nos primeiros passos da pós-graduação, vocês foram o meu suporte. Em especial a Willyan, que nunca desistiu dos nossos trabalhos e que me ajudou em cada passo dessa dissertação.

À minha querida orientadora Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes e coorientadora Cláudia de Oliveira Cunha, pelos ensinamentos, orientação, carinho e apoio.

Sou grata aos laboratórios da UFPB: Laboratório de Instrumentação e Automação em Química Analítica e Quimiometria (LAQA), Laboratório de Estudos em Química Ambiental (LEQA), Centro de Tecnologia (CT), Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) e ao Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) localizado na UFRN, que me receberam de braços abertos durante toda a realização dos meus experimentos.

À Universidade Federal da Paraíba e a CAPES pelo aperfeiçoamento profissional e apoio financeiro para a realização deste trabalho. E, a todos que de forma direta ou indireta estiveram ao meu lado nesta etapa tão importante da minha vida!

Muito obrigada!

RESUMO

A lignina possui um elevado interesse industrial uma vez que pode ser empregada na produção de variados produtos de interesse da indústria química, tais como novos polímeros e antioxidantes. Os Solventes Eutéticos Profundos (DESs) podem ser eficientes solventes na extração de lignina a partir de fontes renováveis, como as biomassas lignocelulósicas, favorecendo uma significativa deslignificação bem como, desempenhando um importante papel no conceito de química verde quando comparados com os que utilizam os solventes orgânicos convencionais como, hexano, e/ou ácidos e bases inorgânicas concentradas que apresentam algumas desvantagens como, elevada pressão de vapor e alta inflamabilidade. Deste modo, este estudo teve como objetivo avaliar e otimizar o uso dos solventes eutéticos profundos (DESs) na recuperação de lignina do bagaço de cana-de-açúcar. Três tipos de DESs foram avaliados, ChLa (cloreto de colina:ácido láctico), ChGy (cloreto de colina:glicerol) e ChU (cloreto de colina:ureia), selecionando-se o último devido ao melhor desempenho apresentado nos ensaios preliminares. Um planejamento experimental com ponto central foi realizado para investigar como os fatores volume do DES, adição de água ao solvente e tempo de extração influenciam no processo de recuperação. As técnicas de espectrometria na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA) e difratometria de raios-X (DRX) foram utilizadas para avaliar a estrutura da lignina e das amostras de bagaço. O tratamento do bagaço de cana-de-açúcar utilizando o método hidrotérmico, também foi realizado para comparar com os resultados obtidos com os DESs. Após o processo de extração, observou-se que houve uma diminuição significativa no teor de lignina quando o bagaço foi tratado com ChU quando comparado com o teor da matriz *in natura* (-55,05 %). Embora o ChLa também tenha sido eficiente na extração, em relação ao polímero estrutural, (-57,57%) ele também removeu significativa quantidade de hemicelulose, o que indica sua baixa seletividade. Já no tratamento hidrotérmico, houve um aumento no teor de lignina, cerca de 25,25%, demonstrando sua preferência em remover outros constituintes. Após a realização do planejamento experimental, observou-se que a maior remoção de lignina foi obtida nas seguintes condições: 0,3g de biomassa, 3 mL de DES, adição de 6% de água ao solvente e tempo de extração de 2h, obtendo-se uma extração de cerca de 58,38% do biopolímero alvo. A partir dos espectros de FTIR foi possível verificar que a estrutura da lignina foi preservada. Com relação aos espectros de DRX, houve um aumento no índice de cristalinidade indicando a remoção de grande parte da lignina amorfa durante o processo estudado. Os estudos realizados nessa pesquisa reforçam a eficiência do uso dos DES para extração da lignina possibilitando uma remoção mais rápida com uma redução de tempo de extração e temperatura.

Palavras-chave: Biomassa Lignocelulósica; DES; Extração; Lignina; Planejamento Experimental.

ABSTRACT

Lignin has a high interest for the industrial sector once it can be used in the production of a vast number of products in chemical industries such as new polymers and antioxidants. Deep Eutectic Solvents (DESs) can be efficient solvents in the extraction of lignin from renewable sources, such as lignocellulosic biomass, favoring a significant delignification as well as playing an important role in the concept of green chemistry when compared to those using conventional organic solvents, as hexane and/or concentrated inorganic acids and bases, for example, which have some disadvantages due their high vapor pressure and high flammability. Thus, this study has the aim to investigate and optimize the use of DESs in lignin recovery from sugarcane bagasse. Three different DESs were evaluated, ChLa (choline chloride: acid lactic), ChGy (choline chloride: glycerol) and ChU (choline chloride: urea), selecting the last one due to its better performance presented in preliminary tests. The experimental design approach, with center point added, was carried out to investigate the effect of DESs volume, water addition and extraction time on the studied recovery. The following techniques were used to understand the recovered lignin structure: Fourier-transform Infrared Spectrometry (FTIR), Thermogravimetry (TG) and X-ray Diffraction (DRX). The hydrothermal treatment of sugarcane bagasse was also carried out to be compared it to DESs treatments. After the extraction procedures, it was noticed the high mitigation of the lignin content using ChU (- 55.05 %). Although ChLa has presented a similar extraction capacity (-57.57%), this DESs also removed a significant content of hemicellulose, what indicated its poor selectivity. The hydrothermal treatment improved the lignin content (25.25 %), what indicate its capacity to remove other constituents instead of the target. After carrying out the experimental design, it was observed that the highest lignin removal was obtained under the following conditions: 0.3g of biomass, 3 mL of DES, 6% of water addition and 2h of extraction, obtaining an extraction of about 58.38% of the target biopolymer. The recovered lignin FTIR spectrum showed that the polymeric structure was preserved after the treatment and the DRX result pointed an increase of crystallinity index, as result of the realized extraction process. The studies carried out in this research reinforce the efficiency of using DES for lignin extraction, enabling faster removal with a reduction in temperature and extraction time.

Keywords: Lignocellulosic Biomass; DES; Extraction; Lignin; Experimental Design.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- a) Colmo da cana-de-açúcar; b) Partes que compõem o colmo.....	17
Figura 2- Estrutura da biomassa lignocelulósica.....	18
Figura 3- Representação esquemática da estrutura química da celulose	19
Figura 4- Representação da hemicelulose	20
Figura 5- Principais unidades aromáticas presentes na molécula de lignina: (a) p-Hidroxifenila; (b) Guaiacila; (c) Siringila	21
Figura 6- Formação do DES [ChCl:U] a partir do cloreto de colina e dois equivalentes de ureia.....	25
Figura 7- Exemplos de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio comumente utilizados na síntese de DES	27
Figura 8- Diagrama de fases de dois componentes formando um DES	29
Figura 9- 1) Moinho de facas e bagaço de cana; 2) Bagaço triturado e peneirado; 3) Bagaço armazenado.....	38
Figura 10- Inserção das amostras no bloco digestor marca MERCK.....	39
Figura 11- (a) Ensaio na autoclave; (b) amostras pré-tratadas inseridas em autoclave.....	46
Figura 12- Espectros FTIR de (a) ChCl, AcLa puros e DES [ChLa]	49
Figura 13- Espectros FTIR b) ChCl, Ureia puros e DES [ChU].....	50
Figura 14- Espectros FTIR (c) ChCl, Gy puros e DES [ChGy].....	51
Figura 15- Resultados obtidos para o efeito fitotóxico dos DES [ChLa] (a), [ChGy] (b) e [ChU] (c) para as sementes de alface (<i>Lactuca sativa</i>).....	54
Figura 16- Análise termogravimétrica (TG) do bagaço de cana-de-açúcar antes e após os tratamentos realizados (a) e suas respectivas curvas derivadas (DTG) (b).....	57
Figura 17- Espectros de absorção para o bagaço da cana <i>in natura</i> e tratado com os diferentes solventes.....	62
Figura 18- Difratoograma de Raios-X para o bagaço de cana <i>in natura</i> e tratado.....	64
Figura 19- Diagrama de Pareto para a recuperação de lignina na etapa de pré-tratamento.....	66
Figura 20- (a) (b) (c) Superfícies de resposta para a recuperação de lignina após o pré-tratamento com DES [ChU].....	70
Figura 21- Difratoograma de raios-X para a melhor condição pós pré-tratamento.....	71
Figura 22- Espectro de infravermelho do ponto ótimo.....	72
Figura 23- Análise de FTIR para as quatro amostras de lignina analisadas na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composições químicas e frações lignocelulósicas de variadas biomassas.....	19
Tabela 2- Principais Métodos de Extração de Lignina	23
Tabela 3- Razões molares das espécies utilizadas na síntese dos DESs.....	36
Tabela 4- Fatores estequiométricos de cada componente presente no extrato hidrolizado	42
Tabela 5- Matriz do planejamento fatorial 2^3	45
Tabela 6- Viscosidades dos DES's empregados no estudo.....	51
Tabela 7- Parâmetros físico-químicos avaliados para o bagaço de cana.....	55
Tabela 8- Composição lignocelulósica do bagaço de cana-de-açúcar após extração.....	58
Tabela 9- Índice de cristalinidade para as amostras de bagaço de cana.....	64
Tabela 10- Matriz do planejamento fatorial 2^3	65
Tabela 11- Análise de variância (ANOVA) para a recuperação de lignina após o pré- tratamento com DES.....	68
Tabela 12- Índice de cristalinidade para o ponto ótimo.....	70

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AACC	Ácido Acético-Cloreto de Colina
APHA	Método padrão para o exame de água e águas residual (<i>Standard methods for the examination of water and wastewater</i>)
ChGy	Cloreto de Colina-Glicerol
ChLa	Cloreto de Colina-Ácido Lático
ChU	Cloreto de Colina-Ureia
DES	Solventes Eutéticos Profundos (<i>Deep Eutectic Solvents</i>)
DQO	Demanda Química de Oxigênio (<i>chemical oxygen demand</i>)
DRX	Difração de Raios-X (<i>X-Ray Diffraction</i>)
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
HBA	Aceitador de Ligação de Hidrogênio (<i>Hydrogen Bond Acceptor</i>)
HBD	Doador de Ligação de Hidrogênio (<i>Hydrogen Bond Donor</i>)
MEV-FEG	Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (<i>Scanning Electron Microscopy with Field Emission Source</i>)
TGA	Análise Termogravimétrica (<i>Thermogravimetric Analysis</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 Cana-de-açúcar	18
2.1.1 Morfologia da cana-de-açúcar	18
2.1.2 Classificação das espécies da cana-de-açúcar.....	19
2.1.3 Composição química do bagaço da cana-de-açúcar	20
2.1.3.1 Celulose	19
2.1.3.2 Hemicelulose	22
2.1.3.3 Lignina	22
2.2 Principais Aplicações da Lignina	23
2.3 Aspectos gerais no preparo de amostras usando métodos de extração	22
2.3.1 Métodos de extração da lignina	25
2.4 Tratamentos Hidrotérmicos	26
2.5 Solventes Eutéticos Profundos (DES)	27
2.6 Solventes Eutéticos Profundos (DES) na Extração de Lignina	29
2.7 Técnicas de caracterização e determinação	32
2.7.1 Análise Térmica.....	32
2.7.2 Espectrometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier	33
2.7.3 Difractometria de raios-X.....	33
2.8 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	31
2.9 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	34
3 OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo Geral.....	35
3.2 Objetivos Específicos.....	35
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Reagentes.....	37
4.2 Síntese dos Solventes Eutéticos Profundos (DES)	37
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS	38
4.3.1 Caracterização da estrutura dos DESs por espectrometria na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	38
4.3.2 Determinação da viscosidade dos DESs.....	38
4.3.3 Avaliação do efeito fitotóxico dos DESs.....	39
4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA	39
4.4.1 Coleta e preparo das amostras.....	39
4.4.2 Potencial hidrogeniônico	38

4.4.3 Demanda Química de Oxigênio	38
4.4.4 Determinação do teor de sólidos solúveis totais - °Brix.....	39
4.4.5 Análise da composição lignocelulósica por termogravimetria.....	39
4.4.6 Espectrometria na Região do Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) da biomassa in natura e pré-tratada com os DESs	39
4.4.7 Difractometria de Raios-X.....	42
4.5 EXTRAÇÃO DE LIGNINA DO BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR - (ETAPA 1)...	42
4.5.1 EXTRAÇÃO POR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO.....	41
4.5.2 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO LIGNOCELULÓSICA DAS AMOSTRAS DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PÓS-EXTRAÇÃO- (ETAPA 2).....	43
4.5.2.1 Quantificação da composição lignocelulósica do hidrolisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	43
4.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	45
4.7 CARACTERIZAÇÃO DA LIGNINA RECUPERADA	47
4.7.1 Caracterização estrutural da lignina recuperada por espectrometria na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	47
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Síntese e caracterização dos Solventes Eutéticos Profundos	49
5.1.1 Infravermelho (FTIR)	49
5.1.2 Determinação da viscosidade dos DES	49
5.1.3 Avaliação do efeito fitotóxico	53
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA 55	
5.2.1 Parâmetros físico-químicos da biomassa lignocelulósica	56
5.2.2 Caracterização lignocelulósica das amostras de bagaço de cana-de-açúcar	57
5.2.3 FTIR do bagaço de cana após extração	59
5.2.4 Difractometria de raios-x e índice de cristalinidade	63
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	65
5.3.1 CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS EXTRAÇÃO USANDO AS CONDIÇÕES OTIMIZADAS	69
5.3.1.1 Difractometria de raios-X e índice de cristalinidade	69
5.3.1.2 Infravermelho (FTIR)	72
5.4 CARACTERIZAÇÃO DA LIGNINA RECUPERADA	73
5.4.1 Infravermelho (FTIR)	73
6 CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS.....	76

Capítulo 1: Introdução

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é tido como o maior produtor mundial de biomassa de cana-de-açúcar com aproximadamente 620 milhões de toneladas processadas só na safra de 2018 a 2019 (SOUZA *et al.*, 2022), principalmente na região Nordeste, onde está situada grande parte das usinas que utilizam a cana como matéria prima, o que torna muito viável a realização de pesquisas voltadas ao beneficiamento desta matriz regionalmente abundante. Além disso, outras grandes motivações para o reaproveitamento deste tipo de biomassa lignocelulósica são a conscientização ambiental, as legislações rígidas, bem como o esgotamento de combustíveis fósseis (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Os principais resíduos e subprodutos gerados por meio da cana-de-açúcar, são o bagaço e a palha. O bagaço pode ser considerado tanto como um resíduo que afeta o meio ambiente, quanto como um recurso quando são implementadas tecnologias apropriadas de valorização. Sendo assim, o bagaço da cana oferece possibilidades de valorização integral pelo processamento (LUZ *et al.*, 2010).

No que se refere à composição química, as biomassas lignocelulósicas são compreendidas como biomateriais formados majoritariamente por três polímeros estruturais, a saber: lignina, celulose e hemicelulose. O reaproveitamento destes constituintes tem grande valor para a indústria química em geral, uma vez que estes podem ser aplicados na produção de novos combustíveis, materiais, alimentos e fármacos (BES *et al.*, 2019).

A lignina encontra-se unida à celulose e à hemicelulose por ligações covalentes e ligações de hidrogênio. A depender da origem do vegetal, além dos componentes citados, também podem ser encontrados, em pequenas proporções, ácidos graxos, fenóis, resinas, compostos nitrogenados, taninos, sais minerais, principalmente de magnésio, cálcio e potássio (JÚNIOR *et al.*, 2020).

A lignina é constantemente utilizada nas indústrias de papel e celulose para a produção de calor, devido seu alto teor energético. Dessa forma, as biorrefinarias convertem as biomassas lignocelulósicas em produtos de alta agregação, o que torna bastante vantajoso economicamente, reduzindo os custos, limitando a elevada dependência de matéria-prima de origem fóssil e fazendo o uso de um material como a lignina que é queimada para a geração de energia (PARK *et al.*, 2017). As limitações da aplicação da lignina se devem a características de estrutura complexa e amorfa, abrangente distribuição de frações com diferentes massas molares e baixa solubilidade em solventes orgânicos (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Ainda dentro do contexto do seu uso para produção de energia, pode-se citar o uso destas

biomassas na produção do chamado etanol de segunda geração, ou etanol 2G, o qual é obtido a partir do reaproveitamento dos resíduos oriundos da extração do caldo empregado na fermentação tradicional do etanol de primeira geração. Para tal, os bagaços produzidos durante o processamento, precisam passar por etapas de pré-tratamentos, físico e/ou químicos, que possibilitem a remoção da lignina, a qual interfere significativamente nas etapas subsequentes de hidrólise enzimática e fermentação (PANDIYAN *et al.*, 2019; CARDONA *et al.*, 2014; DEL RÍO *et al.*, 2015).

Na perspectiva de tratar as biomassas de lignina e assim valorizar o produto, a extração com Solventes Eutéticos Profundos tem sido investigada para substituir os convencionais tratamentos que fazem uso de solventes orgânicos, como hexano, e/ou ácidos e bases inorgânicas concentradas (OWHE *et al.*, 2021).

Segundo Abbott *et al.* (2003) solventes eutéticos profundos, do inglês *Deep Eutectic Solvents* (DES), são formados pela mistura de uma espécie doadora de ligação de hidrogênio (HBD) e uma espécie aceptora de ligação de hidrogênio (HBA). Trata-se de um solvente biodegradável, sustentável e que apresenta elevado potencial para diversas aplicações. Além desses solventes possuem características ambientalmente amigáveis, apresentam forte capacidade de ligação de hidrogênio, assim como solubilidade única para a biomassa, o que facilitaria a extração de lignina da biomassa lignocelulósica (LIU *et al.*, 2020).

O uso dos DES não está limitado a uma área apenas, pois pode contribuir em uma diversidade de transformações químicas, como em reações biocatalíticas, na síntese orgânica, em reações de dissolução, dentre outras. Além disso, também auxiliam no isolamento de produtos por meio de destilação, precipitação e extração. Dessa forma, a probabilidade dos solventes eutéticos profundos substituírem os solventes convencionais nas reações torna-se uma alternativa conveniente (HERNANDEZ *et al.*, 2015).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar e otimizar o método de extração de lignina do bagaço de cana-de-açúcar usando solventes eutéticos profundos (DESs).

Capítulo 2:

Fundamentação Teórica

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é a principal classe açucareira do mundo e possui cultura tropical e também subtropical. Cerca de 31,3 milhões de hectares mundiais são de plantações de cana-de-açúcar. O Brasil, China e Índia são os países que mais a produzem (XU *et al.*, 2018).

No Brasil, a plantação de cana-de-açúcar está presente em quase todo o país, em especial nas regiões Centro Sul e Norte Nordeste, sendo o estado de São Paulo o que se apresenta como o maior produtor de cana. A mesma é uma planta perene, que demanda um manejo simples e fácil (SOUZA *et al.*, 2022).

A cana-de-açúcar geralmente é utilizada na produção de etanol e açúcar. O bagaço da cana é produzido após a extração do caldo da mesma, o que corresponde a cerca de 50% da qualidade da cana. O bagaço é utilizado principalmente como combustível para produzir vapor e gerar eletricidade (XU *et al.*, 2018).

2.1.1 Morfologia da cana-de-açúcar

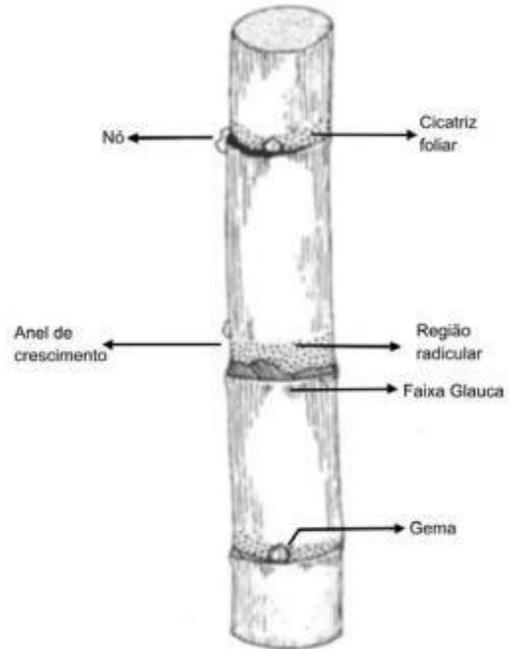
A cana-de-açúcar é uma gramínea alta que pertence a espécie de gênero *Saccharum spp.* Ela possui um sistema de rizomas e raízes e outra parte em que apresenta colmos, folhas e flores, sendo o caldo e o bagaço extraídos do colmo (QUINELATO, 2016). O colmo da cana-de-açúcar é cilíndrico, fibroso e rico em açúcar, como mostrado na Figura 1. A cana é composta aproximadamente de 86 a 92% de caldo e 8 a 14% de material fibroso. A cana-de-açúcar é uma cultura de elevada importância econômica graças a sua utilização como matéria-prima na indústria de alimentos e produção de biocombustível renovável (JÚNIOR *et al.*, 2018).

No processamento da cana-de-açúcar são produzidos o bagaço e a palha. O bagaço é o resíduo fibroso e sólido e restante da moagem da cana. Normalmente, o bagaço é utilizado como fonte de vapor e energia nas usinas de cana-de-açúcar (CANDIDO *et al.*, 2019).

Figura 1- a) Colmo da cana-de-açúcar; b) Partes que compõem o colmo



a)



b)

Fonte: adaptado de LENÇO, 2010.

2.1.2 Classificação das espécies da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta que pertence à família *Poaceae*, como o arroz, milho e demais gramíneas. As suas principais características são o aspecto das flores (inflorescência), o desenvolvimento do caule em forma de colmos, as folhas de sílica e bainha aberta. Suas espécies estão classificadas como: *Saccharum officinarum*, *Saccharum spontaneum*, *Saccharum sinensis*, *Saccharum robustum* e *Saccharum barberi* (SILVA *et al.*, 2012).

A espécie *S. officinarum* apresenta elevado teor de açúcar e pequena porcentagem de fibra e é constituída pelas conhecidas canas nobres. Apresentam sistema radicular reduzido e colmos grossos, são consideradas canas tropicais. Esta espécie é bastante suscetível a doenças e são exigentes com relação ao clima e ao solo. A mesma é conhecida no Brasil como cana caiana, preta, roxa, cristalina, manteiga e riscada (D'HONT *et al.*, 1998).

