


Solvente Eutético Profundo à Base de Cloreto de Colina para Deslignificação do Bagaço de Cana-de-Açúcar

Deep Eutectic Solvent Based on Choline Chloride for Delignification of Sugarcane Bagasse

Vanessa F. França,^a Willyan A. Costa,^a Layanny S. S. Souza,^a Laís C. Lima,^a Vitor T. Ribeiro,^b Everaldo S. Santos,^b Cláudia O. Cunha,^a Liliana F. B. L. Pontes,^a Claudio Gabriel L. Junior^{a,*} 

^aUniversidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Departamento de Química, CEP 58051-900, João Pessoa-PB, Brasil

^bUniversidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, CEP 59078-970, Natal-RN, Brasil

*E-mail: claudio@quimica.ufpb.br

Submissão: 29 de Outubro de 2025

Aceite: 6 de Janeiro de 2026

Publicado online: 15 de Janeiro de 2026

Lignocellulosic ethanol (or second-generation ethanol) presents a viable alternative to fossil fuels, addressing global energy demands. However, the removal of lignin from biomass (raw material) before bioconversion remains a significant challenge in this biorefinery process. Deep eutectic solvents (DESs) offer a promising solution for the pretreatment of such renewable sources. This work aims to evaluate and optimize the use of choline chloride-urea DESs (ChU) for the steam-pressurized delignification of sugarcane bagasse. Preliminary investigations showed that ChU yielded the most promising results among the various agents tested. To optimize delignification, an experimental design was employed, focusing on three independent variables: the volume of extractant solvent, water addition to the DESs, and extraction time. Under optimized conditions, a significant reduction in the lignin content of the final material was achieved (58.38%). Such conditions comprised a 1:10 biomass-solvent ratio, water addition of 6% (w w⁻¹) to the ChU solvent, and an extraction time of 2 hours at 120 °C. The results of this study are noteworthy both economically and environmentally, particularly when compared to recent studies in the biorefinery field, offering new perspectives for future research.

Keywords: Lignocellulosic biomass; green solvents; DES; green delignification; lignin; steam-pressurized conditions; biorefinery.

1. Introdução

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de bagaço de cana-de-açúcar, gerando aproximadamente 610 milhões de toneladas dessa biomassa entre 2022 e 2023.¹ Particularmente na região Nordeste do país, diversas usinas utilizam a cana-de-açúcar como principal matéria-prima, o que proporciona um cenário viável para estudos regionais nesse campo. Além disso, a utilização e a valorização desse material lignocelulósico em escala global são impulsionadas por diversos fatores significativos, incluindo a crescente ênfase na proteção ambiental e as preocupações relacionadas ao esgotamento dos combustíveis fósseis.²

Os principais subprodutos do processamento industrial da cana-de-açúcar incluem o bagaço e a palha. O bagaço, em especial, pode ser considerado uma biomassa lignocelulósica que, ao mesmo tempo, pode afetar o equilíbrio ambiental e servir como um recurso valioso, quando devidamente aproveitado por meio de tecnologias adequadas. Consequentemente, é possível reintegrar o bagaço ao ciclo de processamento industrial, em consonância com os princípios da economia circular.³

No que se refere à sua estrutura química, a biomassa lignocelulósica é composta principalmente por três polímeros estruturais: lignina, celulose e hemicelulose. O reaproveitamento desses constituintes possui grande relevância para as indústrias químicas, uma vez que podem ser empregados na produção de novos combustíveis, materiais, produtos alimentícios e fármacos.⁴

A lignina, um heteropolímero, encontra-se intimamente associada à celulose e à hemicelulose por meio de ligações covalentes e de hidrogênio, o que exige processos de pré-tratamento capazes de fracionar esses componentes.⁵ Notadamente, essas cadeias biopoliméricas caracterizam-se por sua natureza fracionada e pela limitada solubilidade em solventes orgânicos convencionais.⁶⁻⁷ Portanto, o bagaço de cana-de-açúcar deve ser submetido a pré-tratamentos químicos ou físicos para remover a lignina, expor a celulose e aumentar sua adequação às etapas subsequentes de hidrólise enzimática e fermentação para a produção de etanol de segunda geração.⁸⁻¹⁰

Os métodos de pré-tratamento voltados para a remoção das frações lignocelulósicas demonstraram que abordagens que envolvem processos pressurizados alcançam maiores rendimentos de deslignificação em comparação com outras estratégias. Isso ocorre principalmente devido ao aprimoramento dos fenômenos de transferência de massa sob essas condições termoquímicas. Além disso, esses processos promovem desorganização estrutural da biomassa, reduzindo assim o tempo operacional necessário.¹¹⁻¹³

Um avanço recente em estratégias sustentáveis de deslignificação é o uso de Solventes Eutéticos Profundos (DESS) como alternativas aos solventes orgânicos tradicionais e/ou ácidos e bases inorgânicos concentrados.¹⁴⁻¹⁶

Segundo Abbott *et al.*,¹⁷ os DESS são formados pela combinação de uma espécie doadora de ligação de hidrogênio (HBD) e pelo menos um aceptor de ligação de hidrogênio (HBA). Essa classe de solventes, a depender dos componentes, é considerada biodegradável, sustentável e aplicável em diversas áreas, configurando-se como substitutos promissores para agentes químicos convencionais.¹⁸⁻²⁰

Diante do potencial de aprimoramento da extração da lignina por meio da combinação do pré-tratamento com DESS e das condições de extração pressurizada, o objetivo deste estudo é avaliar o uso de DESS para a remoção de lignina do bagaço de cana-de-açúcar em condições pressurizadas. Além disso, esta pesquisa também buscou desenvolver um procedimento de deslignificação otimizado que atenda tanto às demandas industriais quanto ambientais.

2. Materiais e Métodos

2.1. Reagentes

Os principais reagentes utilizados neste estudo foram cloreto de colina (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA; $\geq 98\%$ de pureza), ácido láctico (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil; $\geq 85-90\%$ de pureza), glicerol (Cremoline, São Paulo, Brasil; $\geq 99,5\%$ de pureza), ureia (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA; $\geq 98\%$) e ácido sulfúrico (Proquímicos, Pato Branco, Brasil; $\geq 98,08\%$ de pureza). Os demais reagentes foram obtidos em grau analítico.

2.2. Preparação dos Solventes Eutéticos Profundos (DESS)

A preparação dos DESS foi realizada de acordo com o método descrito por Abbott *et al.*,¹⁷ que consiste na

mistura direta de um aceptor de ligação de hidrogênio, o cloreto de colina (Ch), com diferentes doadores de ligação de hidrogênio, a saber: ácido láctico (La), ureia (U) e glicerol (Gy). Cada sistema foi submetido a aquecimento sob temperatura de a 80 °C por 2 horas em banho térmico (USC-1800A, UNIQUE, Brasil) e em seguida à agitação em vortex (G506E, SCIENTIFIC INDUSTRIES, EUA) até que apresentasse um aspecto translúcido. As razões molares escolhidas foram baseadas na literatura atual e estão apresentadas na Tabela 1.²¹⁻²³

2.3. Coleta, preparação e caracterização físico-química do bagaço de Cana-de-Açúcar

2.3.1. Coleta e preparação

O bagaço de cana-de-açúcar foi obtido da variedade RB855156 e coletado na Usina Agroindustrial Japungu, localizada no município de Santa Rita, estado da Paraíba, Brasil. O material foi recolhido após a extração do caldo da cana e, em seguida, submetido a processos de higienização e moagem utilizando moinho de facas. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa de circulação de ar (SP 102, SPLABOR, Brasil) a $45,0 \pm 0,1$ °C durante 6 dias. Após a secagem, o material foi triturado em moinho de facas e, em seguida, classificado quanto ao tamanho de partícula por meio de peneira de 14 mesh.