A *S. spontaneum* contém uma quantidade de sacarose no caule menor do que comparada as demais canas nobres, apresenta caules mais estreitos e floração suficiente para torná-la uma espécie potencialmente invasora. O acúmulo de sacarose e o crescimento robusto de colmos grossos em canas comerciais são derivados especialmente de *S. officinarum*, enquanto alta fibra, perfilhamento e ampla tolerância ambiental, são derivados principalmente de *S. spontaneum*

(KAFFKA *et al.*, 2014).

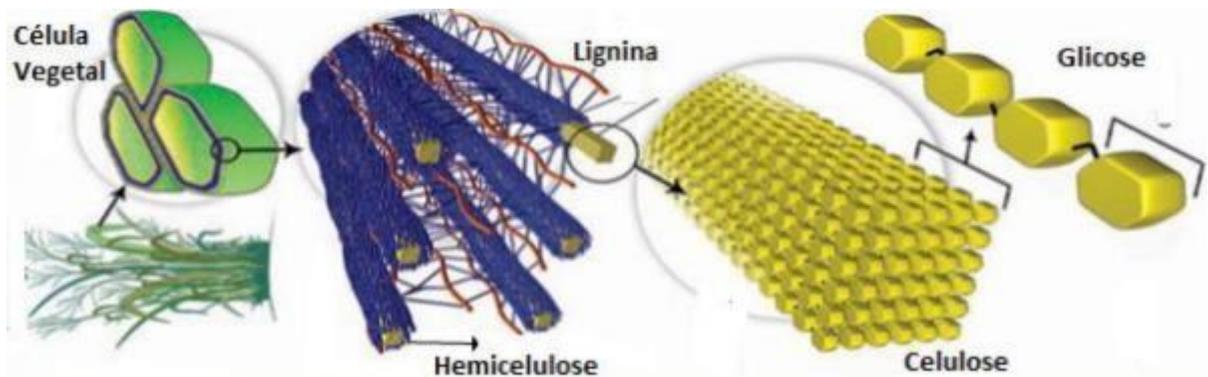
A *S. sinensis* apresenta um sistema radicular bem florescente e vegeta bem, tanto em solos pobres quanto em solos secos. É uma espécie que abarca as diversas variedades de canas consideradas chinesas ou japonesas. As variedades que pertencem a essa espécie apresentam colmos finos, internódios fibrosos e alongados e possuem baixo teor de açúcar (SILVA *et al.*, 2012).

Devido a sua origem, a espécie *S. barberi* é conhecida como cana indiana, a qual é amplamente encontrada em todo território brasileiro. Apresenta alta porcentagem de fibra, alto teor médio de sacarose e é resistente ao frio. A espécie *S. robustum* apresenta um grande crescimento com colmos, duros e lenhosos, baixo teor de sacarose, elevada porcentagem de fibra e são conhecidas como canas selvagens que se adéquam a variadas condições ambientais (HEINZ *et al.*, 1994).

2.1.3 Composição química do bagaço da cana-de-açúcar

A biomassa lignocelulósica basicamente é composta de celulose, hemicelulose e lignina, as quais são fortemente interligadas quimicamente entre si (Figura 2) (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Figura 2- Estrutura da biomassa lignocelulósica



Fonte: Santos *et al.* (2012).

A celulose é um polímero linear de glicose, e o principal integrante das paredes celulares das plantas. O outro polissacarídeo é a hemicelulose, um polímero heterogêneo de pentoses, hexoses e ácidos carboxílicos como o ácido acético. Enquanto os compostos de lignina são moléculas aromáticas bastante complexas com proporções que podem mudar de acordo com a estrutura vegetal e é altamente ramificada, apontando resistência à quebra mecânica, química e biológica (PHILIPPINI *et al.*, 2019). Na Tabela 1 estão dispostos, em

porcentagem, a composição química de variadas biomassas e suas frações lignocelulósicas. Para o bagaço de cana, por exemplo, apresenta um teor de celulose, hemicelulose e lignina de 32-48%, 19-24% e 23-32% respectivamente. Os teores dessas frações lignocelulósicas irão variar de acordo com a biomassa vegetal.

Tabela 1- Composições químicas e frações lignocelulósicas de variadas biomassas

Biomassa	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
Bagaço de cana	32-48	19-24	23-32
Palha de cana	40-44	30-32	22-25
Madeira dura	43-47	25-35	16-24
Fibra de coco	36-43	0,15-0,25	41-45
Sisal	73,1	14,2	11

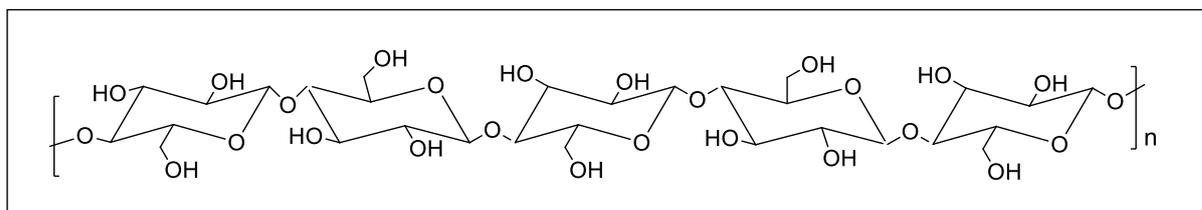
Fonte: adaptado de SANTOS *et al.* (2012).

2.1.3.1 Celulose

A celulose é o biopolímero natural mais encontrado no mundo e é estruturada pela sequência de monômeros de glicose ligados por ligações β -1,4-glicosídicas como mostrado na figura 3. É o material orgânico mais encontrado no mundo e representa entre 20% a 40% do peso seco da parede celular dos vegetais. Anualmente sua produção é de mais de 50 bilhões de toneladas (PEREIRA *et al.*, 2019).

As celulosas, na forma de microfibrilas, estão localizadas na parede celular secundária, afastadas por camadas de polioses, que são envoltos em uma matriz de lignina. A organização espacial das unidades repetitivas é caracterizada pelas distâncias das ligações e seus ângulos e pelas ligações de hidrogênio fazendo com que a celulose tenha uma grande propensão a formar cristais que são insolúveis em água (SANTOS *et al.*, 2012).

Figura 3- Representação esquemática da estrutura química da celulose

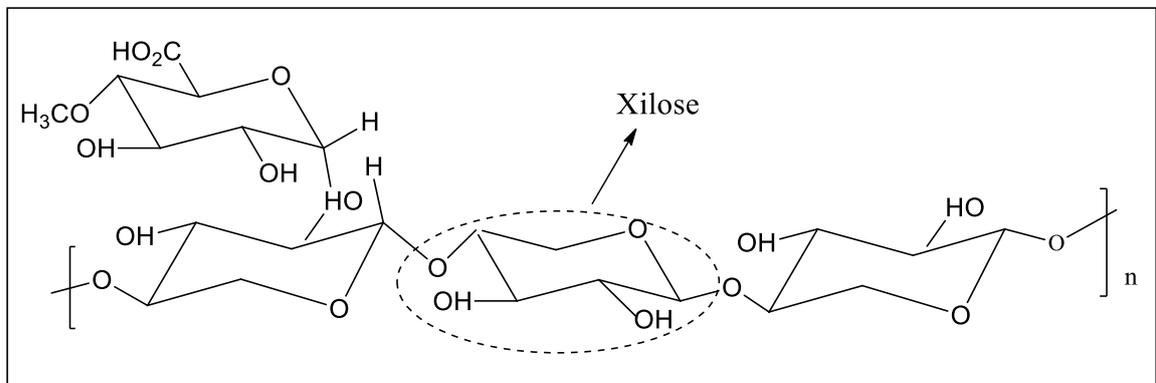


Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de SANTOS *et al.* (2012).

2.1.3.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são polissacarídeos polimerizados constituídos por D-glucose, D-xilose, D-manose, D-galactose, L-arabinose, ácido D-glucurônico e ácido 4-O-metilglucurônico conforme mostra a Figura 4. Apresentam ramificações em sua estrutura que se relaciona com a celulose, dando um caráter mais estável à estrutura deste heteropolímero (SANTOS *et al.*, 2012). As ramificações laterais presentes na hemicelulose proporcionam uma quantidade de energia menor das ligações, além disto, sua natureza amorfa propicia uma grande absorção de água, o que colabora para a maior flexibilidade das fibras (PEREIRA *et al.*, 2019).

Figura 4- Representação da hemicelulose



Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de SANTOS *et al.* (2012).

2.1.3.3 Lignina

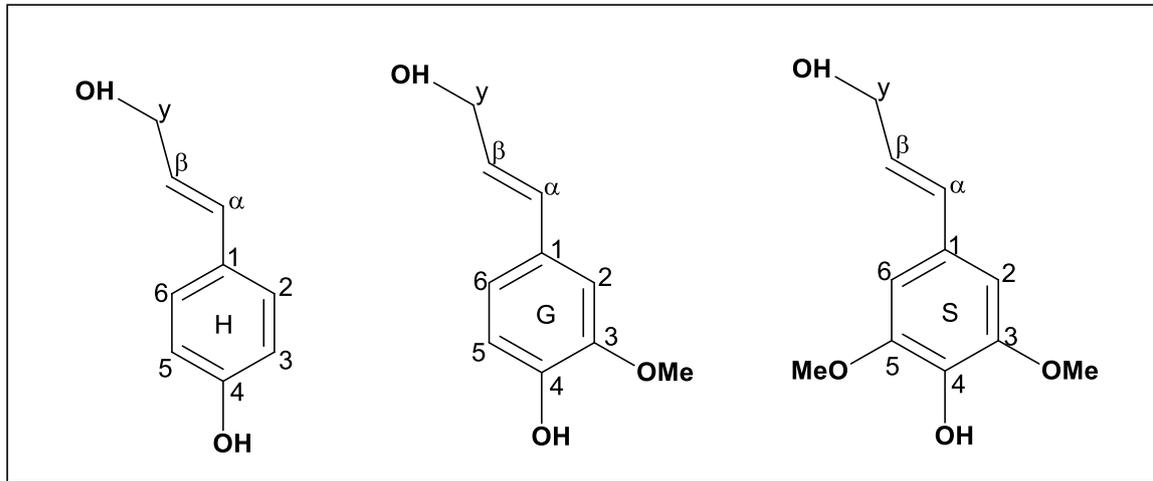
A palavra lignina é derivada do latim *lignum* e significa madeira. Foi descoberta por volta de 1838 por Anselme Payen após tratamento da madeira com ácido sulfúrico concentrado. É um dos componentes fundamentais dos tecidos de angiospermas e gimnospermas, sendo dessa forma, um dos polímeros naturais mais abundantes (KLOCK *et al.*, 2005).

As ligninas são macromoléculas poliméricas que conferem resistência e forma à parede celular vegetal da planta (WANG *et al.*, 2020) e é composta de 34 unidades fenilpropanóides, ligadas por ligações éter e carbono. A lignina é constituída basicamente por unidades aromáticas, a p-hidroxifenila, guaiacila e siringila (Figura 5). A especificação da lignina é feita conforme a quantidade de monômeros de guaiacila (G), siringila (S) e p-hidroxifenila (H), os quais são derivados de unidades fenilpropanóides (ARRUDA *et al.*, 2021).

As ligações e composições das subunidades variam de acordo com as diversas espécies de plantas. A lignina extraída do bagaço da cana-de-açúcar contém uma quantidade relevante

de ácidos ferúlicos e ácidos p-cumáricos (PIN *et al.*, 2020).

Figura 5- Principais unidades aromáticas presentes na molécula de lignina: (a) p-Hidroxifenila; (b) Guaiacila; (c) Siringila



Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de Rawal *et al.* (2020).

2.2 Principais Aplicações da Lignina

No processamento de biomassas lignocelulósicas, as ligninas eram vistas como resíduos que apresentavam aplicações restritas à utilização como combustível nas caldeiras industriais. Porém, atualmente, as ligninas tem recebido mais atenção por apresentar alto valor agregado e potencial utilização na produção de variados produtos como dispersantes, antioxidantes, fertilizantes, carvão vegetal, emulsificantes, cosméticos, combustíveis, diversos produtos químicos, fármacos e materiais compósitos para inúmeras aplicações, substituindo em grande parte dos casos compostos de fonte fóssil (VERÇOSA *et al.*, 2019).

A lignina também é constantemente utilizada nas indústrias de papel e celulose para a produção de calor, devido ao seu alto teor energético. Dessa forma, as biorrefinarias convertem as biomassas lignocelulósicas em produtos de alto valor agregado, o que torna bastante vantajoso economicamente, reduzindo os custos, limitando a elevada dependência de matéria-prima de origem fóssil e fazendo o uso de um material como a lignina, que geralmente é queimada, para a geração de energia (PARK *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2020).

Segundo Zhang *et al.* (2015) foram relatados diversos estudos em relação à aplicação da lignina no uso como inibidor de corrosão em aço e em compósitos e hidrogéis. Em grande parte, a estrutura e a pureza da lignina é quem irá definir o êxito na produção de novos materiais de caráter biológico e que, no entanto, dependem do processo de extração empregado junto às

características da biomassa de origem. Uma grande parte disponível de lignina, apesar dessas restrições, tem estimulado estudos e pesquisas no intuito do desenvolvimento de seu uso em aplicações industriais (LAURICHESSE *et al.*, 2014). Para a obtenção da lignina através do bagaço da cana-de-açúcar faz-se necessário o preparo de amostras assim como, de métodos de extração e, por isso, muitos trabalhos têm sido relatados na literatura apresentando alternativas aos métodos convencionais de extração.

2.3 Aspectos gerais no preparo de amostras usando métodos de extração

O preparo de amostras abrange procedimentos físicos e químicos de maneira que as tornem apropriadas para inserção no instrumento de medida, bem como reduzir interferências na quantificação dos analitos de interesse. De forma geral, as amostras ao serem coletadas e armazenadas, devem ser submetidas a procedimentos que as tornem compatíveis com o método que será utilizado para a determinação do analito almejado (ROCHA *et al.*, 2016).

Extração por Soxhlet, extração líquido-líquido, extração em fase sólida, extração por ultrassom e digestão ácida, são técnicas que podem ser empregadas na etapa de preparo de amostras. No entanto, esses procedimentos utilizam solventes orgânicos voláteis, os quais são bastante tóxicos, e elevado consumo de reagentes ou de amostras, além de longos tempos de extração (PINHEIRO *et al.*, 2019).

A extração líquido-líquido, baseia-se na solubilidade relativa do analito em duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa). Entre os fatores que influenciam a eficiência desse procedimento estão a afinidade do analito pelo solvente extrator, o pH da fase aquosa, e a natureza e o volume do solvente (ANTONIO *et al.*, 2013).

A extração sólido-líquido poder ser realizada sem qualquer ação externa, como por exemplo: temperatura, pressão ou agitação. Os tempos de extração tendem a ser longos sem a utilização de alguma ação externa, dessa forma, a eficiência de extração tende a ser baixa. Cabe ressaltar que elevados tempos de extração podem aumentar o risco de degradação das espécies, bem como de perdas ou contaminação. Diante disso, algumas alternativas têm sido propostas, tais como extração assistida por ultrassom ou micro-ondas ou ainda extração usando fluido supercrítico para aumentar a taxa de eficiência e minimizar o tempo (MULLER *et al.*, 2018).

O uso indiscriminado de compostos orgânicos voláteis nos processos de extração tem sido discutidos no meio científico devido a alguns pontos negativos como: inflamabilidade, toxicidade e elevada pressão de vapor (VIAN *et al.*, 2017). Portanto, há um grande interesse nos estudos para o desenvolvimento de novos solventes verdes, aplicáveis às distintas

necessidades de uma operação de preparo de amostras (SANTANA *et al.*, 2021).

Com a finalidade de solucionar as dificuldades supracitadas, os Solventes Eutéticos Profundos (DES) tem sido alvo de inúmeras pesquisas para aplicações como solvente nos procedimentos de preparo de amostras, tendo em vista que estes são capazes de recuperar/extrair compostos polares e apolares, além de apresentarem solubilidade em água, baixo custo de obtenção e baixa volatilidade (SMITH *et al.*, 2014).

2.3.1 Métodos de extração da lignina

A extração da lignina de biomassas lignocelulósicas é realizada por meio de tratamentos químicos e/ou físicos e bioquímicos. A finalidade dos métodos de extração da lignina é a degradação química da sua estrutura até que os seus segmentos como, ácido sinapílico, coniferílico e p-cumarílico, tornem-se solúveis. (WANG *et al.*, 2020).

Existem várias maneiras de remoção da lignina de biomassa lignocelulósica (VERÇOSA *et al.*, 2019), entre eles destacam-se quatro principais: kraft, sulfito, soda e organosolv e estão descritos na Tabela 2. Dependendo do tipo de substância química utilizada no processo, os métodos podem ser classificados como contendo enxofre ou sem enxofre (WANG *et al.*, 2020).

Tabela 2- Principais Métodos de Extração de Lignina

Classificação	Método de Extração	pH	Agentes	Temperatura
Método com Enxofre	Kraft	13	NaOH + Na ₂ S	170°C
	Sulfito	1-2	HSO ₃	120°C - 140°C
Método sem Enxofre	Organosolv	-	CH ₃ COOH; CH ₂ O ₂ e H ₂ O	150°C - 200°C
	Soda	11-13	NaOH	160°C

Fonte: Adptado de LAURICHESSE *et al.* (2014).

O processo organosolv é caracterizado por utilizar solventes orgânicos para clivagem das ligações éter da lignina. Geralmente, são utilizados ácido acético ou etanol, diluído em água, sendo adicionado um catalisador, podendo ser ácido clorídrico ou ácido sulfúrico em baixas concentrações (HUIJEN *et al.*, 2012). Quando se utiliza ácido acético, o processo é conhecido

como acetosolv. A separação da lignina do licor negro pré-concentrado pode ser feita por precipitação ácida, possuindo menor massa molar, elevada pureza, e maior hidrofobicidade quando comparado às ligninas obtidas dos processos Kraft ou sulfito (VERÇOSA *et al.*, 2019).

As pesquisas relacionadas à extração de lignina trazem benefícios para sua valorização, bem como para o processamento de produtos celulósicos e hemicelulósicos (LIU *et al.*, 2020). Entretanto, em razão da estrutura rígida das fibras vegetais, a separação da lignina não pode ocorrer diretamente e de maneira eficiente sem modificação de sua estrutura nativa. Dessa forma, pré-tratamentos envolvendo a extração de lignina tem sido amplamente investigados (ARNI, 2018).

A eficiência na extração de lignina é importante para a valorização do produto. Alguns pré-tratamentos tradicionais, tais como explosão a vapor e ácido diluído, não são apropriados para a extração da lignina, pois, dessa forma gera-se lignina condensada mais difícil de ser fragmentada (CHEN *et al.*, 2020). Com a finalidade de uma maior valorização da lignina, o desenvolvimento de novos métodos de pré-tratamento da biomassa para extração de lignina usando diversos solventes como líquidos iônicos e solventes eutéticos profundos foram impulsionados (CHEN *et al.*, 2020).

Os Solventes Eutéticos Profundos têm figurado como um desses solventes em potencial para extração da lignina em diversas matrizes reportadas na literatura (CHEN *et al.*, 2020; CRONIN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2021).

2.4 Tratamentos Hidrotérmicos

De acordo com ZHANG *et al.* (2018), o tratamento hidrotérmico é conhecido como “tratamento com água quente pressurizada”. São métodos utilizados para extração de materiais hemicelulósicos, em que os polissacarídeos sofrem hidrólise sob pressão e temperatura elevadas, geralmente utilizando-se autoclave.

O tratamento hidrotérmico na extração de compostos orgânicos à alta pressão, produz uma separação eficiente de carboidratos, celulosas e hemicelulosas presentes nas plantas. Nos tratamentos hidrotermais utilizando autoclave, é indicado o uso de baixas concentrações de ácido, devido à resistência dos carboidratos e hemicelulose a essas condições, quando relacionados a alta temperatura e pressão (DELBECQ *et al.*, 2018).

Nesse sentido, em tratamentos hidrotérmicos, a água sob alta temperatura e pressão, pode penetrar na biomassa, hidratando a celulose e solubilizando a hemicelulose, fazendo com que a celulose se torne mais acessível para a hidrólise enzimática. As maiores vantagens deste

tipo de tratamento são a não utilização de reagentes químicos (CYBULSKA *et al.*, 2013).

Em se tratando de biomassas lignocelulósicas, o tempo de processo é um fator importante combinado com a pressão e temperatura, tendo como resultado o rompimento das fibras presentes na biomassa. A hidrólise da hemicelulose ocorre devido à formação de íons de hidrogênio que são gerados pela autoionização da água, bem como, pela hidrólise do ácido acético dos substituintes acetilados da hemicelulose que atuam como catalisadores (RAJENDRAN *et al.*, 2017).

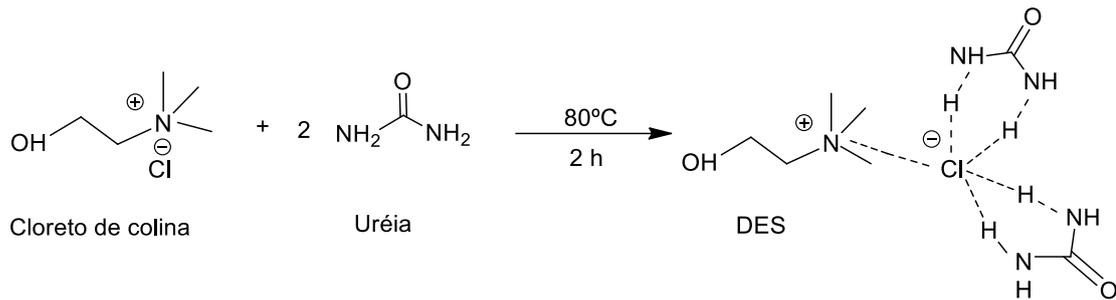
Mori (2015) realizou o pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar utilizando uma relação sólido/líquido de 1:10 (m/v), sendo o reator carregado com 1 kg de palha de cana-de-açúcar juntamente com 10 L de água destilada, bem como tempo de reação de 10-50 min e temperatura de 160-180 °C. A autora obteve maior solubilização da xilose em relação aos demais componentes, evidenciando que o pré-tratamento atua preferencialmente na solubilização da hemicelulose.