2.3.2. Caracterização térmica

A estrutura lignocelulósica das amostras de bagaço de cana-de-açúcar foi avaliada, antes e após cada tratamento, por meio da análise dos perfis térmicos utilizando análise termogravimétrica (TG) em um analisador térmico (DTG-60, SHIMADZU, Japão). Aproximadamente 8,0 mg de cada amostra foi utilizada em cada análise, sendo as condições operacionais: taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} , em atmosfera inerte de nitrogênio com vazão de 50 mL min^{-1} , e faixa de temperatura de 30 a 600 °C.

2.3.3. Caracterização estrutural das amostras de biomassa por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras de bagaço de cana-de-açúcar, antes e após cada tratamento, foram submetidas à caracterização estrutural por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), utilizando um espectrofotômetro (IRPrestige-21, SHIMADZU, Japão) com a técnica de refletância total atenuada (ATR). Todas as análises foram

Tabela 1. Composições dos Solventes Eutéticos Profundos (DESS)

Abreviação DES's	Doador de Ligação de Hidrogênio (HBD)	Aceitador de Ligação de Hidrogênio (HBA)	Razão Molar (mol mol ⁻¹)
ChLa	Cloreto de Colina	Ácido láctico	1:1
ChU	Cloreto de Colina	Ureia	1:2
ChGy	Cloreto de Colina	Glicerol	1:1

realizadas com pastilhas de KBr, na faixa espectral do infravermelho de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

2.3.4. Caracterização estrutural das amostras de biomassa por Difractometria de Raios X

Os difratogramas de raios X das amostras de biomassa lignocelulósica, foram obtidos em um difratômetro (X/XRD – 6000, SHIMADZU, Japão), operando com potência de 2 kVa, tensão de 30 kV e corrente de 30 mA. Os parâmetros operacionais incluíram um intervalo de 2θ de 10 a 90°, com passo de 0,02° e taxa de varredura de 1° min^{-1} . Os índices de cristalinidade (CrI) foram determinados conforme a Equação 1, em que “CrI (%)” representa a porcentagem de cristalinidade; “I₀₀₂” corresponde à intensidade do pico no plano cristalográfico 002 ($2\theta \sim 22,6^\circ$); e “I_{am}” corresponde à intensidade do vale entre os planos cristalográficos 002 e 001 ($2\theta \sim 17,5^\circ$).

$$\text{CrI}(\%) = \frac{(I_{002} - I_{am}) \times 100\%}{I_{002}} \quad (1)$$

2.3.5. Caracterização lignocelulósica das amostras de bagaço de Cana-de-Açúcar

A caracterização lignocelulósica das amostras de bagaço de cana-de-açúcar, foi realizada de acordo com o protocolo do NREL (National Renewable Energy Laboratory) (510-42618)²⁴ e reportado por Ribeiro *et al.*²⁵ O método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) empregado nessa etapa de caracterização foi conduzido a partir da injeção do licor hidrolisado em um equipamento Acela – Thermo Scientific, utilizando uma coluna Shim-Pack (SRC-101H, SHIMADZU, Japão), mantida a 65 °C. As amostras (20,0 μL) foram filtradas em membranas hidrofílicas de polietersulfona (PES) de 0,22 μm . Ácido sulfúrico (5,0 mmol L^{-1}) foi utilizado como fase móvel, com vazão de 0,6 mL min^{-1} , conforme descrito por da Costa Nogueira *et al.*¹²

2.4. Avaliação da capacidade de deslignificação dos DESs investigados

Como investigação preliminar, avaliou-se a capacidade de extração de lignina empregando três DESs sintetizados (ChLa, ChGy e ChU). Nessa etapa, 0,3 g de bagaço de cana-de-açúcar in natura foi colocado em diferentes frascos de vidro e misturado com 3 mL de cada DES, resultando em uma razão solvente-biomassa de 1:10 (m v^{-1}). Os sistemas foram então vedados com tampas de algodão e submetidos a autoclavação (CSA, PRISMATEC, Brasil) para o procedimento de extração a 120 °C e 1 kgf cm^{-2} por 1 hora, representando as condições máximas dentro dos limites de segurança do equipamento. Posteriormente, a fração sólida obtida foi separada por filtração simples e seca a 105 °C por 24 horas em estufa de circulação de ar (SP 102, SPLABOR, Brasil). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Para fins comparativos, realizou-se um tratamento hidrotérmico sob as mesmas condições, utilizando água destilada como agente de deslignificação.

2.5. Otimização estatística do processo de extração de lignina

Com base nos testes preliminares apresentados na Seção 2.4, o DES ChU foi selecionado para a etapa subsequente de otimização estatística devido ao seu melhor desempenho na deslignificação. Para tal, empregou-se um planejamento fatorial (2^3) com três repetições no ponto central. As variáveis independentes (fatores) escolhidas para a otimização foram: volume do solvente extrator (mL), tempo de extração (h) e porcentagem de água adicionada ao sistema DES. A remoção de lignina de Klason (RL) foi calculada por meio da Equação 2. A Tabela 2 apresenta as variáveis reais e codificadas utilizadas na otimização.

$$LR(\%) = \left(1 - \frac{\text{Lignin Final Content (g)}}{\text{Lignin Initial Content (g)}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

Tabela 2. Matriz experimental do delineamento fatorial fracionário realizado (2^3 com três pontos centrais adicionados)

Experimentos	Volume DES (V) (mL)	Adição de Água no DES (A) (%)	Tempo de Extração (T) (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)

2.6. Análise estatística dos dados

Os resultados do planejamento experimental, incluindo a ANOVA, foram analisados estatisticamente ao nível de confiança de 95%, utilizando o software STATISTICA® (Versão 7). Os dados são apresentados como médias \pm desvios-padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização do bagaço de Cana-de-Açúcar e pré-tratamento preliminar com DESs

A Tabela 3 apresenta a composição lignocelulósica do bagaço de cana-de-açúcar não tratado, que inicialmente apresentou $36,38 \pm 0,69\%$ de celulose, $18,89 \pm 2,15\%$ de hemicelulose e $23,16 \pm 2,09\%$ de lignina. Esses resultados estão de acordo com os relatados por Alokika *et al.*,²⁶ e Kumar *et al.*,²⁷ que obtiveram valores semelhantes para o mesmo biomaterial.

Após a realização do pré-tratamento com os DESs, observou-se uma variação significativa na estrutura polimérica da biomassa. O tratamento com ChU promoveu uma remoção significativa de lignina de Klason (55,05%) em relação a quantidade inicial, reduzindo a lignina de $23,16 \pm 2,09\%$ para $10,41 \pm 2,48\%$. Os tratamentos com ChGy e ChLa alcançaram extrações de lignina de aproximadamente 2,30% e 57,57%, respectivamente, enquanto o tratamento hidrotérmico removeu cerca de 25,25% do biopolímero.

Os resultados apresentados indicam que o pré-tratamento hidrotérmico da biomassa reduziu significativamente o conteúdo de hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar, alcançando uma taxa de remoção de aproximadamente 59,50% em relação ao material não tratado. Apesar de sua elevada extração de lignina, o tratamento com ChLa também removeu uma quantidade considerável de hemicelulose (cerca de 74,54% em relação ao conteúdo inicial do material não tratado).

Esses resultados estão de acordo com a literatura, que sugere que estratégias de pré-tratamento hidrotérmico são mais eficientes na remoção da fração de hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar do que na sua deslignificação.²⁸⁻²⁹

Outra observação relevante é que o pré-tratamento com ChLa apresentou maior capacidade de solubilização de lignina, além de sua habilidade em remover hemicelulose. Essa observação corrobora com os resultados obtidos por Gan *et al.*,³⁰ que relataram que o pré-tratamento assistido por micro-ondas usando cloreto de colina-ácido láctico no bagaço de cana-de-açúcar promoveu dissolução significativa tanto de lignina quanto de hemicelulose (88,3% e 84,1%, respectivamente). Esse efeito deve-se principalmente ao fato de que o ácido láctico (doador de ligação de hidrogênio do DES) é um ácido de intensidade média, capaz não apenas de romper as ligações éter β -O-4 na lignina, mas também de desestabilizar ligações glicosídicas na estrutura da hemicelulose.