Outros trabalhos também são reportados na literatura com variados tipos de biomassa como Nitsos *et al.* (2013) que realizaram uma investigação do tempo de reação (15 - 180 min) e temperatura (130 - 220°C) do pré-tratamento hidrotérmico da madeira de faia e os resultados obtidos mostraram que o pré-tratamento foi seletivo para a remoção de 80% de hemicelulose e parcialmente para celulose e lignina. Já Filho (2016), reportou em seu estudo, uma análise de pré-tratamento hidrotérmico de cavacos de eucalipto. Utilizou 10 L de água e cerca de 1kg de cavacos de eucalipto, em reator. As condições utilizadas no pré-tratamento foram: temperatura de 190 ± 5 °C por 20 min, relação sólido: líquido 1:10 ($m \cdot v^{-1}$) e rotação de 6 rpm, atingindo uma solubilização de hemicelulose de 93%.

2.5. Solventes Eutéticos Profundos (DES)

Em 2003, Abbott e colaboradores relataram a síntese de uma mistura entre um sal de amônio quaternário, o cloreto de colina, e ureia [ChCl:U], em uma razão molar 1:2 denominado de Solventes Eutéticos Profundos, do inglês *Deep Eutectic Solvents* (DES), como ilustrado na Figura 6.

Figura 6- Formação do DES [ChCl:U] a partir do cloreto de colina e dois equivalentes de ureia



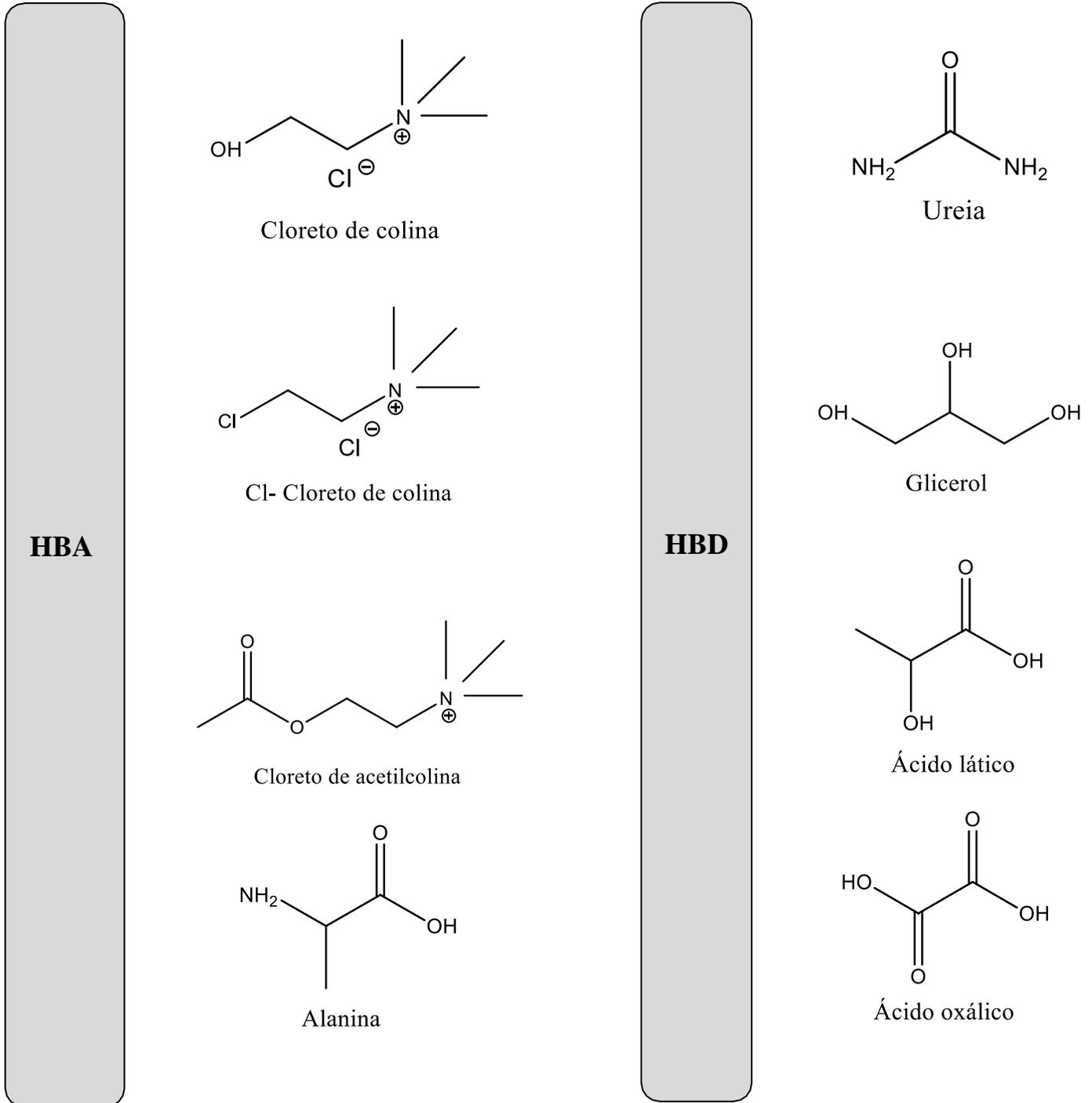
Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de Longo *et al.* (2018).

O DES é um solvente composto por materiais biodegradáveis, de fácil preparação, líquidos a temperaturas inferiores a 100 °C, possuem estabilidade térmica e alta viscosidade devido às ligações de hidrogênio. Além disso, os Solventes Eutéticos Profundos são obtidos sem a formação de subprodutos, além de ser uma síntese atrelada a um alto rendimento em termos de produto (CUNHA *et al.*, 2018).

O DES é formado por meio de uma mistura eutética de ácidos e bases de Lewis ou Brönsted-Lowry com um sal de amônio quaternário e um doador de ligação de hidrogênio, sendo os mais utilizados etileno glicol, glicerol, sacarídeos, ácidos carboxílicos biorrenováveis como os ácidos láctico, oxálico e cítrico e uma ureia ou uma amina quaternária (HERNANDEZ *et al.*, 2015).

Em meados de 2011, os DESs oriundos de fontes naturais receberam o nome de NADESs (Solventes eutéticos profundos naturais) devido ao seu elevado potencial como solventes verdes, além de suas propriedades físico-químicas (SAVI *et al.*, 2019). Um sistema eutético apresenta ponto de fusão mais baixo do que qualquer um de seus constituintes. A depleção do ponto de fusão para NADES é elevada, resultando em líquidos à temperatura ambiente (LIU *et al.*, 2018). Comumente, os componentes são metabólitos naturais, como aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares entre outros. De maneira geral, os DESs são considerados como biodegradáveis, apresentam baixo custo, menos tóxicos, menos voláteis quando comparados com solventes orgânicos e líquidos iônicos (NYSTEDT *et al.*, 2021). A Figura 7 mostra exemplos de aceptores (HBA) e doadores de ligação de hidrogênio (HBD) comumente utilizados na síntese de DES.

Figura 7- Exemplos de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio comumente utilizados na síntese de DES



Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de Hernandez *et al.* (2015).

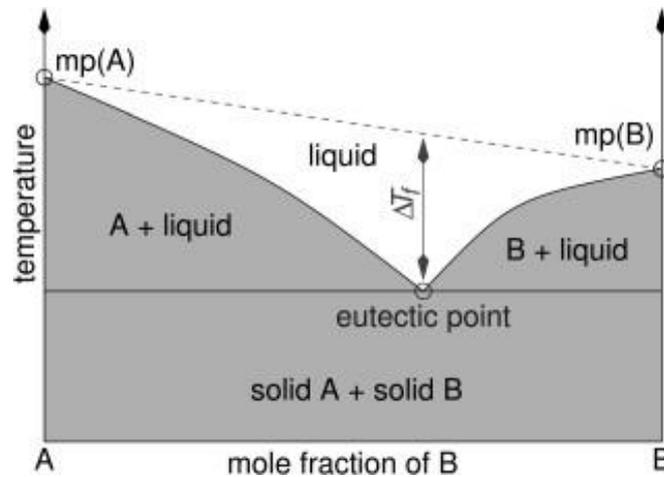
Uma das propriedades de grande importância a ser analisada nos solventes eutéticos profundos é a viscosidade, principalmente quando se trabalha com extração. A mesma pode ser ajustada alterando as frações molares dos HBAs (acceptores de ligação de hidrogênio) e HBDs (doadores de ligação de hidrogênio) usados na síntese (RODRÍGUEZ *et al.*, 2020). Uma elevada viscosidade dos DES pode ser atrelada às ligações de hidrogênio que delimita a mobilidade, sendo então, uma propriedade de alta relevância a ser avaliada, pois de acordo com a aplicação, DESs muito viscosos não são ideais (Li *et al.*, 2019).

Shafie *et al.* (2019) relataram a síntese e caracterização físico-química do DES à base de cloreto de colina e ácido cítrico mono-hidratado com diferentes proporções molares (3:1, 2:1, 1:1, 1:2 e 1:3). Todos os DES produzidos apresentaram-se como líquidos viscosos, claros e homogêneos. O DES 1:1 apresentou o ponto eutético com a menor temperatura de fusão. Além disso, foi observado que à medida que a proporção molar aumentava, a viscosidade e densidade seguia esse aumento, no entanto, o ponto eutético tinha uma temperatura de fusão mais elevada.

A síntese do DES cloreto de colina juntamente com ureia e imidazol para pré-tratamento de *álamo* e isolamento de amostras de lignina foi relatado por Li *et al.* (2021). O estudo relatou as características estruturais da lignina recuperada do pré-tratamento alcalino ChCl/imidazol e ChCl/ureia, bem como o mecanismo de modificação da lignina. Os resultados mostraram que as amostras de lignina possuíam alta pureza (>94,4%), baixo peso molecular variando de 1544 a 2562 g.mol⁻¹ e uma excelente uniformidade.

A Figura 8 mostra uma representação do diagrama de fases do que consiste uma mistura eutética formada por dois componentes a uma dada composição mostrando o ponto eutético da mistura de um HBD e um HBA para formar o líquido fundido e a diferença de temperatura (ΔT_f) entre os pontos de congelamento das misturas teoricamente ideais e reais (ALONSO *et al.*, 2016). Este tipo de mistura resulta em uma T_m menor do que os componentes individuais, devido à formação de uma interação de ligação de hidrogênio entre o HBA e o HBD, por meio da deslocalização de cargas. Os DES sintetizados a partir de ureia e de sais de amônio quaternário, por exemplo, apresentam maior capacidade para formar ligações de hidrogênio e exibem o maior abaixamento da T_m (ABBOTT *et al.*, 2002). Devido às propriedades apresentadas os DESs têm sido utilizados nos métodos de extração de compostos de muitas espécies químicas.

Figura 8- Diagrama de fases de dois componentes formando um DES



mpA e mpB= Pontos onde os componentes A e B apresentam-se puros; ΔT_f : Diferença de temperatura entre o sistema eutético.

Fonte: Smith, Abbott e Ryder (2014).

2.6 Solventes Eutéticos Profundos (DES) na Extração de Lignina

Dentro do uso dos DESs na extração de lignina, pode-se citar o trabalho relatado por Tan *et al.* (2019) que reportou a síntese de DES ácidos a partir de vários HBD de ácidos carboxílicos orgânicos aplicados ao pré-tratamento de frutos de dendê lignocelulósicos para extração de lignina. Os três grupos de HBDs (doadores de ligação de hidrogênio) de ácido carboxílico utilizados foram ácido láctico, málico e cítrico. Saturados lineares: ácido fórmico, acético, propiônico e butírico, e ácidos carboxílicos insaturados ácido maleico. Cloreto de colina foi usado como acceptor de ligação de hidrogênio. A síntese foi realizada a uma temperatura de 80°C até a mistura ficar homogênea. O cloreto de colina:ácido láctico na proporção de 1:15 e cloreto de colina:ácido fórmico na proporção de 1:2 extraíram mais de 60% em peso de lignina.

Liu *et al.* (2020) utilizaram solvente eutético profundo à base de colina para a extração de lignina do álamo (*Populus alba*). Os DESs foram sintetizados em diferentes proporções (1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:12 e 1:14) e continham baixo teor de halogênio, colina lactato-ácido láctico (CLL) e substituíram na síntese o ânion cloreto por lactato em cloreto de colina-ácido láctico (ChLa). Os tratamentos do álamo com os DESs foram conduzidos a uma temperatura de 140 °C por 12 h. Os autores observaram que o DES de baixo teor de halogênio apresentou uma extração de lignina eficiente. O tratamento LLC extraiu 90,13% da lignina inicial do álamo, enquanto o ChLa extraiu 86,02%. Além disso, a extração com LLC também forneceu lignina com uma pureza melhorada (91,17%).

RAMESH *et al.* (2020) realizaram a extração de lignina do caule de *Bambus Bambusa* utilizando dois DES à base de cloreto de colina-ácido oxálico (ChOA) e cloreto de colina-ureia (ChU). A deslignificação foi obtida a 120 °C durante 4 horas. A estrutura morfológica do BS bruto e do BS tratado foi analisada por MEV, DRX e FTIR. Os autores observaram que a deslignificação pelo sistema Ch-OA foi de 25,4%, e digeriu mais facilmente a biomassa BS em relação ao sistema ChU (19,4%).

Li *et al.* (2021) relataram um estudo de extração de lignina do bagaço da cana-de-açúcar utilizando cinco DESs à base de colina, cloreto de colina-ureia (ChU), cloreto de colina-etilenoglicol (CC-EG), cloreto de colina-glicerol (ChGy), cloreto de colina-ácido láctico (ChLa) em proporções de 1:2 respectivamente e cloreto de colina-ácido oxálico (ChOA) com proporção de 1:1. A etapa de extração ocorreu utilizando banho de óleo a uma temperatura de 100°C por um período de 4h. Os autores observaram que todos os cinco DESs conseguiram dissolver a lignina do bagaço. O DES ChOA separou efetivamente a lignina e a hemicelulose. ChLa mostrou capacidade de separação de lignina mais fraca do que ChOA. Os DESs ChGy, CCEG e ChU foram mais eficientes na separação seletivamente a lignina do que a hemicelulose.

Owhe *et al.* (2021) investigaram a eficácia de três DES, ácido acético:cloreto de colina (AACC), ácido láctico:cloreto de colina (LaCh), ácido fórmico:cloreto de colina (AFCh), na extração de lignina em biomassas de casca de arroz, bagaço de cana-de-açúcar, palha de café e palha de milho, sendo utilizado banho de óleo à uma temperatura de 155 °C por 2 h. As ligninas de todas as fontes de biomassa foram extraídas. O pré-tratamento da casca de arroz com AFCh ou AACC foi mais eficaz na extração de lignina, comparado ao LaCh. No entanto, para o bagaço de cana, cerca de 14,08 % de lignina foi extraído com AACC em comparação com AFCh ou LaCh. No entanto, apesar de seu maior teor de lignina, menos lignina foi extraída do bagaço em comparação com a casca de arroz. Para a palha de café, com seu menor teor de lignina, mais precipitado de lignina foi extraído com AACC em comparação com AFCh ou LaCh.

2.7. Técnicas de caracterização e determinação

2.7.1. Análise Térmica

Por meio da análise térmica é possível identificar os resíduos formados e produtos voláteis de um material. Nesta análise é feita uma medida de uma certa propriedade física de uma substância em relação ao tempo ou temperatura (IONASHIRO *et al.*, 1980). A Termogravimetria Derivada (TG, DTG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) são as técnicas mais utilizadas e que possibilitam alcançar

informações relativas à estabilidade térmica, variação de massa, pureza, pontos de fusão e ebulição, umidade livre e de ligação, estudos de catalisadores, transições vítreas calores específicos e de transição, diagramas de fase, cinética da reação, entre outros (LIPTAY, 1989).

2.7.2. Espectrometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

A Espectroscopia na Região do Infravermelho é análise que fornece evidências da presença de grupos funcionais presentes na estrutura de uma substância, podendo ser utilizada na identificação de um composto ou para a investigar sua composição (SALIBA *et al.*, 2001). Entre a região de 4000 e 400 cm^{-1} situam-se a porção de maior visualização para pesquisas com moléculas orgânicas (SALIBA *et al.*, 2001). Dessa forma, é possível obter informações estruturais das moléculas (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

2.7.3. Difractometria de raios-X

A difração de raios-X implica no fenômeno de interação entre os elétrons dos átomos de um material cristalino e o feixe de raios-X incidente. A técnica consiste na frequência da radiação em uma determinada amostra e na detecção dos fótons, que compõem o feixe difratado (CULLITY *et al.*, 1956).

Quando uma partícula de elevada energia cinética é desacelerada, ocorre a geração dos raios-X. A forma mais empregada para gerar raios-X é fazendo com que um elétron de alta energia colida com o ânodo. O feixe de raios-X apresenta comprimento de onda (λ) conforme o material do ânodo. A produção de raios-X dá origem a um espectro de linha reproduzindo espectros com picos característicos (BRINDLEY *et al.*, 1980; CULLITY *et al.*, 1956).

2.8. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), é uma técnica de separação que se baseia na distribuição de uma mistura entre duas fases imiscíveis, sendo estas: a fase móvel constituída por um solvente líquido que carrega a amostra solubilizada e elui sob altas pressões, e a fase estacionária, contida na coluna cilíndrica (KUMAR *et al.*, 2012). Neste processo, a fase móvel que leva os analitos, passa por meio de uma fase estacionária. As interações que ocorrem entre as fases e os analitos, leva a diferentes tempos de migração para cada componente da amostra. A fase móvel é composta por um líquido e a fase estacionária pode ser sólida ou um líquido adsorvido em um suporte sólido (COSKUN, 2016).

A CLAE é o tipo de cromatografia por eluição mais empregada, usada para detectar,

quantificar e purificar substâncias em diferentes matrizes de amostras, advindas de materiais orgânicos, inorgânicos ou biológicos (SKOOG *et al.*, 2005).

Ainda, apresenta diversas vantagens sobre os diversos métodos de separação, como: tempo de análise reduzido, ao comparar com outras técnicas cromatográficas, a possibilidade de aplicação em grande variedade de amostras, notável sensibilidade, devido à disponibilidade de detectores cada vez mais sofisticados, alta precisão e resolução dos resultados obtidos e boa reprodutibilidade (MORALES *et al.*, 2015).

2.9. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

A técnica de planejamento experimental vem sendo comumente utilizada por pesquisadores com o intuito de avaliar as variáveis que atuam com maior influência no desempenho de um determinado processo (SANTOS *et al.*, 2017). Esse recurso vem ganhando aumento em virtude da necessidade da redução de tempo, custo, assim como o aumento de rendimento e produção de processos e produtos (CALADO *et al.*, 2003).

O planejamento fatorial é o tipo de planejamento mais empregado, em que k fatores são analisados em variados níveis definidos pelo analista (NETO *et al.*, 1996). As variáveis são os fatores designados, que são denominadas de variáveis independentes ou preditoras, que podem ser quantitativas ou qualitativas, dessa maneira, a resposta obtida é nomeada de variável dependente (RODRIGUES *et al.*, 2020).

A aplicação das ferramentas estatísticas apresenta algumas vantagens como: o aperfeiçoamento da qualidade das informações obtidas por meio dos resultados, minimização do número de experimentos ou repetições e redução de custo e do tempo de trabalho já que os fatores são analisados de maneira simultânea (RODRIGUES *et al.*, 2009).

BORGES *et al.* (2019) estudaram a influência de três variáveis na etapa de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pela aplicação de um planejamento fatorial 2^3 , onde o catalisador, o solvente e o tempo de reação foram as variáveis investigadas e a concentração da glicose a resposta obtida. Os resultados encontrados pelos autores mostraram uma influência significativa das variáveis estudadas na concentração da glicose. A melhor combinação das variáveis estudadas ocorreu quando o solvente utilizado foi o etanol, o catalisador o ácido sulfúrico e no maior tempo da reação, obtendo 6 g de glicose/ L de solução.

MAZABA *et al.* (2021) realizaram a etapa de otimização da deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar em banho de óleo utilizando solventes eutéticos profundos (DES): ChGy e ChU com proporções de 1:2. Os autores, utilizaram a metodologia de superfície de resposta para otimizar as condições de tempo de reação, razão líquido-sólido (RLS) e temperatura. Os

resultados encontrados nesta investigação mostraram que o aumento do tempo de reação e da temperatura melhoram a remoção de lignina. A otimização revelou que em condições ótimas é possível remover 81,1% (13,12 h, RLS 23,4:1 e 160 °C) e 82% (14,04 h, RLS 17:1 e 160 °C) da lignina do bagaço da cana-de-açúcar usando ChGy e ChU, respectivamente. Além disso, constataram em seus estudos que é possível converter 50-80% da celulose em bagaço de cana após o tratamento com DES, demonstrando que o uso de DES é eficiente e útil para remover a lignina da biomassa lignocelulósica.

SOUZA (2021) relatou um estudo sobre a extração da lignina na biomassa residual de eucalipto e propôs um planejamento experimental fatorial 2^3 para verificar quais variáveis, temperatura (180°C, 200°C, 220°C), concentração de solvente (50%, 60%, 70%) e tempo de reação (120 min, 180 min, 240 min) eram significativas no processo de deslignificação da biomassa. A autora observou que os experimentos que mostraram maior deslignificação foram aqueles caracterizados por maior temperatura e maior concentração de etanol (220 °C; 70 %) ressaltando que, na maior temperatura e na maior concentração de etanol, ocorreu maior deslignificação da biomassa.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso dos Solventes Eutéticos Profundos (DESs) no processo de extração de lignina proveniente do bagaço de cana-de-açúcar.

3.2. Objetivos Específicos

- Realizar a síntese e caracterização dos solventes Eutéticos Profundos quanto ao caráter estrutural, físico-químico e fitotóxico;
- Caracterizar o bagaço da cana-de-açúcar;
- Extrair lignina de amostras de biomassa lignocelulósica com os DESs sintetizados;
- Avaliar a eficiência de diferentes DESs na extração de lignina em amostras de bagaço de cana-de-açúcar;
- Selecionar o DES mais adequado no processo de extração;
- Otimizar as condições de extração de lignina com DES em amostras de biomassa lignocelulósica;

Capítulo 3: Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Cloreto de Colina (Sigma-Aldrich $\geq 98\%$), Ácido Lático (NETEC $\geq 85-90\%$), Ureia (Sigma-Aldrich $\geq 98\%$), Glicerol (Cremoline $\geq 99,5\%$), Ácido Sulfúrico (Proquímios $\geq 98,08\%$).

4.2 Síntese dos Solventes Eutéticos Profundos (DES)

A preparação dos solventes eutéticos profundos (DESs) seguiu a metodologia convencional adaptada por Abbott *et al.* (2003), misturando o cloreto de colina [ChCl], como acceptor de ligação de hidrogênio e diferentes doadores de ligação de hidrogênio, sendo estes: ácido lático [La], ureia [U] e glicerol [Gy]. A mistura dos compostos foi agitada a 80°C em tubos por 2 horas em banho-maria até formar um líquido incolor, translúcido e visivelmente viscoso. As razões molares utilizadas nas sínteses dos DESs foram adaptadas dos trabalhos (ALCALDE *et al.*, 2018; LERON *et al.*, 2013a; LERON *et al.*, 2013b) e estão expressas na Tabela 3.

Tabela 3- Razões molares das espécies utilizadas na síntese dos DESs.

DES	HBA	HBD	Razão molar
ChLa	Cloreto de colina	Ácido lático	1:1
ChU	Cloreto de colina	Ureia	1:2
ChGy	Cloreto de colina	Glicerol	1:2

Fonte: autora (2022).

Os tubos foram submetidos a aquecimento em banho-maria, fechados e a cada 10 min foram agitados com vórtex para garantir a homogeneização e interação efetiva entre os reagentes. Ao observar a formação de um líquido incolor e homogêneo, indicando a formação do DES, os tubos foram retirados do banho e reservados em dessecador até o momento da sua utilização na extração da lignina. Os DESs produzidos foram denominados de ChLa (cloreto de colina:ácido lático), ChU (cloreto de colina:ureia) e ChGy (cloreto de colina:glicerol).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS

4.3.1 Caracterização da estrutura dos DESs por espectrometria na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização das interações formadas entre os precursores dos sistemas eutéticos avaliados foi realizada por meio da obtenção de espectros por espectroscopia de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR) em um equipamento da marca *SHIMADZU* – IRPrestige21, disponível no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus João Pessoa- PB. Os espectros foram obtidos na faixa espectral de 4000 a 600 cm^{-1} com uma resolução de 4 cm^{-1} e 4 scans.

4.3.2 Determinação da viscosidade dos DESs

A viscosidade é uma importante propriedade físico-química dos DESs, devido sua grande influência no escoamento do fluido quando aplicado a sistemas em fluxo (ZBIGNIEW, 1997). Uma das principais causas para a verificação de elevados valores de viscosidade para estes sistemas são as fortes interações intermoleculares envolvidas em sua obtenção (KHALID *et al.*, 2016; GHAEDI *et al.*, 2017).

A análise de viscosidade dos três solventes eutéticos ChLa, ChU e ChGy foi realizada em viscosímetro de Ostwald utilizando um tubo de 150 mm e temperatura de 40°C e calculada de acordo com a equação 1.

$$V = \frac{K}{t} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

V = determinação da viscosidade ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)

K = parâmetro constante ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-2}$)

t = tempo de escoamento do DES (s^{-1})

4.3.3 Avaliação do efeito fitotóxico dos DESs

As análises de fitotoxicidade foram realizados usando soluções aquosas dos sistemas eutéticos obtidos nas seguintes concentrações (mg L^{-1}): 100, 500, 1000, 10000 e 20000. Em seguida, 2 mL das respectivas soluções foram adicionados a placas de Petri contendo em seu interior um papel de filtro, devidamente ajustado, sobre o qual foram aleatoriamente colocadas 10 sementes de *Lactuca sativa* (Feltrin Sementes). Após o preparo, as placas foram colocadas em câmara de germinação (marca SOLAB – SL224) por 6 dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Os ensaios foram realizados em duplicata e o controle foi feito com a própria água destilada utilizada das soluções. Após o período de germinação, foram medidas as porções radiculares e das raízes em cada condição avaliada (RADOSEVIC *et al.*, 2015).

4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

4.4.1 Coleta e preparo das amostras

O bagaço de cana-de-açúcar da variedade RB855156 foi coletado em 15 de julho de 2021 na usina Japungu, que fica localizada no município de Santa Rita-PB. Ao chegar no laboratório, as amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram secas em estufa de circulação (SPLABOR) a 45°C por um período de 6 dias. Em seguida foram moídas em um moinho de facas (Modelo SL-31) disponível no Laboratório de Operações Unitárias, localizado no Centro de Tecnologia da UFPB, Campus I, a fim de homogeneizar toda a amostra e diminuir o tamanho das partículas, as quais foram separadas em peneiras com abertura de malha de 14 mesh. Todo o procedimento é apresentado na Figura 9.

Figura 9- 1) Moinho de facas e bagaço de cana; 2) Bagaço triturado e peneirado; 3) Bagaço armazenado



Fonte: autora (2022).

4.4.2 Potencial hidrogeniônico

A determinação do pH das amostras de bagaço de cana-de-açúcar *in natura* foi realizada de acordo com a norma (614.028) descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), sendo realizado em triplicata no Laboratório de Instrumentação e Automação em Química Analítica e Quimiometria (LAQA), pertencente à UFPB, Campus I.

4.4.3 Demanda Química de Oxigênio

A determinação da DQO foi realizada com a mistura do bagaço da cana com água destilada por meio do método titulométrico de *Standard methods for the examination of water and wastewater 5220C* (APHA, 2005), sendo realizado no Laboratório de Estudos em Química Ambiental (LEQA), localizado na UFPB, Campus I. As análises de DQO no extrato do bagaço da cana-de-açúcar foram realizadas em duplicata. Em um tubo de ensaio foram adicionados 2,5 mL de amostra, 1,5 mL de solução digestora (dicromato de potássio e ácido sulfúrico) e 3,5 mL do reagente ácido (ácido sulfúrico). Os tubos com as amostras e o branco (tubo utilizando água destilada ao invés da amostra) foram levados ao bloco digestor (Figura 10) a uma temperatura de 150°C por 2 horas.

Figura 10- Inserção das amostras no bloco digestor marca MERCK



Fonte: autora (2022).

Após o tempo de digestão, as amostras foram retiradas e transferidas para erlenmeyers e adicionadas 2 gotas de solução indicadora de ferroína. Por fim, realizou-se a titulação com a solução de sulfato ferroso amoniacal. A DQO foi calculada conforme equação 2.

$$DQO \left(\frac{mgO_2}{L} \right) = \frac{VPB - VPA * 100}{V} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

VPA = Volume da solução ferrosa gasto na titulação da prova que contém a amostra, em mL

VPB = Volume da solução ferrosa gasto na titulação da prova em branco, em mL

VP = Volume da solução ferrosa gasto na titulação da prova padrão, em mL

4.4.4 Determinação do teor de sólidos solúveis totais - °Brix

A determinação de sólidos solúveis das amostras do bagaço de cana-de-açúcar foi realizada em refratômetro de bancada modelo Abbe Refractometer (Nova Instruments) disponível no Centro de Tecnologia (CT), localizado na UFPB, Campus I, através do índice de refração, seguindo a norma (614.028) do Instituto Adolfo Lutz (2008) com resultados apresentados em °Brix. Esta análise se trata de uma medida indireta do teor de açúcares, o qual está relacionado com a quantidade de sólidos solúveis totais presentes na solução.

4.4.5 Análise da composição lignocelulósica por termogravimetria

Amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram tratadas com os três solventes eutéticos profundos e por tratamento hidrotérmico. As curvas termogravimétricas (TGA) destas amostras foram obtidas por um analisador térmico simultâneo, modelo DTG-60 da Shimadzu, disponível no Laboratório de Compostos de Coordenação e Química de Superfície, do Departamento de Química da UFPB-Campus I. As medidas foram realizadas tomando-se aproximadamente 8,0 mg de cada amostra as quais foram colocadas em um porta amostra de platina e aquecidos a uma taxa de temperatura de 10°C/min, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50mL/min no intervalo de aproximadamente 30 a 600°C.

4.4.6 Espectrometria na Região do Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) da biomassa *in natura* e pré-tratada com os DESs

As amostras de bagaço de cana *in natura* e tratadas com diferentes solventes eutéticos profundos ChLa, ChU, ChGy e tratamento hidrotérmico foram submetidas a análises de FTIR

de marca SHIMADZU, modelo IRPrestige-21, disponível no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus João Pessoa- PB. A região utilizada para análise foi de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} em pastilha de KBr.

4.4.7 Difratometria de Raios-X

Os difratogramas de raios-X das amostras de biomassa não tratada e pré-tratada foram obtidos utilizando um difratômetro da marca SHIMADZU, modelo Lab X/XRD-6000, pertencente ao Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM), localizado na UFPB, Campus I, com potência de 2 kVA, voltagem de 30 kV e corrente de 30 mA e utilizando a radiação $K\alpha$ do cobre como fonte de radiação monocromática. Foram feitas varreduras no intervalo 2θ entre 10° e 90° , com um passo de $0,02^\circ$ e velocidade de 1° min^{-1} (LIONETO *et al.*, 2012).

O índice de cristalinidade (IC) foi determinado de acordo com a Equação 3.

$$IC(\%) = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

IC(%): percentual de índice de cristalinidade

I_{002} : intensidade do pico no plano cristalográfico 002 ($2\theta \sim 22,6^\circ$)

I_{am} : intensidade do vale entre os picos dos planos cristalográficos 002 e 001 ($2\theta \sim 17,5^\circ$).

4.5 EXTRAÇÃO DE LIGNINA DO BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR - (ETAPA 1)

A extração da lignina do bagaço da cana-de-açúcar foi realizada utilizando os três solventes eutéticos sintetizados. Para a extração usando os DES, cerca de 0,3 g de biomassa foi pesada e adicionada a 3 mL de cada solvente citado, o que equivale a uma proporção 1:10 (m v^{-1}), visto que essa proporção utilizada já é estabelecida na literatura. Posteriormente, as soluções foram levadas a autoclave (Phoenix Lufenco) onde as extrações foram então conduzidas a 120°C (1kgf/cm^2) durante 1 hora. Os ensaios foram realizados em duplicata. Em seguida, a fração sólida pré-tratada foi separada da fração líquida por filtração simples e seca a 105°C por 24 horas em estufa de circulação e posteriormente aferiu-se sua massa.

4.5.1 EXTRAÇÃO POR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

Ainda seguindo dentro da etapa 1, a extração da lignina também foi conduzida através do método hidrotérmico, realizado em autoclave a 120°C (1kgf/cm²) durante 1 hora. A proporção de amostras também foi de 1:10 (m v⁻¹).

4.5.2 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO LIGNOCELULÓSICA DAS AMOSTRAS DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PÓS-EXTRAÇÃO- (ETAPA 2)

A determinação dos polissacarídeos seguiu a metodologia da NREL (510-42618)- *Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass* (SLUITER *et al.*, 2008b). Para esse propósito a fase sólida obtida após a extração realizada na etapa 1 foi recolhida e transferida para erlenmeyers de 125 mL ao qual foram adicionados 3,0 mL de H₂SO₄ 72%. Em seguida, a mistura foi levada para banho-maria a 30 ± 3 °C durante 1 hora. A cada 10 minutos, as misturas foram agitadas com bastão de vidro e, ao final do tempo, foram adicionados 84 mL de água deionizada, agitando-se cuidadosamente para diluir o ácido sulfúrico. Em seguida, os sistemas foram autoclavados a 120°C durante 1 hora. Por fim, os materiais foram filtrados a vácuo e lavados com água deionizada até atingir a neutralidade. A fração líquida foi recolhida e armazenada em microtubos (a -4,0 ± 0,1 °C) para posterior análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), já a fração sólida foi seca em estufa de circulação (105,0 ± 0,1 °C, por 24 h) para a determinação do teor de lignina insolúvel.

4.5.2.1 Quantificação da composição lignocelulósica do hidrolizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A quantificação dos teores de celulose e de hemicelulose, dependem das concentrações de carboidratos e de ácidos orgânicos presentes no hidrolizado após a hidrólise ácida, conforme os fatores estequiométricos expostos na Tabela 4.

Tabela 4- Fatores estequiométricos de cada componente presente no extrato hidrolizado

Celulose		Hemicelulose	
Componente	Fator de conversão	Componente	Fator de conversão
Celobiose	0,95	Xilose	0,88
Glicose	0,90	Arabinose	0,90
Hidroximetilfurfural	1,20	Ácido acético	0,72
		Furfural	1,37

Fonte: autora (2022).

A análise dos carboidratos e ácidos orgânicos foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplado a um detector UV-Vis utilizando a coluna Shim-Pack SCR-101H (Shimadzu Co. Japan) para determinação de celobiose, glicose, xilose, arabinose e ácido acético. A metodologia adotada foi a isotérmica, com uma temperatura de 50 °C, e isocrática, fase móvel constituída de uma solução de ácido sulfúrico 0,005 M sob fluxo de 0,6 mL/min. As amostras foram previamente filtradas em membranas de 0,22 µm e então injetadas no equipamento (20 µL).

Para a análise dos açúcares, bem como de suas formas oxidadas, foi utilizada como fase estacionária a coluna Shim-pack CLC-ODS (Shimadzu Co. Japan). Para a determinação dos referidos inibidores, foi utilizada como fase móvel uma mistura de ácido acético (AA) e acetronitrila (ACN), a uma vazão de 0,6 mL min⁻¹ (25°C) de acordo com o seguinte gradiente: AA 100% - ACN 30% (0-5 min); ACN 30% - 70% (5-10 min); ACN 70% - 100% (10-15 min); ACN 100% - AA 100% (15-25 min). As concentrações de cada componente foram calculadas a partir de curvas de calibração previamente realizadas (Equação 4).

$$Y = ax \quad (Eq. 4)$$

Onde: “Y” é a concentração de açúcares, “a” é a constante de determinação e “x” é a área calculada do cromatograma. Para a glicose “a” = 0,0000038707; para a xilose “a” = 0,0000036912 e arabinose “a” = 0,0000035678.

A soma das concentrações dos componentes celobiose, glicose e HMF, corrigidas por seus respectivos fatores de conversão, equivale a concentração de celulose, enquanto a somas dos demais, também corrigidas, determinaram a concentração de hemicelulose (Equação 5). Os fatores estequiométricos são referentes à reação química da conversão dos polímeros em monômeros.

$$C_f = \sum_i f_i \times C_i \quad (\text{Eq. 5})$$

Onde:

C_f (g/mL): concentração final de celulose ou hemicelulose

f_i : fator de conversão do componente i

C_i (mg/mL): concentração do componente i

A partir das concentrações de celulose e hemicelulose mensuradas por CLAE, o volume de solução e a massa de sólido utilizados na hidrólise ácida, o teor de celulose e hemicelulose (g/g) nas biomassas foram determinados (Equação 6).

$$P_i(\%) = \frac{(C_f \times V)}{M} \times 100 \quad (\text{Eq. 6})$$

Onde:

P_i (%): percentual de celulose ou hemicelulose

C_f (g/mL): concentração final de celulose ou hemicelulose

V (mL): volume final do hidrolisado pós hidrólise ácida com H_2SO_4 (72%)

M (g): massa de sólido utilizado na hidrólise ácida com H_2SO_4 (72%)

O teor de lignina Klason foi determinado de maneira similar utilizando a Equação 7.

$$P_{lignina\ klason}(\%) = \frac{M_f}{M} \times 100 \quad (\text{Eq. 7})$$

Onde:

$P_{lignina\ Klason}$ (%): percentual de lignina Klason

M_f (g): massa retida no papel de filtro após hidrólise ácida com H_2SO_4 (72%)

M (g): massa de sólido utilizado na hidrólise ácida com H_2SO_4 (72%)

4.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Após os ensaios preliminares foi realizado um planejamento fatorial 2^3 , com três

repetições do ponto central utilizando o melhor processo de extração com DES ChU. As variáveis selecionadas foram volume de solvente extrator (mL); tempo de processo (h) e adição de água ao DES (%). A Tabela 5 apresenta a matriz de planejamento fatorial.

Tabela 5- Matriz do planejamento fatorial 2³

Experimento	Volume de DES (mL)	Adição de água (%)	Tempo de Extração (h)
1	3,00 (-1)	2,00 (-1)	1,00 (-1)
2	6,00 (+1)	2,00 (-1)	1,00 (-1)
3	3,00 (-1)	6,00 (+1)	1,00 (-1)
4	6,00 (+1)	6,00 (+1)	1,00 (-1)
5	3,00 (-1)	2,00 (-1)	2,00 (+1)
6	6,00 (+1)	2,00 (-1)	2,00 (+1)
7	3,00 (-1)	6,00 (+1)	2,00 (+1)
8	6,00 (+1)	6,00 (+1)	2,00 (+1)
9	4,50 (0)	4,00 (0)	1,50 (0)
10	4,50 (0)	4,00 (0)	1,50 (0)
11	4,50 (0)	4,00 (0)	1,50 (0)

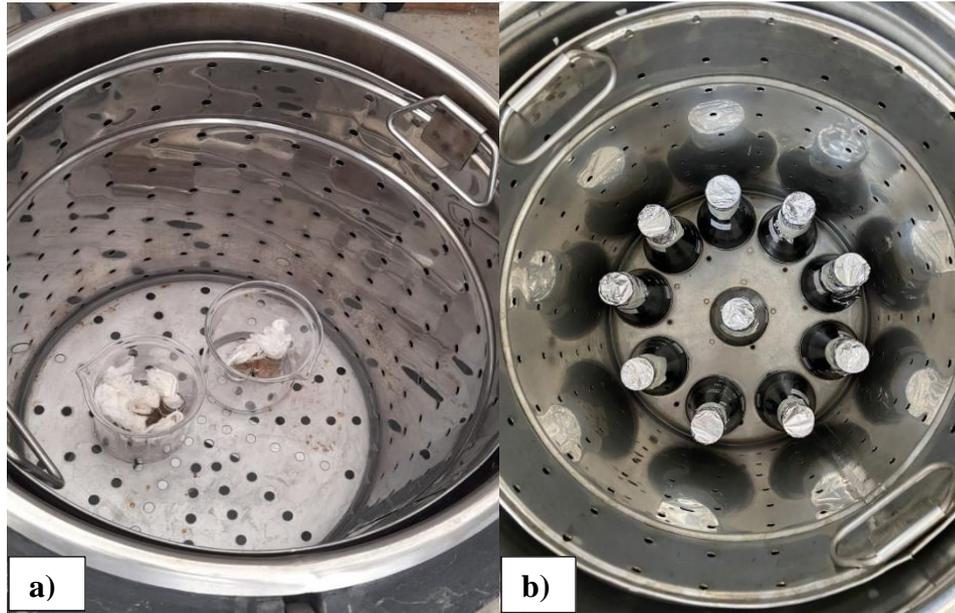
Fonte: autora (2022).

Como resposta, foi mensurado o teor de lignina removida após cada extração, o qual foi quantificado conforme a equação 8.

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Teor de lignina final}}{\text{Teor de lignina inicial}}\right) * 100\% \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde, teor de lignina final refere-se ao valor obtido após a extração (aferindo a massa final retida no papel de filtro) e teor de lignina inicial refere-se à biomassa *in natura*. As Figuras 11 (a) e 11 (b) ilustram os ensaios experimentais realizados.

Figura 11- (a) Ensaios na autoclave; (b) amostras pré-tratadas inseridas em autoclave



Fonte: autora (2022).

4.7 CARACTERIZAÇÃO DA LIGNINA RECUPERADA

4.7.1 Caracterização estrutural da lignina recuperada por espectrometria na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As amostras de lignina obtidas pelos métodos de extração foram submetidas a análises de FTIR de marca SHIMADZU, modelo IRPrestige-21, disponível no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus João Pessoa - PB. A região utilizada para análise foi de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} em pastilha de KBr.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados do planejamento experimental foram analisados utilizando o software STATISTICA®. Os dados foram analisados usando o Teste de Tukey. Para os resultados obtidos por TG e CLAE foram analisados utilizando t-student a fim de comparar os resultados obtidos por meio das técnicas, ambos a um nível de 95% de confiança. Todos os resultados foram representados como média \pm desvio padrão.