Esses resultados também destacam o tratamento com ChU como a estratégia mais seletiva para extração de lignina entre todas as alternativas investigadas. Essa seletividade pode ser atribuída ao fato de que os componentes estruturais da lignina, principalmente os compostos fenólicos, apresentam maior solubilidade em soluções alcalinas. Uma das características da mistura eutética ChU é sua natureza levemente alcalina,³¹ permitindo que o solvente molecular dissolva seletivamente a lignina ao desprotonar os grupos hidroxila presentes na estrutura polimérica fenólica da lignina. Conseqüentemente, o bagaço de cana-de-açúcar torna-se rico em celulose ($27,24 \pm 2,75\%$) e hemicelulose ($12,46 \pm 1,24\%$) após o pré-tratamento preliminar com ChU. A extração seletiva de lignina pelo DES ChU também foi relatada por Varilla-Mazaba *et al.*,³² que destacaram que DESs ácidos tendem a remover outras estruturas poliméricas durante o pré-tratamento.

A estrutura polimérica das amostras de bagaço de cana-de-açúcar, tanto antes quanto após o pré-tratamento, pode ser analisada por meio de seus perfis termogravimétricos (TG) (Figura 1 (a)) e perfis termogravimétricos derivados (DTG) (Figura 1 (b)). Tanto as amostras não tratadas quanto as pré-tratadas exibem perda de massa entre 30 e 100 °C, correspondente à etapa de desidratação do material. Notavelmente, o bagaço pré-tratado com o solvente ChGy apresentou degradação térmica significativa a partir de cerca de 180 °C, enquanto a degradação ocorreu próxima de 240 °C para as amostras pré-tratadas com ChU e ChLa, indicando particularidades estruturais após os pré-tratamentos com os solventes mencionados.

Tabela 3. Caracterização lignocelulósica -do bagaço de cana-de-açúcar e índice de cristalinidade (CrI) antes e após cada pré-tratamento investigado

Constituinte	Pré-Tratamentos				
	Não Tratado (a)	ChLa (b)	ChGy (c)	ChU (d)	Hidrotérmico (e)
Celulose (%)	$36,38 \pm 0,69^{b,c,d,e}$	$31,01 \pm 3,02^{a,d}$	$31,20 \pm 2,82^a$	$27,24 \pm 2,75^{a,b}$	$30,89 \pm 0,29^{a,b,d}$
Hemicelulose (%)	$18,89 \pm 2,15^{b,c,d,e}$	$4,80 \pm 0,91^{a,c,d,e}$	$10,50 \pm 1,07^{a,b,e}$	$12,46 \pm 1,24^{a,b,e}$	$7,65 \pm 0,13^{a,b,c,d}$
Lignina (%) ^(*)	$23,16 \pm 2,09^{b,d,e}$	$9,83 \pm 0,13^{a,c,e}$	$22,62 \pm 0,22^{b,d,e}$	$10,41 \pm 2,48^{a,c,e}$	$29,09 \pm 0,51^{a,b,c,d}$
CrI (%)	35,53	40,16	42,02	50,87	44,06

Letras diferentes (a, b, c, d e e) indicam valores significativamente distintos ($p < 0,05$) entre os pré-tratamentos (colunas). (*) O conteúdo de lignina refere-se à fração de lignina de Klason. Nota: ChLa (Cloreto de Colina- Ácido láctico); ChGy (Cloreto de Colina- Glicerol); ChU (Cloreto de Colina- Ureia)

É relevante destacar que a degradação térmica da fração lignocelulósica da biomassa ocorre tipicamente entre 200 e 500 °C.³³ Segundo Athira *et al.*,³⁴ a degradação térmica observada entre 50 e 100 °C deve-se à presença de umidade nas amostras de bagaço de cana-de-açúcar. Além disso, os outros principais picos observados nas curvas DTG (Figura 1 (b)), entre 350 e 400 °C, estão correlacionados à decomposição do carbono fixo presente em cada material analisado. Interessantemente, essa faixa de temperatura coincide com as maiores diferenças observadas nos perfis térmicos discutidos, reforçando as modificações estruturais distintas promovidas pelos pré-tratamentos com DESs.