Capítulo 4:

Resultados e Discussão

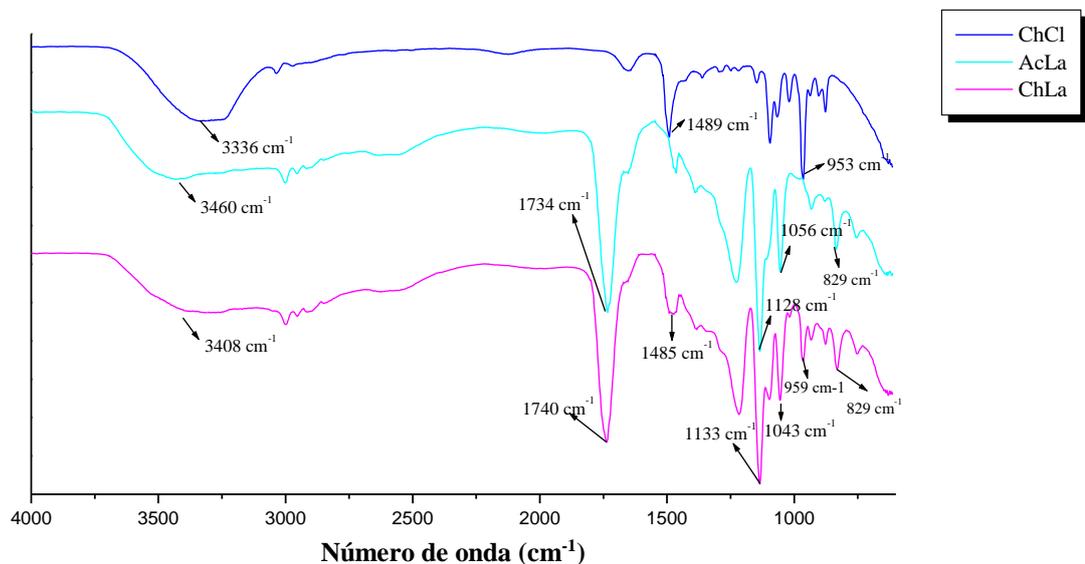
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese e caracterização dos Solventes Eutéticos Profundos

5.1.1 Infravermelho (FTIR)

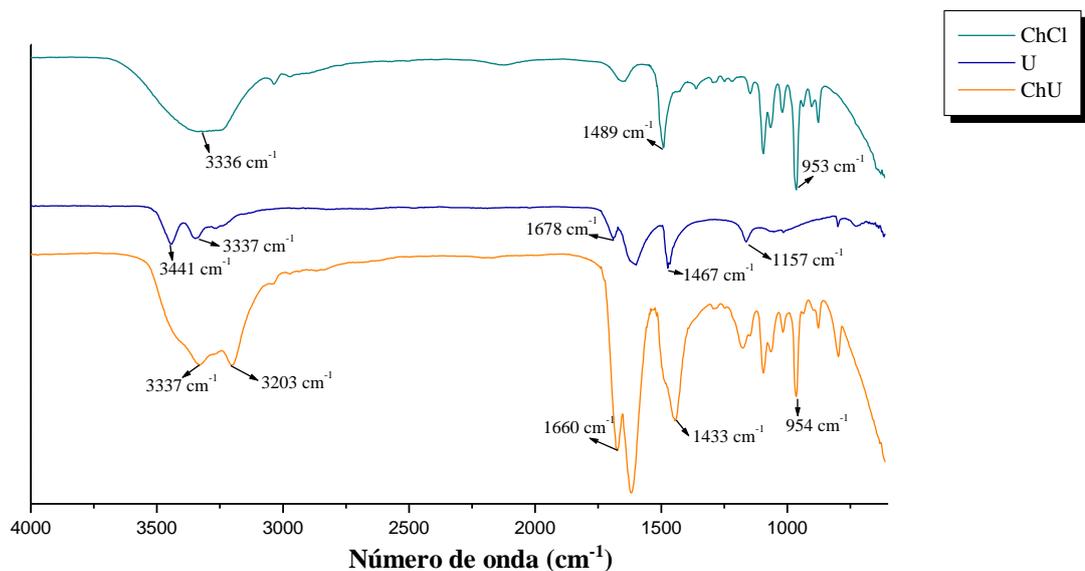
De forma a identificar as alterações espectrais e estruturais devido às ligações de hidrogênio formadas durante a síntese dos DES, analisou-se os precursores individualmente e os DES produzidos a partir destes. A partir dos espectros de infravermelho ilustrados nas Figuras 12, 13 e 14 dos solventes puros e dos DES formados por meio de suas misturas, foi possível observar as principais bandas referentes às funções orgânicas presentes nessas estruturas.

Figura 12- Espectros FTIR ChCl, AcLa puros e DES [ChLa]



É possível observar na Figura 12 que o espectro do solvente ChCl (cloreto de colina) puro apresenta uma banda espectral em 3336 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo O-H presente na colina. Os picos entre 1489 cm^{-1} - 953 cm^{-1} no espectro do ChLa confirmam que a ligação C-N, associada à colina, foi preservada. No espectro referente ao AcLa puro, em 3460 cm^{-1} , tem-se um alargamento da banda característica do grupo hidroxila (O-H) devido à participação deste na formação de ligações de hidrogênio. As bandas entre 1734 cm^{-1} - 1128 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento do grupo carbonila (C=O) presentes no ácido lático, o qual também sofreu alargamento espectral devido à participação deste grupo na formação de interações do tipo dipolo-dipolo durante a síntese do referido DES. As variações espectrais mencionadas podem inferir acerca da real formação do sistema eutético citado.

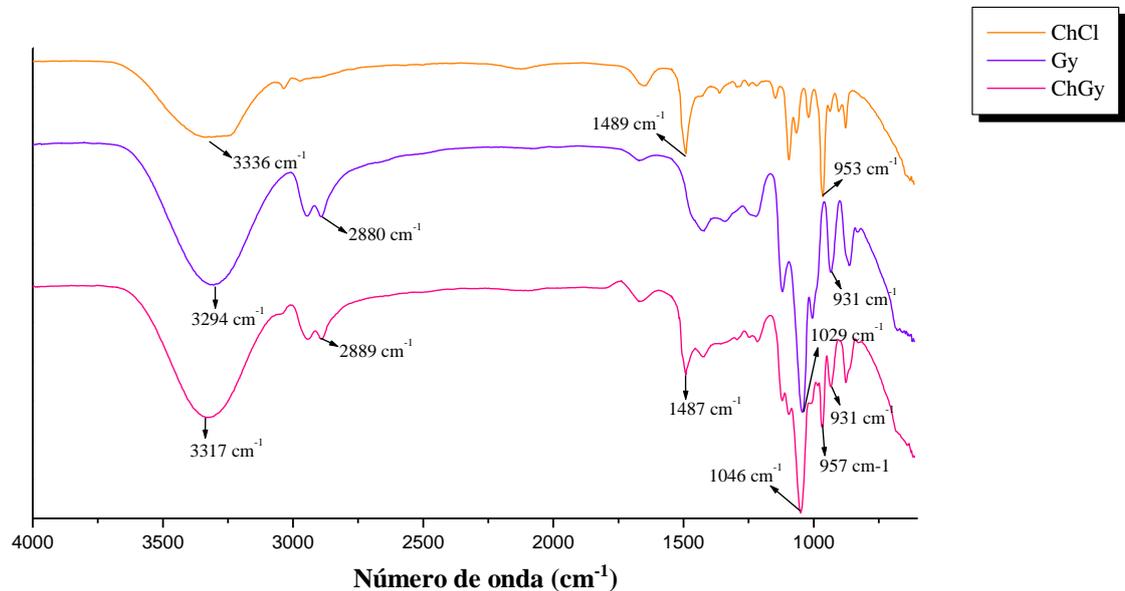
Figura 13- Espectros FTIR b) ChCl, Ureia puros e DES [ChU]



De maneira similar, o espectro da Figura 13, tem-se as mesmas atribuições referente ao ChCl puro. Para a ureia, as bandas características correspondentes às ligações do grupo N-H que estão presentes entre 3441 cm^{-1} - 3337 cm^{-1} , enquanto a banda característica do grupo C=O está em 1678 cm^{-1} . Ligações C-N estão caracterizadas nas bandas 1467 cm^{-1} e 1157 cm^{-1} . Como é possível notar, a variação espectral mais notória se deu na região entre 3371 até 3203 cm^{-1} , o que denota a forte participação dos grupos amina no estabelecimento das ligações de hidrogênio. Outra variação notória deu-se em 1660 cm^{-1} , o que indica que a região associada ao grupo carbonila (C=O), devido a sua forte polarização, participa de interações de

pronunciado caráter coulombico durante a formação do sistema em questão.

Figura 14- Espectros FTIR (c) ChCl, Gy puros e DES [ChGy]



Já no espectro da Figura 14 denota-se que a variação mais pronunciada deu-se na região de 3294 cm^{-1} para o glicerol puro (Gy), a qual quando comparada com o espectro do ChGy, além de sofrer alargamento apresentou considerável deslocamento o que indica a forte participação dos grupos hidroxilas (O-H) na formação das interações intermoleculares que levaram o sistema a sua formação.

PINTON (2021) reportou em seu estudo a síntese de três DESs, utilizando o ChCl como HBA e, como HBD, foram empregados a ureia, o etilenoglicol e o glicerol. No estudo explanado pela autora também foram encontradas bandas semelhantes ao encontrado nesta pesquisa. Para a ureia, encontraram bandas entre $3450 - 3340\text{ cm}^{-1}$ referentes aos grupos NH_2 presentes neste composto, e banda larga na região de 3292 cm^{-1} , característica do agrupamento OH de álcoois referente ao glicerol.

5.1.2 Determinação da viscosidade dos DES

De maneira geral, os DES apresentam elevadas viscosidades que podem ser atribuídas aos seus altos pesos moleculares. Essa viscosidade se refere à resistência de escoamento de um fluido, que por sua vez depende das interações intermoleculares, como por exemplo, as ligações de hidrogênio. Um aumento na temperatura do líquido diminui significativamente a intensidade dessas forças intermoleculares e, portanto, a viscosidade do solvente. No entanto isso já é bem

estabelecido na literatura para todos os DES (MJALLI *et al.*, 2015).

Os dados da viscosidade dos DESs obtidos estão reportados na tabela 6.

Tabela 6- Viscosidades dos DESs empregados no estudo.

DES	Viscosidade (mm ² s ⁻¹)
ChLa	70,47
ChGy	83,88
ChU	89,54

Fonte: autora (2022).

Como é possível observar na tabela 6, o solvente eutético ChU apresentou a maior viscosidade entre os DESs avaliados o que pode ser atribuído à formação de ligações de hidrogênio pelos quatro hidrogênios dos grupos aminas, além da forte interação oriunda da região altamente polarizada da carbonila da estrutura da ureia, a qual apresenta uma forte concentração de densidade de carga positiva em torno do carbono sp² (arranjo trigonal plano) devido à ligação com os átomos mais eletronegativos (oxigênio e nitrogênio). O segundo valor em destaque foi observado para o solvente ChGy o qual apresenta três grupos hidroxilas, oriundos do glicerol, capazes de formar as referidas interações. Embora o ChLa também apresente carbonila em sua estrutura, a presença de cadeia carbônica hibridizada em sp³ (arranjo tetraédrico) pode ser apontada como uma causadora de impedimento estérico, o que leva a menores graus de contato molécula-molécula. Tais constatações estão em concordância com os dados espectrais outrora aqui mencionados, e corroboram com o que a literatura vem reportando (CHEMAT *et al.*, 2016; ZHRINA *et al.*, 2018; CASTRO *et al.*, 2018).

Fluidos que apresentam alta viscosidade podem ser úteis para utilização como lubrificantes. Já fluidos com viscosidade menor são empregados em aplicações como solventes, elevando as taxas de transferência de massa e reduzindo os custos com bombeamento (GHAEDI *et al.*, 2017).

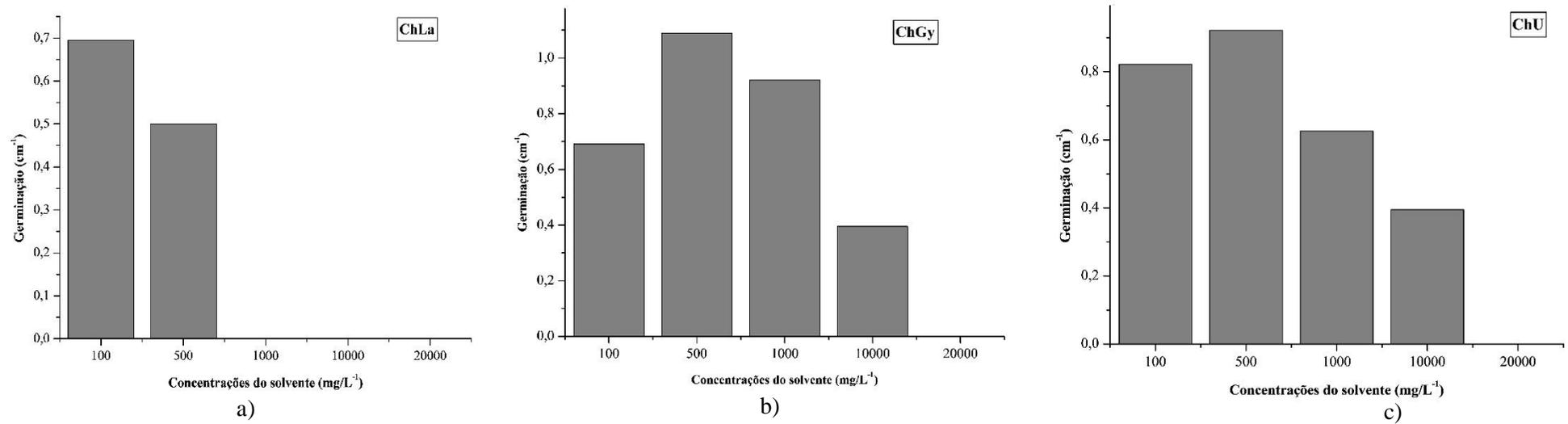
Os altos valores de viscosidade são um gargalo para o uso de DESs à temperatura ambiente (YANG, 2018). Uma das principais estratégias para contornar tal problemática tem sido a adição de água aos sistemas eutéticos de modo a levar a uma diminuição de suas fortes interações, o que se traduz em uma menor resistência ao escoamento. Esta adição, conforme apresentada na literatura, não pode ultrapassar o limite de 30% m m⁻¹, pois um excesso de água

pode levar a formação de uma solução aquosa dos precursores (HAMMOND *et al.*, 2016).

5.1.3 Avaliação do efeito fitotóxico

As Figuras 15 (a), (b), (c) apresentam resultados obtidos para a fitotoxicidade dos DESs aqui estudados em relação à germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*).

Figura 15- Resultados obtidos para o efeito fitotóxico dos DES [ChLa] (a), [ChGy] (b) e [ChU] (c) para as sementes de alface (*Lactuca sativa*).



Fonte: autora (2022).

Na Figura 15 (a), a inibição do crescimento radicular em relação ao solvente ChLa, apresenta maior efeito inibitório com relação aos demais solventes, o que pode estar relacionado ao fato do ácido láctico apresentar uma relevante acidez, fazendo com que, após a adição de água, o sistema eutético se desfaça e ocasione a formação de íons H_3O^+ . Dessa forma, o ambiente de germinação torna-se redutor, levando assim à oxidação das células da espécie *Lactuca sativa* e sua consequente atenuação de germinação (MORAIS *et al.*, 2015; RADOSEVIC *et al.*, 2015).

Para os solventes ChGy e ChU a inibição do crescimento radicular se deu de maneira similar, teve início a partir de 10000 mg/L^{-1} . Atualmente, o glicerol tem sido utilizado como substrato orgânico, agregando valor em vários compostos através de sua síntese biológica. Apresenta distintas aplicações na indústria de alimentos, cosméticos, farmacêutica dentre outros (VIANA *et al.*, 2012). No caso do glicerol, a inibição da germinação de células vegetais se deve a existência de três grupos hidroxilas presentes neste solvente que propende a potencializar a interação do mesmo para com os constituintes do envoltório biológico, inibindo então o seu desenvolvimento.

No tocante ao ChU, sabe-se que a ureia é largamente empregada como fertilizante no setor agrícola. Entretanto, em concentrações acima de 10000 mg L^{-1} é observada uma perturbação do próprio equilíbrio de germinação da radícula e da raiz, isso se deve ao fato de uma provável eutrofização, que é um processo que se caracteriza pelo aumento de nutrientes, principalmente de fósforo e nitrogênio, diminuindo a quantidade de oxigênio, provocando um surgimento excessivo de organismos, e causando a morte de espécies (BOUGARNE *et al.*, 2019). Dentre os solventes avaliados, o ChGy e ChU apresentaram-se como os menos fitotóxicos.

Este tipo de avaliação é fundamental para auxiliar na elucidação acerca do quão tóxico os solventes eutéticos são. Deste modo, a garantia de uma conotação mais ambientalmente amigável poderá ser alcançada pelo processo desenvolvido com base nestes solventes.

Radosevic *et al.* (2015) reportaram um estudo sobre a fitotoxicidade do DES ChGy (cloreto de colina:glicerol) aplicadas em sementes de trigo, e encontraram resultados indicando que o DES não se apresentou tóxico, com valores de germinação superiores a 5000 mg L . Hayyan *et al.* (2013) também relatou um estudo sobre a fitotoxicidade, avaliando do DES ChU (cloreto de colina:ureia) e obtiveram resultados confirmando a não inibição do DES relacionado às bactérias utilizadas no estudo.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

5.2.1 Parâmetros físico-químicos da biomassa lignocelulósica

Na tabela 7 estão reportados os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos analisados para a biomassa do bagaço de cana-de-açúcar.

Tabela 7- Parâmetros físico-químicos avaliados para o bagaço de cana.

Parâmetros	Valores
pH	5,77 ± 0,21
DQO (mg O ₂ /L)	879,31
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	ND

ND - Não determinado

Fonte: autora (2022).

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 7, o valor de pH apresentou-se consideravelmente ácido ($5,77 \pm 0,21$) para o extrato da biomassa lignocelulósica, isso se deve ao fato da presença de compostos fenólicos que são lixiviados durante a extração. O pH analisado na amostra foi similar ao valor encontrado por Geron *et al.* (2010) ao avaliarem a composição química, temperatura e pH do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, sendo este entre 5,88 a 5,77.

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) mede a quantidade de oxigênio requerido para oxidar a matéria orgânica sendo bastante importante para a avaliação do caráter poluidor na amostra. Um elevado valor de DQO indica que um considerável teor de oxigênio será requerido para a decomposição biológica do referido material (APHA, 2017). Neste estudo, foi obtido um valor de DQO de 879,31 mg O₂/L sendo este então considerado um material poluidor, o que torna necessária a realização de estudos que foquem em seu reaproveitamento e consequente diminuição de seu descarte inapropriado no meio ambiente.

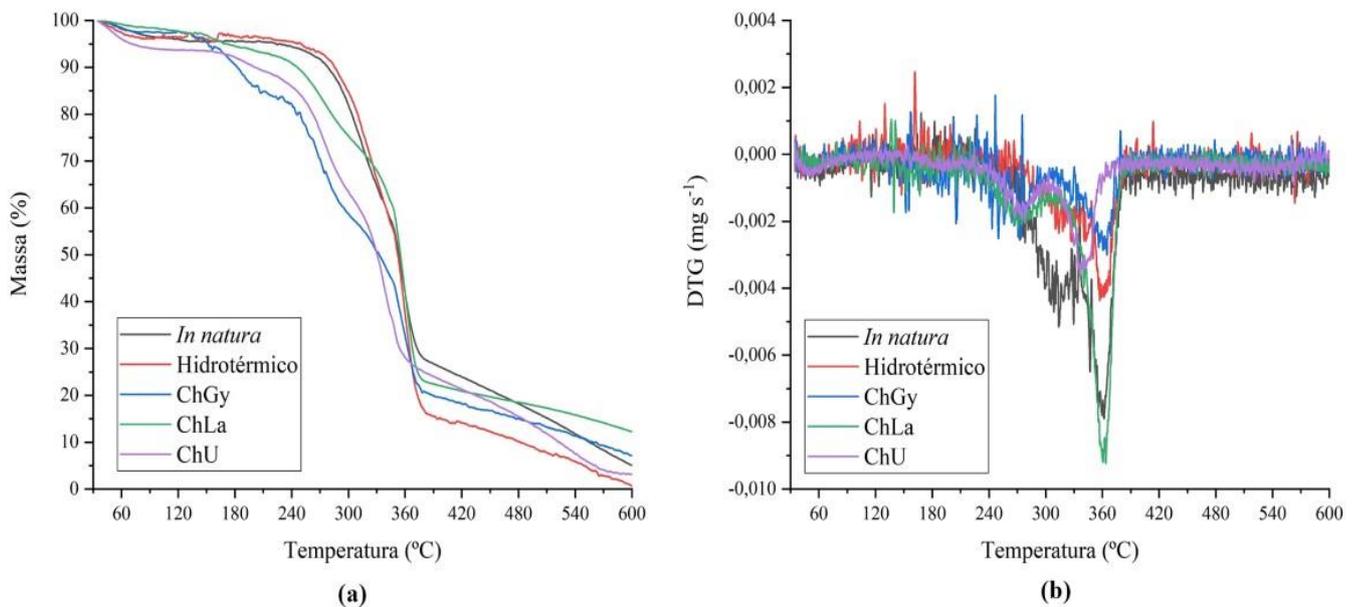
Bernabé (2012) obteve valor similar ao estudar a modificação da fração lignocelulósica durante o processo de compostagem e biodigestão anaeróbia do bagaço de cana-de-açúcar, obtendo um resultado 888 mg O₂/L.

Com relação à determinação do °Brix do material, verificou-se que este não se apresentou de forma significativa para mensuração o que é esperado uma vez que as amostras utilizadas neste trabalho foram coletadas na última etapa do processamento da biomassa, o que indica que praticamente todo caldo rico em sacarose tenha sido removido, não restando mais material solúvel disponível.

5.2.2 Caracterização lignocelulósica das amostras de bagaço de cana-de-açúcar

Como uma maneira de entender a interação dos solventes eutéticos profundos com o bagaço de cana-de-açúcar, a biomassa lignocelulósica foi submetida a uma análise termogravimétrica, antes e após cada extração. A Figura 16 (a) mostra as curvas termogravimétricas (TG) e a Figura 16 (b) apresenta as curvas derivadas (DTG) de perda de massa em cada ensaio.

Figura 16- Análise termogravimétrica (TG) do bagaço de cana-de-açúcar antes e após as extrações realizadas (a) e suas respectivas curvas derivadas (DTG) (b).



Fonte: autora (2022).

De acordo com a Figura 16 (a), todas as biomassas, *in natura* ou tratadas, apresentaram uma perda de massa entre 30 e 100 °C. Essa faixa térmica corresponde à desidratação do material e indica a presença de água residual no interior do mesmo. De um modo geral, pode-se notar que para a biomassa *in natura* e após o pré-tratamento hidrotérmico, foi observado um perfil térmico semelhante na temperatura de 250 °C, o que indica similaridade estrutural. Para o bagaço tratado com ChGy, verificou-se que sua degradação significativa iniciou-se em aproximadamente 180°C. Já os bagaços tratados com ChLa (cloreto de colina:ácido láctico) e ChU (cloreto de colina:ureia), suas respectivas degradações iniciaram-se em aproximadamente 240°C, o que denota as diferenças estruturais alcançadas após o contato do biomaterial com os referidos DESs.

Entre 200 e 500°C observa-se a decomposição da fração lignocelulósica e é exatamente

onde se constata as maiores diferenças entre os perfis. Conforme Oliveira (2021), a hemicelulose apresenta uma faixa térmica de degradação menor que a celulose de 240 a 310°C e 310 a 360°C, respectivamente. Sendo assim, ela será a primeira a se decompor, e dessa maneira, a lignina será a última, precisamente por possuir uma estrutura mais complexa, por ser um polímero natural formado por vários monômeros diferentes e por apresentar elevada faixa térmica de aproximadamente 200 a 500°C.

Alguns autores descrevem faixas de degradação semelhantes aos resultados apresentados, como por exemplo Santos *et al.* (2011) relatou seu estudo sobre as condições de estocagem do bagaço de cana-de-açúcar por análise térmica, no qual foi identificado que nas faixas de temperaturas entre 275 e 305°C há a decomposição da hemicelulose, entre 300 e 325°C a decomposição da celulose e acima de 400°C da lignina.

A Figura 16 (b) apresenta os resultados da DTG para todas as amostras, em que mostra uma perda de massa entre 30 e 100 °C devido à umidade e especificamente na faixa associada à estrutura lignocelulósica entre 340 a 400°C é onde o sinal derivado apresenta a maior diferença justificando que as amostras tratadas pelos diferentes solventes, de fato, apresentam diferentes estruturas lignocelulósicas.

A Tabela 8 apresenta a composições percentuais lignocelulósicas da biomassa, antes e após a extração com os DESs e tratamento hidrotérmico, sendo esses valores determinados a partir da TG e CLAE. Para a TG o cálculo foi feito realizando-se a diferença entre os percentuais nas referidas faixas de decomposição conforme as equações 9, 10, 11 e 12.

Teor de cinzas= percentagem mássica ao final da análise

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \text{teor (100°C)} - \text{teor (25°C)} \quad (\text{Eq. 9})$$

$$\text{Teor de celulose (\%)} = \text{teor (360°C)} - \text{teor (310°C)} \quad (\text{Eq. 10})$$

$$\text{Teor de hemicelulose (\%)} = \text{teor (310°C)} - \text{teor (240°C)} \quad (\text{Eq. 11})$$

$$\text{Teor de lignina (\%)} = (\text{teor (500°C)} - \text{teor (200°C)}) - \text{teor de celulose} - \text{teor de hemicelulose (Eq. 12)}$$

Tabela 8- Composição lignocelulósica do bagaço de cana-de-açúcar após extração.

Composição (%)	In Natura		Hidrotérmico		ChGy		ChLa		ChU	
	(CLAE/TG)		(CLAE/TG)		(CLAE/TG)		(CLAE/TG)		(CLAE/TG)	
Celulose	36,38 ± 0,69	34,23	30,89 ± 0,29	43,59 ^(*)	31,20 ± 2,82	24,19	31,01 ± 3,02	35,57	27,24 ± 2,75	32,26
Hemicelulose	18,89 ± 2,15	17,92	7,65 ± 0,13	15,16 ^(*)	10,5 ± 1,07	25,62 ^(*)	4,80 ± 0,91	17,76 ^(*)	12,46 ± 1,24	25,49
Lignina	23,16 ± 2,09	26,9	29,09 ± 0,51	29,18	22,62 ± 0,22	22,24	9,83 ± 0,13	25,27 ^(*)	10,41 ± 2,48	19,26
Umidade	-	3,68	-	3,65	-	2,36	-	1,77	-	6,06
Cinzas	-	5,05	-	0,69	-	7,15	-	12,2	-	3,14

Nota: O símbolo sobrescrito (*) denota diferença estatística entre o valor obtido pela análise termogravimétrica e pela metodologia oficial padrão (NREL) segundo teste de hipótese seguindo a distribuição t-student ($t_{\text{tabelado}} = 12,71$) para 95% de confiança. n=2.

Para CLAE, esses cálculos foram realizados de acordo com a diferença percentual entre cada solvente de extração, comparado com o teor da amostra *in natura* conforme mostra a Equação 8, do item 4.6

Com respeito aos teores de umidade e cinzas, e de acordo com os dados apresentados na Tabela 8, percebe-se que para o bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e pré-tratados, os teores de cinzas variaram entre 0,69 a 12,20% , o que está atrelado ao teor de material inorgânico na matriz investigada. Já os teores de umidade variaram entre 1,77 a 6,06%, o que pode ser atribuído à modificação dos grupos funcionais, principalmente hidroxila, durante cada um dos pré-tratamentos estudados, o que confere ao material diferentes graus de retenção de água durante sua estocagem.

Acerca da composição lignocelulósica da amostra de bagaço de cana-de-açúcar, esta apresentou um teor de celulose de $36,38 \pm 0,69$ %, e de $18,89 \pm 2,15$ % e $23,16 \pm 2,09$ % para a hemicelulose e lignina, respectivamente. Estes resultados estão em conformidade com o reportado no estudo de Alokika *et al.* (2021) que também obtiveram resultados similares para a caracterização da matriz aqui investigada.

Após a extração usando os DES ChU, houve uma diminuição significativa no teor de lignina no bagaço quando comparado com o teor da matriz *in natura* (55,05 %), enquanto que para os demais tratamentos como ChGy, ChLa diminuiu 2,30% e 57,57%, respectivamente. Já no tratamento hidrotérmico houve um aumento no teor de lignina, cerca de 25,25%, visto que esse tratamento é seletivo em remover hemiceluloses e celuloses, o que torna o material final mais rico em lignina.

Esses resultados indicam que o DES ChU foi promissor em remover seletivamente a lignina do material, quando comparado com os demais. Embora o ChLa também o tenha sido em relação ao polímero estrutural em questão, este também removeu quantidade significativa de hemicelulose, o que indica uma baixa seletividade. Com respeito ao tratamento hidrotérmico, sabe-se ser mais eficiente à recuperação de compostos oriundos das frações polissacarídeas, o que explica o aumento no teor global de lignina uma vez que esta não foi removida.

O melhor efeito observado quando realizado o pré-tratamento à base de ChU pode ser atribuído ao fato de que, em meio alcalino, a lignina se torna mais solúvel. Uma característica comum do ChU é sua basicidade, que facilita a dissolução seletiva da lignina da biomassa, devido à desprotonação de grupos hidroxila fenólicos na lignina (CHEN *et al.*, 2020). Sendo assim, a biomassa tornou-se mais rica em celulose e hemicelulose, constatando que o principal componente a ser removido por este tratamento foi a lignina (Tabela 8).

Procentese *et al.* (2015), em sua pesquisa extraiu 27,11% de lignina da espiga de milho,

utilizando ChCl:Ureia sob uma condição de pré-tratamento de 80 °C por 15h. Pan *et al.* (2017), em seu estudo removeu 44,74% de lignina da palha de arroz, utilizando ChCl:Ureia sob uma condição de pré-tratamento de 130 °C durante 8 h, o que endossa as constatações aqui observadas.

Os dados obtidos para as amostras de bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e pré-tratados com os diferentes solventes usando a Termogravimetria, foram comparados com a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A injeção do CLAE foi realizada em duplicata para cada amostra.

É possível observar que os resultados obtidos por ambas as técnicas analíticas são semelhantes entre si e foram confirmados utilizando t-student com 95% de confiança ($T_{\text{calculado}} < T_{\text{tabelado}}$).

Para os tratamentos hidrotérmicos em ChGy, os valores de ($T_{\text{calculado}} < T_{\text{tabelado}}$) foram (1,22 < 12,70), (2,46 < 12,70) respectivamente. Para os tratamentos com ChLa e ChU os valores ($T_{\text{calculado}} > T_{\text{tabelado}}$) foram (206,86 > 12,70) e (31,51 > 12,70) respectivamente, com $n = 2$.

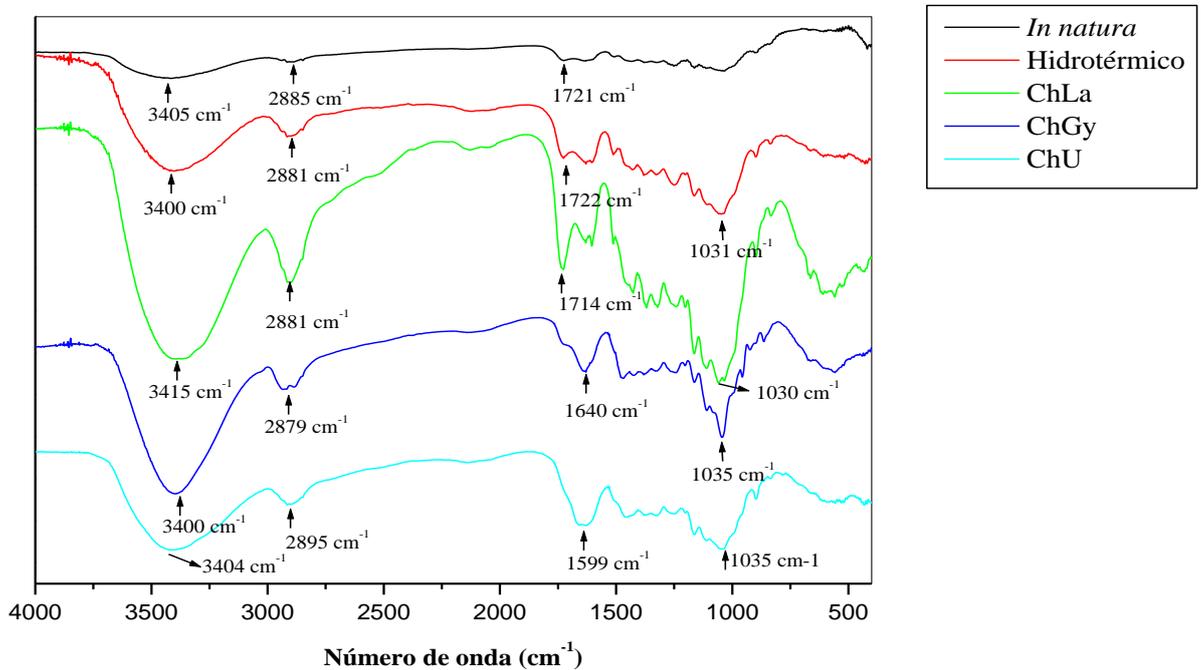
Estes resultados indicam que, para a biomassa *in natura*, ambos os métodos analíticos apresentaram similar capacidade de distinção entre os componentes da matriz amostral. Todavia, haja vista os diferentes graus de modificação alcançados, verificou-se notável diferença quando comparadas as respostas para amostras pré-tratadas. Esta observação denota que a análise termogravimétrica apresenta baixa capacidade de diferenciação quando modificações são realizadas na composição monomérica da estrutura dos polímeros naturais que compõem a matriz amostral, sendo então mais indicado o uso do método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), o qual se assegura na seletividade durante sua condução experimental.

O resultado acima reportado também pode ser atrelado à sobreposição das faixas térmicas da lignina sobre a celulose e a hemicelulose conforme outrora mencionado nas equações 9, 10, 11 e 12 mencionadas no item 5.2.2. O que torna a medida (TG) menos precisa e exata.

5.2.3 FTIR do bagaço de cana após extração

A Figura 17 ilustra os espectros de transmitância na região do infravermelho, entre 4000 a 400 cm^{-1} , para as cinco amostras de bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e pré-tratada com os diferentes solventes eutéticos ChGy, ChLa, ChU e tratamento hidrotérmico.

Figura 57- Espectros de absorção para o bagaço da cana *in natura* e tratado com os diferentes solventes



Fonte: autora (2022).

O espectro do bagaço de cana-de-açúcar é o resultado da sobreposição das bandas da celulose, da hemiceluloses e das ligninas. Cada amostra possui suas particularidades devido aos diferentes processos de extração e tratamento específico de cada uma. Nesta análise foi possível identificar os grupos funcionais atribuídos à celulose, hemicelulose e lignina.

Segundo Li *et al.* (2005), a banda larga que aparece em torno de 3375 cm⁻¹ é atribuído à deformação axial do grupo (O-H), resultante da associação polimérica. Vale ressaltar que como os espectros foram obtidos em pastilhas confeccionadas de KBr, há uma relativa adsorção de água, o que faz com que o pico se torne largo. Em estudos realizados por Kapulskis *et al.* (2005), foi observado que nas fibras lignocelulósicas *in-natura* de cana-de-açúcar, as bandas referentes as ligações O-H ocorriam entre 3200 e 3600 cm⁻¹.

Ainda no espectro, observa-se bandas largas em todas as amostras entre 3415-3405 cm⁻¹ referentes às ligações de hidrogênio, grupos O-H intra e intermoleculares com um estiramento ou deformação axial O-H presentes na celulose e lignina. As bandas correspondentes de 2895-2879 cm⁻¹, presentes em todas as amostras correspondem a estiramento de ligações C-H de grupos alifáticos de hidrocarbonetos saturados. As ligninas do bagaço da cana possuem grandes quantidades desses grupos.

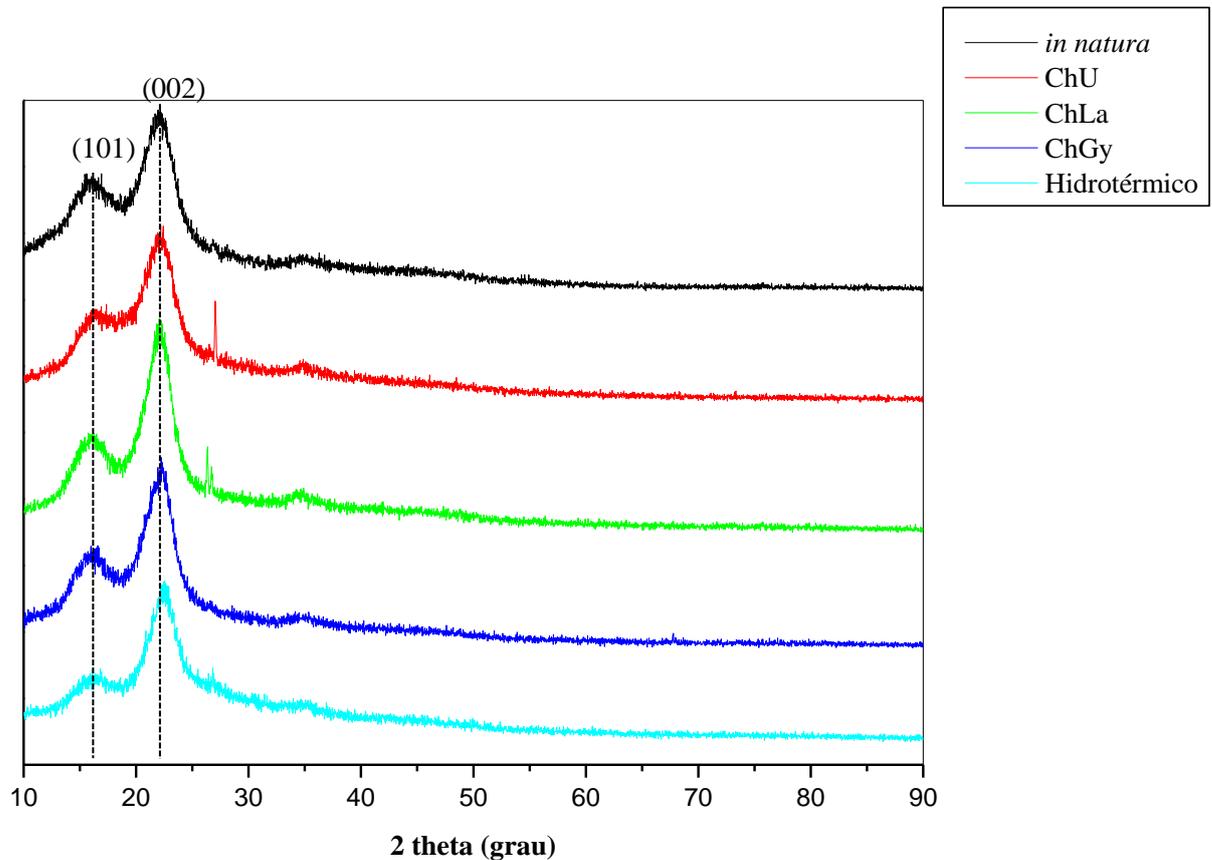
Nas amostras da biomassa *in natura* e tratada com o DES ChLa e com o tratamento hidrotérmico, as bandas entre 1722-1714 cm^{-1} representam estiramento C=O (carbonila) e grupos éster atribuída à hemicelulose. Verificou-se também uma banda característica em torno de 1640 cm^{-1} na amostra tratada com o DES ChGy referente a uma deformação axial C=O referente à lignina. Na amostra tratada com o DES ChU especificamente em torno de 1599 cm^{-1} tem-se vibrações no esqueleto aromático influenciada por estiramento C=O relacionado a lignina.

Todas as amostras apresentaram bandas entre 1030-1035 cm^{-1} relativas a ligações (C-O-C) da vibração do anel de piranose (celulose) (VIEIRA *et al.*, 2007). Os picos da biomassa tratada com os solventes eutéticos profundos e no tratamento hidrotérmico foram mais intensos quando comparado à biomassa *in natura*, o que pode ser atrelado à depolimerização do material após os tratamentos investigados, constatando então as modificações acarretadas após cada condição estudada.

5.2.4 Difractometria de raios-x e índice de cristalinidade

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar podem ser representadas por uma matriz de lignina, amorfa, ligada a fibrilas de celulose por meio da hemicelulose. A análise de difração de raios-X (Figura 18) bem como a determinação do índice de cristalinidade (Tabela 9) foram realizadas no bagaço da cana-de-açúcar *in natura* e pré-tratados a fim de analisar a estrutura cristalina. Observando os resultados apresentados, verifica-se que a biomassa pós pré-tratamento (extração) sofreu um aumento na cristalinidade em comparação com o bagaço *in natura*. Comparando as biomassas tratadas, constata-se que ambas apresentaram resultados semelhantes, apenas com o tratamento ChU apresentou um índice de cristalinidade mais elevado.

Figura 18 - Difratomogramas de raio-X para o bagaço de cana *in natura* e após extração



Fonte: autora (2022).

Os picos bem definidos entre $16,3^\circ$ e $22,5^\circ$ correspondem aos planos cristalográficos (101) e (002) (LIONETO *et al.*, 2012). Analisando os difratogramas separadamente, observou-se, para as amostras de bagaço *in natura*, picos de difração 2θ em $16,1^\circ$ e $22,1^\circ$. Para amostras de bagaço pré-tratadas com ChLa, ChGy e tratamento hidrotérmico picos de difração em $16,1^\circ$ e $22,5^\circ$, ou seja, praticamente os mesmos picos para ambos os difratogramas. No entanto, houve uma variação no índice de cristalinidade com o tratamento ChU, indicando um aumento na cristalinidade total da matriz, conforme os dados apresentados na Tabela 9. Esse resultado era esperado e está em conformidade com a melhor remoção de lignina observada por meio deste tratamento uma vez que este biopolímero compõe a maior porção amorfa da matriz lignocelulósica (CHOURASIA *et al.*, 2021).

Tabela 9- Índice de cristalinidade para as amostras de bagaço de cana-de-açúcar

Material	I₍₀₀₂₎	I_(am)	I_c(%)
<i>in natura</i>	760	490	35,53
ChU	802	394	50,87
ChLa	732	438	40,16
ChGy	690	400	42,03
Hidrotérmico	692	320	44,06

Fonte: autora (2022).

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com base nos ensaios preliminares e na caracterização dos DESs investigados, principalmente no que se refere ao efeito ecotóxico, selecionou-se o DES ChU (cloreto de colina:ureia) devido sua capacidade de remoção de lignina, buscando então a otimização das principais variáveis que influenciam no processo, sendo elas reportadas na Tabela 10. É possível observar que o maior percentual de remoção de lignina (58,38%) foi obtido nas seguintes condições: 3 mL de DES, adição de 6% de água ao solvente e tempo de extração de 2 h (ensaio 7). Esses cálculos foram realizados conforme exposto na Equação 13.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Massa de lignina extraída}}{\text{Massa de lignina inicial}} * 100 \quad (\text{Eq. 13})$$

Onde: Massa de lignina extraída é o teor de lignina removida do material, e “Massa de lignina inicial” é o teor de lignina que inicialmente o material contém, antes da extração.

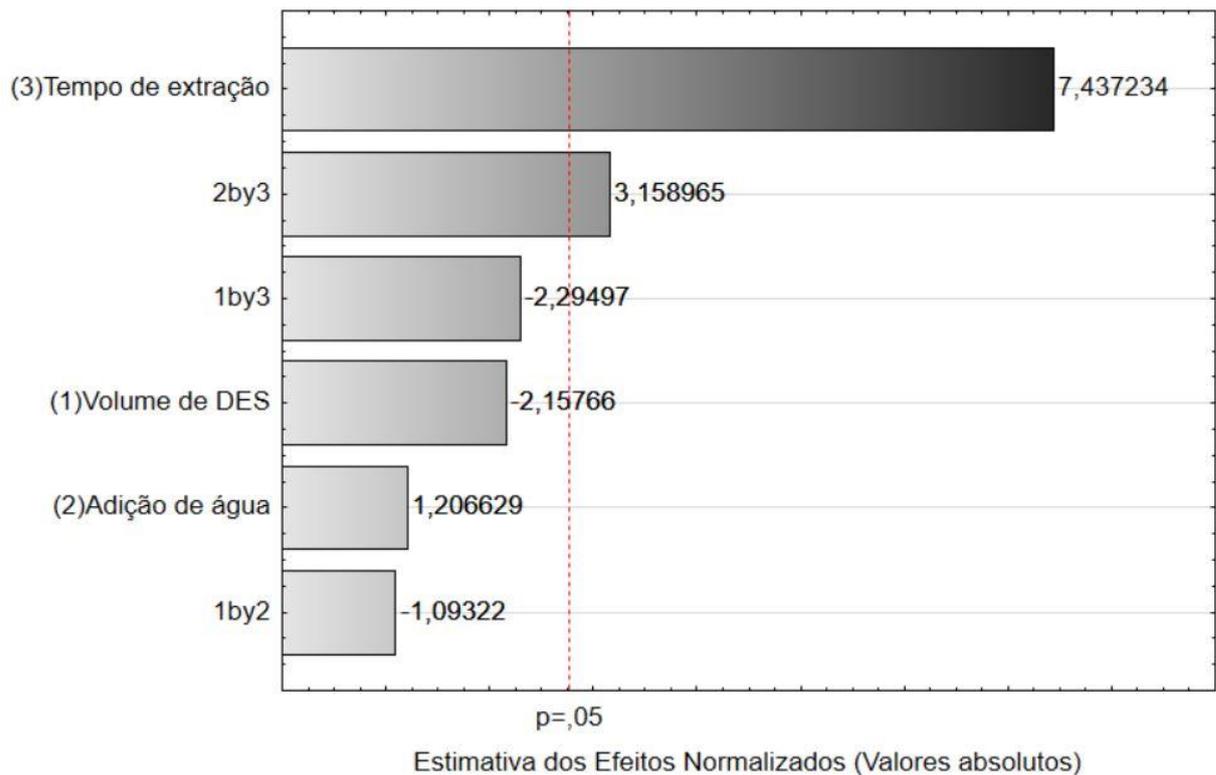
Tabela 60- Matriz do planejamento fatorial 2³

Experimento	Ordem de execução	Volume de DES (mL)	Adição de água (%)	Tempo de Extração (h)	Recuperação de Lignina (%)
1	10	3,00	2,00	1,00	26,22
2	1	6,00	2,00	1,00	25,49
3	11	3,00	6,00	1,00	19,91
4	2	6,00	6,00	1,00	21,36
5	8	3,00	2,00	2,00	39,78
6	3	6,00	2,00	2,00	34,81
7	9	3,00	6,00	2,00	58,38
8	5	6,00	6,00	2,00	39,54
9	7	4,50	4,00	1,50	33,66
10	6	4,50	4,00	1,50	28,27
11	4	4,50	4,00	1,50	34,42

Fonte: autora (2022).

Através do diagrama de Pareto (Figura 19) é possível identificar que os efeitos do tempo de extração (2) e a interação do tempo de extração e adição de água ao DES (1) foram significativos, ao nível de 95% de confiança.

Figura 19- Diagrama de Pareto para a recuperação de lignina na etapa de prétratamento



Fonte: autora (2022).

Este resultado reitera a importância da viscosidade do solvente sobre sua capacidade de atuação como agente extrator uma vez que, como já fora aqui reportado, a adição de água ao sistema leva a uma mitigação desta propriedade físico-química. Com relação ao tempo de extração, o aumento deste leva a um prolongado período de contato entre a matriz amostral e o solvente extrator, o que explica seu efeito positivo sobre as respostas observadas.

O volume de extração, o qual altera a razão solvente/biomassa, pouco influenciou no processo. Este resultado está em conformidade com a condição do processo de extração, uma vez que os sistemas com maiores razões molares tendam a permitir uma melhor agitação/mistura de ambas as fases, fluidas e sólidas, envolvidas no processo de extração.

Um estudo sobre a otimização da deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar utilizando solventes eutéticos profundos (DES): Cloreto de colina:ureia e Cloreto de colina:glicerol realizado por Varilla Mazaba *et al.* (2022), apresentou uma remoção da lignina do bagaço da cana-de-açúcar quando a extração foi realizada nas seguintes condições: 81,1% de remoção com um tempo de reação de 13,12 h e temperatura de 160°C e 82% de remoção com tempo de reação 14,04 h e temperatura 160°C, o que mostra que demandou um elevado tempo de extração, assim também como uma elevada temperatura. Diferentemente desta pesquisa aqui reportada, onde conseguimos uma remoção de 58,38% de lignina em um curto

tempo de extração de 2 h, endossando que o método aqui investigado foi bastante eficiente na etapa de extração de lignina.

Similarmente, Rony *et al.* (2014) avaliaram em seu estudo o processo de remoção de lignina do bagaço de cana-de-açúcar com tratamento alcalino, obtendo 60% de remoção de lignina utilizando NaOH 1 N, razão solvente/biomassa 12:1 com tempo de reação de 30 min. Ibarra-Díaz *et al.* (2020) utilizaram um tratamento oxidativo-alcalino na remoção de lignina de palha de cevada, constatando que as condições ideais para a deslignificação eram 6% (v/v) de H₂O₂ (pH 11,5 com NaOH 10 M) e tempo de reação de 24 h atingindo 60% de remoção de lignina. Observa-se mais uma vez que o tempo de extração foi bastante elevado.

Os solventes orgânicos tradicionais entre os quais estão: ácido acético, clorofórmio, éter etílico entre outros, são altamente voláteis e representam a maior parte das emissões de substâncias tóxicas. Por esta razão, os DESs apresentam-se como uma alternativa mais viável, com diversas vantagens, como pressão de vapor desprezível, fazendo com que em condições normais esses solventes se mantenham na fase líquida. Ademais, geralmente não são inflamáveis e permanecem estáveis em temperaturas mais altas que os solventes convencionais, aumentando a segurança dos processos químicos que utilizam esses solventes. Por este motivo são conhecidos como solventes verdes (BEZERRA *et al.*, 2020). Sendo portanto, as condições empregadas neste estudo com solventes eutéticos profundos, mais brandas, seguras e rápidas.

A ferramenta do planejamento experimental e a análise da superfície de resposta permitem a análise da influência das variáveis em determinado processo, a forma da interação entre estas variáveis e a obtenção do valor das variáveis que otimizem os resultados.

O modelo estatístico que representa o percentual de remoção de lignina é dado pela equação abaixo:

$$\text{Remoção de lignina (\%)} = 32,89 (\pm 1,01) - 2,88 \cdot V (\pm 1,18) + 1,61 \cdot A (\pm 1,18) + 9,94 \cdot T (\pm 1,18) - 1,46 V \cdot A (\pm 1,18) - 3,07 \cdot V \cdot T (\pm 1,18) + 4,22 \cdot A \cdot T (\pm 1,18)$$

Onde:

V = Volume de DES;

A = Adição de água ao DES;

T = Tempo de extração.

Os dados de análise de variância (ANOVA) para a remoção de lignina estão apresentados na Tabela 11. O modelo de primeira ordem obtido pelo planejamento

experimental 2³ apresentou coeficiente de correlação R² de 0,95, indicando uma correlação adequada do modelo. Segundo Barros Neto *et al.* (2001), quanto maior for a fração descrita pela regressão, ou melhor, quanto mais próximo de 1 for o valor de R², melhor será o ajuste do modelo aos dados observados.

Tabela 11- Análise de variância (ANOVA) para a recuperação de lignina após o pré-tratamento com DES.

Fontes de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	1112,92	6	185,49	2,16
Resíduo	57,17	4	14,29	-
Falta de Ajuste	34,71	2	17,36	0,08
Erro puro	22,47	2	11,24	-
Total	1170,09	10	-	-

$$F_{0,95;(6,4)} = 6,16; F_{0,95;(2,2)} = 19,00; R^2 = 0,95$$

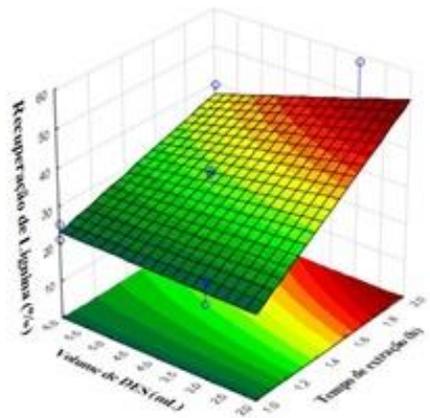
Fonte: autora (2022).

A análise da variância (ANOVA) (Tabela 11) apresenta importantes dados do experimento como os valores de Probabilidade de Fisher (F), cujo valor indica a significância dos fatores avaliados, suas interações, erros e a falta de ajuste do experimento. O valor de F calculado foi maior que o F tabelado, ou seja, o teste F apresentou um valor acima de 1. Dessa forma, o modelo de regressão que representa a recuperação de lignina após a etapa extração é significativo.

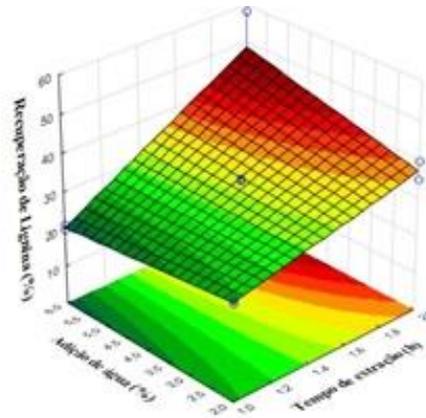
As figuras 20 (a-c) mostram as superfícies de respostas que foram construídas para todas as possíveis combinações de variação de três variáveis. Nas Figuras 20 (a-c) pode-se verificar que ao variar do nível -1 ao +1 na variável da temperatura e do volume, aumenta-se a porcentagem de remoção de lignina.

De maneira geral, o processo de deslignificação utilizando solventes eutéticos profundos pode oferecer uma significativa remoção de lignina quando comparado com outros métodos de deslignificação. No entanto, a vantagem deste estudo em comparação com os relatados na literatura é que o uso de DES pode desempenhar um papel importante no novo conceito de química verde, o que torna a extração usando DES como solvente uma boa alternativa para a remoção de deslignificação.

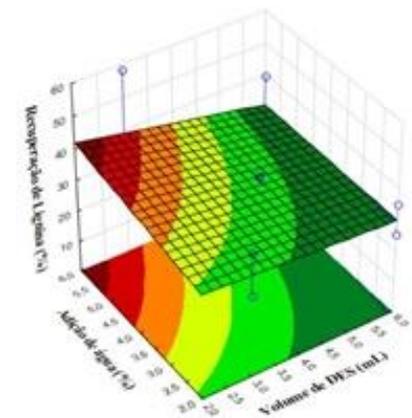
Figura 20- (a) (b) (c) Superfícies de resposta para a recuperação de lignina após o pré-tratamento com DES [ChU].



a)



b)



c)



Fonte: autora (2022).

5.3.1 CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS EXTRAÇÃO USANDO AS CONDIÇÕES OTIMIZADAS

O bagaço de cana-de-açúcar após extração com o DES: Cloreto de colina:ureia reproduzido nas condições ótimas foi caracterizado quanto às suas propriedades físico-químicas. Para isso, foram realizadas análises de Difractometria de raios-X (DRX) e espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

5.3.1.1 Difractometria de raios-X e índice de cristalinidade

A Figura 21 apresenta o difratograma de raio-X do bagaço de cana-de-açúcar deslignificado após otimização. O índice de cristalinidade está apresentado na Tabela 12.

Figura 21- Difractograma de raios-X para a melhor condição pós pré-tratamento

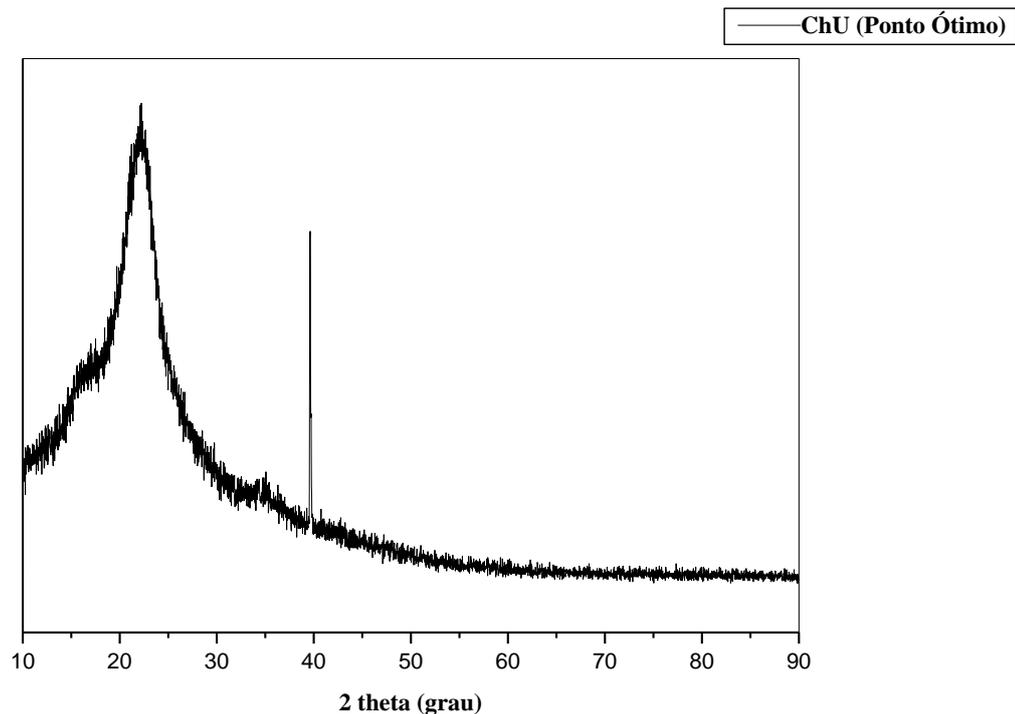


Tabela 12- Índice de cristalinidade para o ponto ótimo.

Material	$I_{(002)}$	$I_{(am)}$	$I_c(\%)$
ChU	872	434	50,23

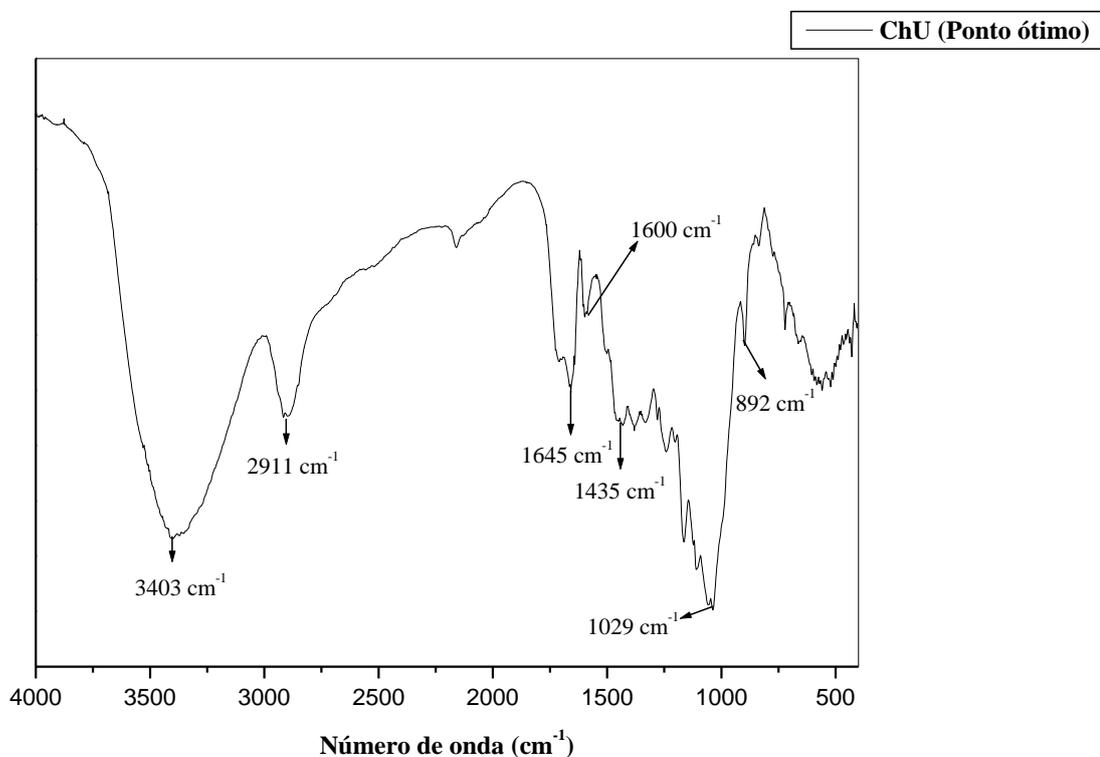
Fonte: autora (2022).

O difratograma de raio-X apresenta picos em torno de $16,11^\circ$ e $22,08^\circ$ característicos da celulose do tipo I (LEI *et al.*, 2018). Comparando aos dados reportados de DRX da biomassa *in natura* no tópico 5.2.4 deste estudo, com relação aos espectros de DRX, houve um aumento no índice de cristalinidade indicando a remoção de grande parte da lignina amorfa durante o processo estudado. Isso se deve também ao aumento no grau de empacotamento das cadeias de celulose pelo inchaço das fibras, proporcionado pelo tratamento, ou seja, indicando a não degradação da celulose realizada nas condições do ponto ótimo e a remoção de grande parte da lignina.

5.3.1.2 Infravermelho (FTIR)

Na Figura 22 encontra-se representado o espectro de FTIR do bagaço de cana-de-açúcar deslignificado após reprodução da melhor condição com o ChU, o qual apresenta as bandas típicas dos componentes majoritários de biomassa lignocelulósica.

Figura 22- Espectro de infravermelho do ponto ótimo



Fonte: autora (2022).

Os picos na região de 3403 e 2911 cm^{-1} representam, respectivamente, os estiramentos OH e C-H presentes nas estruturas nucleares da celulose e hemiceluloses. Analisando as bandas com absorção em 1600 cm^{-1} e 1645 cm^{-1} nota-se uma redução das bandas, mostrando a ausência de lignina. Observa-se também uma maior intensidade na região entre 1029 e 892 cm^{-1} após o processo de deslignificação podendo ser atribuída a exposição das ligações $\beta(1\rightarrow4)$ após a solubilização de grande parte da lignina.

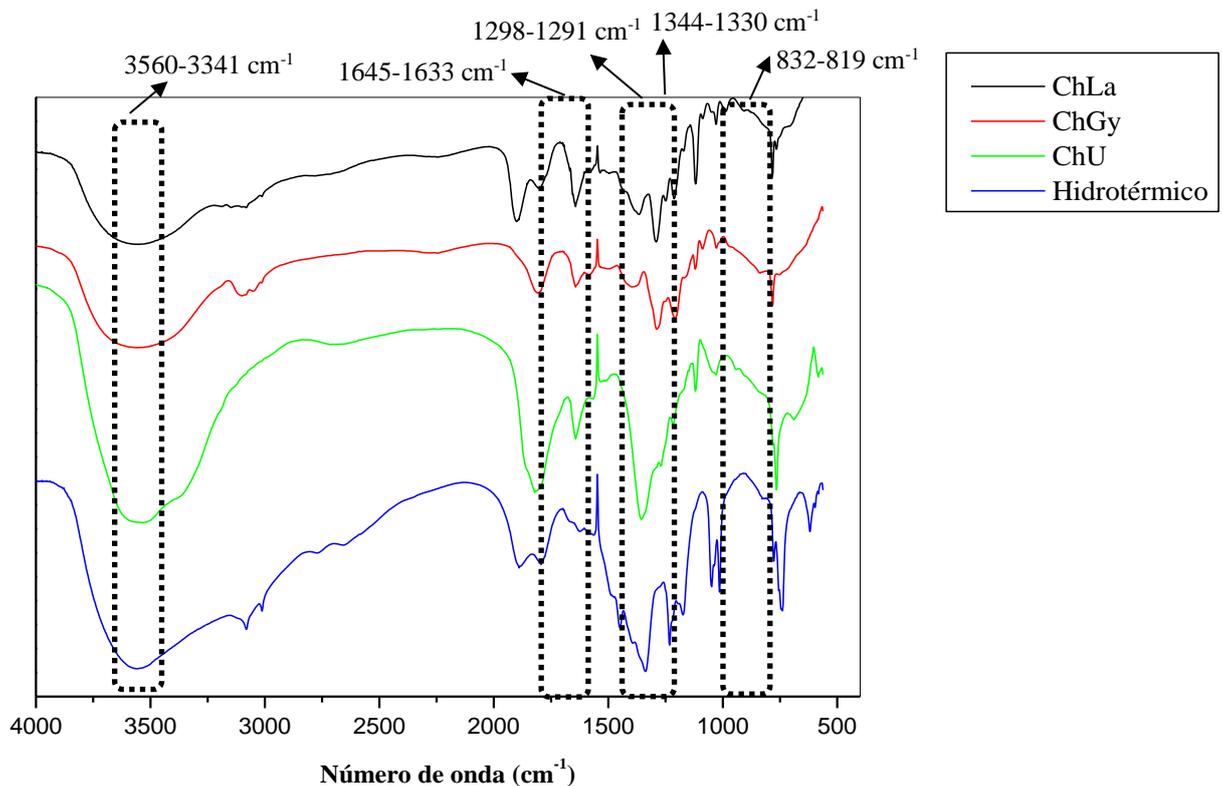
5.4 CARACTERIZAÇÃO DA LIGNINA RECUPERADA

Para garantir que o produto extraído ao final de cada pré-tratamento se tratava de fato da lignina, foi adicionado ácido sulfúrico aos extratos até a total precipitação da lignina (pH ~1,0) e em seguida, a fração sólida foi então caracterizada por FTIR.

5.4.1 Infravermelho (FTIR)

De acordo com os espectros ilustrados na Figura 23, observa-se bandas características de lignina em todas as amostras. Ambos os espectros apresentaram bandas largas em torno de 3560-3341 cm^{-1} atribuída aos grupos hidroxila (O-H) da celulose, lignina, hemicelulose e água. A largura da banda reflete a tendência hidrofílica das fibras, indicando o forte poder dos grupos OH em realizar ligações de hidrogênio.

Figura 23- Análise de FTIR para as quatro amostras de lignina analisadas na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}



Fonte: autora (2022).

Todos os espectros de infravermelho apresentaram bandas entre 1645 cm^{-1} e 1633 cm^{-1} que são atribuídas à deformação angular da ligação O–H causada pela absorção de água pelas fibras. Também pode ser indicativo de presença de lignina.

Os espectros das amostras de ChLa e ChGy apresentam bandas entre $1298-1291\text{ cm}^{-1}$ característicos de uma deformação angular C-H referente à celulose. As bandas entre $1344-1331\text{ cm}^{-1}$ referentes as amostras ChU e H_2O são característicos dos anéis siringila e guaiacila condensados da lignina.

Dessa forma, todos os espectros apresentam bandas entre $819-832\text{ cm}^{-1}$ correspondente aos grupos funcionais da lignina como deformação de C-H fora do plano nas posições 2,5 e 6,0 de unidade guaiacila.

6 CONCLUSÃO

- Os solventes eutéticos sintetizados foram caracterizados quanto à sua estrutura, e mostraram que esta é diretamente afetada pelas características inerentes dos precursores empregados em sua obtenção.
- Tal constatação também justifica a maior fitotoxicidade apresentada pelo solvente ChLa, a qual está interligada ao caráter ácido que este confere ao meio de germinação das sementes empregadas como biomodelos nos testes de caracterização fitotóxica.
- A capacidade de extração da lignina do bagaço de cana-de-açúcar também é função das diferenças estruturais notadas uma vez que, o solvente anteriormente citado apresentou capacidade de não só remover o biopolímero alvo, como também a fração da hemicelulose, o que foi correlacionado à maior dissolução desta em meios mais ácidos.
- O Solvente ChU, por sua vez, se mostrou mais eficiente e seletivo à recuperação estudada uma vez que recuperou o polímero alvo de forma majoritária em detrimento das demais frações do material.
- Estas conotações foram validadas com base no aspecto estrutural da biomassa pré e pós-extrações.
- Foi possível observar que o maior percentual de remoção de lignina (58,38%) foi obtido nas seguintes condições: 3 mL de DES, adição de 6% de água ao solvente e tempo de extração de 2 h.
- Por fim, a otimização multivariada do processo aqui investigado permitiu não só a compreensão do efeito significativo apresentado pela temperatura e adição de água sobre a capacidade extratora do solvente ChU, como também permitiu a determinação da elaboração do modelo estatístico responsável pela determinação do máximo rendimento extrativo possível de ser alcançado dentro dos níveis investigados para cada variável independente.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A. P. *et al.* Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. **Chemical Communications**. v. 1, p. 70-71, 2003.
- ABBOTT, A. P. *et al.* Deep Eutectic Solvents Formed between Choline Chloride and Carboxylic Acids: Versatile Alternatives to Ionic Liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v.126, n. 29, p. 9142–9147, 2004.
- ALCALDE, R. *et al.* An Experimental and Theoretical Investigation of the Physicochemical Properties on Choline Chloride – Lactic Acid based Natural Deep Eutectic Solvent (NADES). **Journal of Molecular Liquids**, v. 290, p. 110-916, 2018.
- ALOKIKI *et al.* Cellulosic and hemicellulosic fractions of sugarcane bagasse: Potential, challenges and future perspective. **International Journal of Biological Macromolecules** v. 169, p. 564–582, 2021.
- ALONSO, D. A. *et al.* Deep Eutectic Solvents: The Organic Reaction Medium of the Century. **European Journal of Organic Chemistry**. p. 612 – 632, 2016.
- ANTONIO, M. P. *et al.* Sample pre-treatment methods for organometallic species determination. In: Bakirdere, S., Ed., Speciation studies in Soil. **Sediment and Environmental Samples**. CRC Press, p. 19-201, 2013.
- APHA – American Public Health Association; AWWA – American Water Works Association; WEF – Water Environment Federation. (2005) **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington, D.C.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2017.
- ARNI, S. A. Extraction and isolation methods for lignin separation from sugarcane bagasse: A review. **Industrial Crops & Products**. v. 115, p. 330-339, 2018.
- ARRUDA, M. D. M. *et al.* Characterization of lignin from Crataeva tapia leaves and its potential in medicinal and cosmetic formulations. **International journal of biological macromolecules**. v. 180, p. 286-298, 2021.
- BARROS NETO, B. *et al.* **Como fazer experimentos: pesquisas e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: UNICAMP, p. 401, 2001.
- BES, K. *et al.* Extração e caracterização da lignina proveniente do pré-tratamento de biomassa para produção de etanol de 2ª geração. **Eng Sanit Ambient**. v. 24, n. 1, p. 55-60, 2019.
- BEZERRA, F. S. *et al.* Aproveitamento integral de matérias-primas oleaginosas com “solventes verdes”: revisão e oportunidades. **Research, Society and Development**, v. 9, n.8, 2020.
- BORGES, C. P. *et al.* Planejamento fatorial aplicado ao processo de hidrólise de

lignocelulose. **Brazilian Journal of Development**. v. 5, n. 11, p. 24718-24723, 2019.

BOUGARNE, L. *et al.* Consequences of surface water eutrophication: remedy and environmental interest. **Materials Today: Proceedings**. v. 13, p. 654–662, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

BRINDLEY, G. W. *et al.* **The X-ray identification and crystal structures of clay minerals**. London: Mineralogical Society, 1980.

CALADO, V. *et al.* **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, p. 260, 2003.

CANDIDO, R. G. *et al.* Evaluation of two different applications for cellulose isolated from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Industrial Crops & Products**. n. 142, p.111-616,2019.

CARDONA, E. *et al.* Effects of the pretreatment method on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentability of the cellulosic fraction from elephant grass. **Fuel**, v. 118, p. 41-47, 2014.

CASTRO, V. I. B. *et al.* Synthesis and Physical and Thermodynamic Properties of Lactic Acid and Malic Acid-Based Natural Deep Eutectic Solvents. **Journal of Chemical and Engineering**, 2018.

CHEMAT, F. *et al.* Thermal and physical properties of (Choline chloride + urea + l-arginine) deep eutectic solvents. **Journal of Molecular Liquids**, v. 218, p. 301–308, 2016.

CHEN, Z. *et al.* Lignin extraction and upgrading using deep eutectic solvent. **Industrial Crops & Products**. v. 147, p. 112-241, 2020.

CHOURASIA, V. R. *et al.* Improving enzymatic digestibility of sugarcane bagasse from different varieties of sugarcane using deep eutectic solvent pretreatment. **Bioresource Technology**. v. 337, p, 125-480, 2021.

COSKUN, O. Separation techniques: Chromatography. **North Clin Istanbul**, v. 3, n. 2, p. 156-160, 2016.

CRONIN, D. J. *et al.* Deep Eutectic Solvent Extraction of High Purity Lignin from a Corn Stover Hydrolysate. **Chemistry Sustainability Energy Materials**, v. 13, p. 4678-4690, 2020.

CULLITY, B. D. *et al.* **Elements of X-Ray diffraction**. 3 ed. Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Compan, 1956.

CUNHA, S. C. *et al.* Extraction techniques with deep eutectic solvents. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 105, p. 225-239, 2018.

CYBULSKA, I. *et al.* Chapter 4: Hydrothermal pretreatment of lignocelulosic biomass. Green

Biomass Pretreatment for Biofuels Production, **Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability**, 2013.

D'HONT, A. *et al.* Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes. **Genome**. v. 41, n. 2, p. 221–225, 1998.

DEL RÍO, J. C. *et al.* Differences in the chemical structure of the lignins from sugarcane bagasse and straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 322-338, 2015.

DELBECQ, F. *et al.* Hydrolysis of Hemicellulose and Derivatives - A Review of Recent Advances in the Production of Furfural. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, 2018.

FILHO, I. J. C. **Separação dos principais componentes do cavaco de eucalipto, hidrólise enzimática da celulose e caracterização das frações obtidas**. 2016. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial)- Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

GERON, L. J. V. *et al.* Composição Química, Valor de pH e Temperatura do Bagaço de Cana-de-Açúcar in natura e Hidrolisado com Cal (CaO) Conservados em Mini Silos. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.8, n.1, p.57- 68, 2010.

GHAEDI, H. *et al.* The study on temperature dependence of viscosity and surface tension of several Phosphonium-based deep eutectic solvents. **Journal of Molecular Liquids**, v. 241, p. 500–510, 2017.

HAMMOND, O. S. *et al.* Liquid structure of the choline chloride-urea deep eutectic solvent (reline) from neutron diffraction and atomistic modelling. **Green Chemistry**. v. 18, p. 2736-2744, 2016.

HAYYAN, M. *et al.* Are deep eutectic solvents benign or toxic?. **Chemosphere**. v. 90, p. 2193-2195, 2013.

HEINZ, D. J. *et al.* SUGARCANE. **Encyclopedia of Agricultural Science**. v. 4, p. 225-238, 1994.

HERNANDEZ, A. G. *et al.* Deep Eutectic Mixtures: Promising Sustainable Solvents for MetalCatalysed and Metal-Mediated Organic Reactions. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2015, n. 31, p. 5147-5157, 2015.

HUIJEN, W.J.J.; SMIT, A.T.; DE WILD. P.J.; DEN UIL, H. Fractionation of wheat straw by prehydrolysis, organosolv delignification and enzymatic hydrolysis for production of sugars and lignin. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 389-398, 2012.

IONASHIRO, M. *et al.* Nomenclatura, Padrões e Apresentação dos resultados em Análise Térmica. **Cerâmicas**, p.7, 1980.

JÚNIOR, S. O. M. *et al.* CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E PRODUTIVA E SUAS CORRELAÇÕES EM CULTIVARES DE CANA-DE-AÇÚCAR. **Ciência Agrícola**. v. 16, n. 1, p. 31-42, 2018.

JÚNIOR, S. V. *et al.* **Metodologia de Caracterização Físico-Química de Lignina Kraft**.

Embrapa Agroenergia. 2020.

KAFFKA, SR. *et al.* Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. **Sugar Crops**. v. 5, p. 240-260, 2014.

KUMAR S.D *et al.* Importance of RP-HPLC in Analytical Method Development. **International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 12, p. 4626-4633, 2012.

KHALID, M. *et al.* Glycerol-based deep eutectic solvents: Physical properties. **Journal of Molecular Liquids**, v. 215, p. 98–103, 2016.

KLOCK, U. *et al.* **Química da madeira**. Universidade Federal do Paraná. Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal. (3ª. Edição revisada). p. 86, 2005.

LAURICHESSE, S. *et al.* Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 39, p. 1266-1290, 2014.

LEI, W. *et al.* Cellulose nanocrystals obtained from office waste paper and their potential application in PET packing materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 376–385, 2018.

LENÇO, P. C. **Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar para geração de energia**. 2010. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

LERON, R. B. *et al.* Carbon dioxide solubility in a deep eutectic solvent based on choline chloride and urea at T = 303.15–343.15 K and moderate pressures. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 44, p. 879-885, 2013a.

LERON, R. B. *et al.* Solubility of carbon dioxide in a eutectic mixture of choline chloride and glycerol at moderate pressures. **Journal of Chemistry Thermodynamics**, v. 57, p. 131-136, 2013b.

LI, C. *et al.* Effect of Choline-Based Deep Eutectic Solvent Pretreatment on the Structure of Cellulose and Lignin in Bagasse. **Processes**. v. 9, n. 2, p. 384, 2021.

LI, H. *et al.* Insights into alkaline choline chloride-based deep eutectic solvents pretreatment for *Populus deltoides*: Lignin structural features and modification mechanism. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 193, p. 319-327, 2021.

LI, G. *et al.* Utilization of deep eutectic solvents in dispersive liquid-liquid microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 120, p. 115-651, 2019.

LIONETTO, F. *et al.* Monitoring Wood Degradation during Weathering by Cellulose Crystallinity. **Materials**. v. 5, p. 1910-1922, 2012.

LIPTAY, G. Thermal analysis from a numerical aspect. **Thermochimica Acta**, v. 150, p. 93-99, 1989.

LIU, J. *et al.* Enhancement of Lignin Extraction of Poplar by Treatment of Deep Eutectic

Solvent with Low Halogen Content. **Polymers**. v. 12, n. 7, p. 1599, 2020.

LIU, Y. *et al.* Degradation of aniline in aqueous solution using non-thermal plasma generated in microbubbles. **Chemical Engineering Journal**. v. 345, p. 679-687, 2018.

LONGO, L. S. J. *et al.* Deep Eutectic Solvents as Unconventional Media for Multicomponent Reactions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 29, n. 10, p. 1999-2025, 2018.

LUZ, S. M. *et al.* Environmental benefits of substituting talc by sugarcane bagasse fibers as reinforcement in polypropylene composites: Ecodesign and LCA as strategy for automotive components. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 54, p. 1135-1144, 2010.

MAZABA, V. A. *et al.* Optimization of lignin extraction by response surface methodology from sugarcane bagasse using deep eutectic solvents (DES). **Industrial Crops and Products**. v. 184, p. 115-040, 2022.

MJALLI, F. S. *et al.* Viscosity model for choline chloride-based deep eutectic solvents. **Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering**. v. 10, p. 273-281, 2015.

MORAIS, P. *et al.* Ecotoxicity of Cholinium-Based Deep Eutectic Solvents. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**. v. 3, p. 3398-3404, 2015.

MORALES, P. *et al.* Optimization and application of FL-HPLC for folates analysis in 20 species of mediterranean wild vegetables. **Food analytical methods**, v. 8, n. 2, p. 302-311, 2015.

MORI, N. R. **Etanol celulósico a partir da palha e do bagaço de cana-de-açúcar: pré-tratamentos e conversão biotecnológica não convencionais.** 2015. Tese (Doutorado em Ciências)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

MULLER, D. *et al.* Integration of Inverse Supercritical Fluid Extraction and Miniaturized Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation for the Rapid Analysis of Nanoparticles in Sunscreens, **Analytical Chemistry**, p. 3189–3195, 2018.

NETO, B. B. *et al.* **Planejamento e Otimização de Experimentos**, 2ed.; Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 1996.

NITSOS, C. K. *et al.* Optimization of Hydrothermal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass in the Bioethanol Production Process. **Chemistry Sustainability**. v. 6, n,1 p. 110-122, 2013.

NYSTEDT, H. L. *et al.* Interactions of natural deep eutectic solvents (NADES) with artificial and natural membranes. **Journal of Molecular Liquids**. v. 328, p. 115-452, 2021.

OLIVEIRA, R. G. M. M. *et al.* Pré-Tratamento Químico e Caracterização do Bagaço da Cana: uma Perspectiva para Produção de Etanol a partir de Resíduos Agroindustriais. **Brazilian Journal of Development**. v. 6, n. 11, p. 87865-87879, 2020.

OWHE, E. O. *et al.* Lignin extraction from residual biomass with deep eutectic solvents: Molecular weight and calorific value. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 32,

n. 7, p. 101-949, 2021.

PAN, M. *et al.* Physicochemical transformation of rice straw after pretreatment with a deep eutectic solvent of choline chloride/urea. **Carbohydrate Polymers**. v. 176, p. 307-314, 2017.

PANDIYAN, K. *et al.* Technological interventions for utilization of crop residues and weedy biomass for second generation bio-ethanol production. **Renewable Energy**. v. 132, p. 723-741, 2019.

PARK, S. Y. *et al.* Fractionation of lignin macromolecules by sequential organic solvents systems and their characterization for further valuable applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 793-802, 2017.

PEREIRA, N. R. L. *et al.* Resíduos Lignocelulósicos da Bananicultura: Uma Revisão Sobre os Processos Químicos de Extração da Celulose. **Revista Virtual de Química**. v. 11, n. 4, p. 1165-1179, 2019.

PHILIPPINI, R. R. *et al.* Pretreatment of Sugarcane Bagasse from Cane Hybrids: Effects on Chemical Composition and 2G Sugars Recovery. **Waste and Biomass Valorization**. v. 10, p. 1561-1570, 2019.

PIN, T. C. *et al.* Structural characterization of sugarcane lignins extracted from different pretreatments with liquid protic ionic. **Renewable Energy**. v. 161, p. 579-592, 2020.

PINHEIRO, F.C. *et al.* Microwave-assisted digestion using dilute nitric acid solution and investigation of calibration strategies for determination of As, Cd, Hg and Pb in dietary supplements using ICP-MS. **Pharm Biomed Anal**, p. 471-478, 2019.

PROCENTESE, A. *et al.* Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent saccharification of corncob. **Bioresource Technology**. v. 192, p. 31-36, 2015.

QUINELATO, C. **Métodos de extração da lignina do bagaço da cana-de-açúcar da região noroeste do Estado de São Paulo**. 2016. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2016.

RADOSEVIC, K. *et al.* Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 112, p. 46-53, 2015.

RAJENDRAN, K. *et al.* Updates on the pretreatment of lignocellulosic feedstocks for bioenergy production – a review. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2017.

RAMESH, R. *et al.* Choline chloride-based deep eutectic solvents for efficient delignification of Bambusa bambos in bio-refinery applications. **Chemical Papers**. v. 74, p. 4533-4545, 2020.

RAWAL, T. B. *et al.* The Relation Between Lignin Sequence and its 3D Structure. **BBA General Subjects**. v. 1864, p. 129-547, 2020. Disponível em: . Acesso em: 23 abr. 2022.

ROCHA, F. R. P. *et al.* **Métodos de Preparo de Amostras Para Análise Elementar**, editora EditSBQ, Sociedade Brasileira de Química, São Paulo, Brasil, 2016.

RODRIGUES, S. J. *et al.* Isolamento e Caracterização de Lignina Acetossolve Extraída do Bagaço de Cana-de-Açúcar. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 4, 2020.

RODRIGUES, M. I. *et al.* **Planejamentos de experimentos e otimização de processos**. 2a ed. Campinas, p. 358, 2009.

SALIBA, E. O. S. *et al.* PILÓ-VELOSO, D. Ligninas – Métodos de Obtenção e Caracterização Química. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 917-928, 2001.

SANTANA, A. P. R. *et al.* Solventes eutéticos naturais profundos (NADES) no preparo de amostras de rocha fosfática e suplemento mineral para determinação elementar por técnicas de plasma. **Química Nova**, v. 44, n. 6, p. 689-695, 2021.

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, L. K. *et al.* Experimental factorial design on hydroesterification of waste cooking oil by subcritical conditions for biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 114, p. 574-580, 2017.

SANTOS, M. L. *et al.* Estudo das condições de estocagem do bagaço de cana-de-açúcar por análise térmica. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 507-511, 2011.

SAVI, L. K. *et al.* Influence of temperature, water content and type of organic acid on the formation, stability and properties of functional natural deep eutectic solvents. **Fluid Phase Equilibria**. v. 488, p. 40-47, 2019.

SHAFIE, M. H. *et al.* Synthesis of citric acid monohydrate-choline chloride based deep eutectic solvents (DES) and characterization of their physicochemical properties. **Journal of Molecular Liquids**. v. 288, p. 081-111, 2019.

SILVA, J. P. N. *et al.* **Noções da Cultura da Cana-de-açúcar**. 1ª ed. Inhumas – Go:IFG, 2012.

SILVERSTEIN, R. M. *et al.* **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5ª Ed. Rio de Janeiro, Edit. Ganabara Koogan S. A., v.110, p. 146-151, 1994.

SKOOG, D. *et al.* **Cromatografia líquida de alta eficiência; In: Fundamentos de química analítica**: 8. ed. p. 924, 2005.

SLUITER, A. *et al.* **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**. Laboratory analytical procedure, v. 1617, n. 1, p. 1-16, 2008b.

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

RODRÍGUEZ, C. B. *et al.* Deep eutectic solvents. In: Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science. [s.l.] **Elsevier**, p. 123–177, 2020.

SOUZA, C. C. *et al.* Previsão de produção de cana-de-açúcar e seus derivados, através de ARIMA, no período de 2020 a 2025, na macrorregião Centro-Sul do Brasil. **Research, Society and Development**. v. 11, n. 4, 2022.

SOUZA, L. B. O. **Pré-tratamento organossolve da biomassa residual de eucalipto utilizando etanol**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias de Biocombustíveis)- Universidade Federal de Uberlândia.

TAN, Y. T. *et al.* Effect of Functional Groups in Acid Constituent of Deep Eutectic Solvent for Extraction of Reactive Lignin. **Bioresource Technology**. v. 281, p.359-366, 2019.

VERÇOSA, F. G. *et al.* Extração de lignina do tegumento de mangas. **Embrapa**. Comunicado técnico 259, 2019.

VIAN, M. *et al.* Green solvents for sample preparation in analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, p. 44-48, 2017.

VIANA, M. B. *et al.* Digestion of crude glycerol: a review. **Environmental Technology Reviews**, v. 1, n. 1, p. 37-41, 2012.

VIEIRA, R.S. *et al.* Adsorption and desorption of binary mixtures of copper and mercury ions on natural and crosslinked chitosan membranes. **Adsorption**, v.13, p. 603-611, 2007.

WANG, R. *et al.* Efficient fractionation of moso bamboo by synergistic hydrothermal-deep eutectic solvents pretreatment. **Bioresource Technology**, n. 328, p. 124-873, 2021.

WANG, Y. Y. *et al.* Recent Advances in the Application of Functionalized Lignin in Value-Added Polymeric Materials. **Polymers**. v. 12, p. 2277, 2020.

XU, Q. *et al.* Characteristics and Applications of Sugar Cane Bagasse Ash Waste in Cementitious Materials. **Materials**. v. 12, n. 39, 2018.

YANG, Z. Natural Deep Eutectic Solvents and Their Applications in Biotechnology. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**. p. 1-29, 2018.

ZAHRINA, I. *et al.* Deacidification of palm oil using betaine monohydrate-based natural deep eutectic solvents. **Food Chemistry**, v. 240, p. 490–495, 2018.

ZBIGNIEW, D. J. **Viscosity: the nature and properties of engineering materials**. 3.ed. Lafayette College, John Wiley & Sons, p. 226-241,1997.

ZHANG, W. *et al.* Acetyl-assisted autohydrolysis of sugarcane bagasse for the production of xylo-oligosaccharides without additional chemicals. **Bioresource Technology**, 2018.

ZHANG, Y. *et al.* Fungus-Modified Lignin and Its Use in Wood Adhesive for Manufacturing Wood Composites. **Forest Products Journal**, v. 65, p. 43-47, 2015.