Em relação às alterações estruturais nas amostras de bagaço de cana-de-açúcar após o pré-tratamento com DESs, a Figura 2 compara seus espectros FTIR com os do biomaterial não tratado. Segundo Pathak *et al.*,³⁵ a ampla banda em 3375 cm⁻¹ corresponde à deformação axial do grupo hidroxila (-OH) e está associada às interações intermoleculares entre os polímeros estruturais. Além disso,

as bandas espectrais entre 2895 e 2879 cm⁻¹, presentes em todos os espectros, correspondem às vibrações das ligações C-H de hidrocarbonetos alifáticos e saturados presentes na biomassa.³⁶

É importante destacar que todas as biomassas não tratadas, pré-tratadas com ChLa e submetidas ao sistema água (hidrotérmico) apresentaram uma banda espectral característica significativa entre 1722 e 1714 cm⁻¹, correlacionada às vibrações do grupo carbonila (C=O) de ésteres na estrutura polimérica da hemicelulose.³⁶⁻³⁷ Essa observação pode ser explicada pela ação do pré-tratamento na dissolução da fração de hemicelulose, levando a uma maior exposição dos grupos funcionais estruturais. Especificamente para a amostra pré-tratada com ChU, foram observadas vibrações associadas ao esqueleto aromático (C=C) influenciadas por grupos carbonila da lignina em 1599 cm⁻¹, provavelmente devido à dissolução alcalina suave da lignina pelo contato com o DES.

Todas as amostras apresentaram bandas espectrais entre

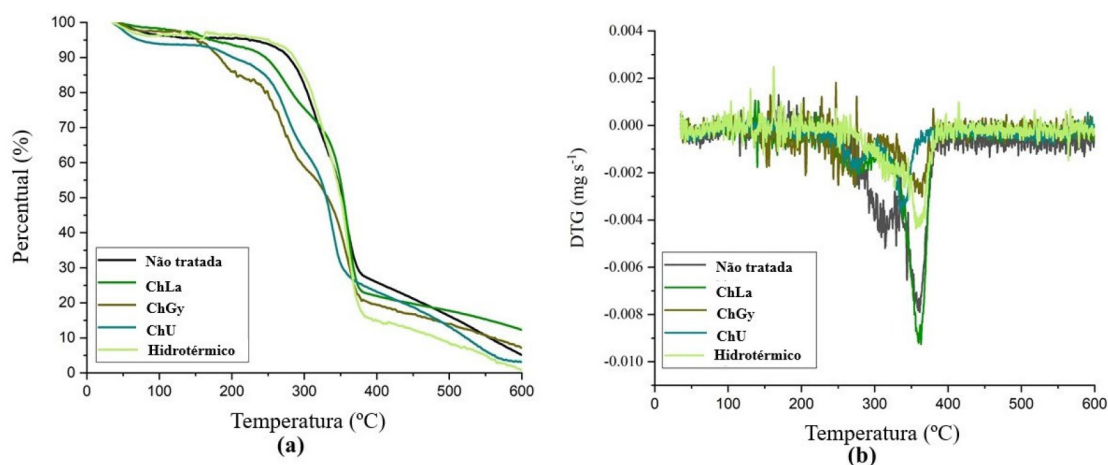


Figura 1. Perfis termogravimétricos (TG) (a) e suas curvas derivadas (DTG) (b) das amostras de bagaço de cana-de-açúcar antes e após os pré-tratamentos estudados. Nota: ChLa (Cloreto de Colina- Ácido láctico); ChGy (Cloreto de Colina- Glicerol); ChU (Cloreto de Colina- Ureia)

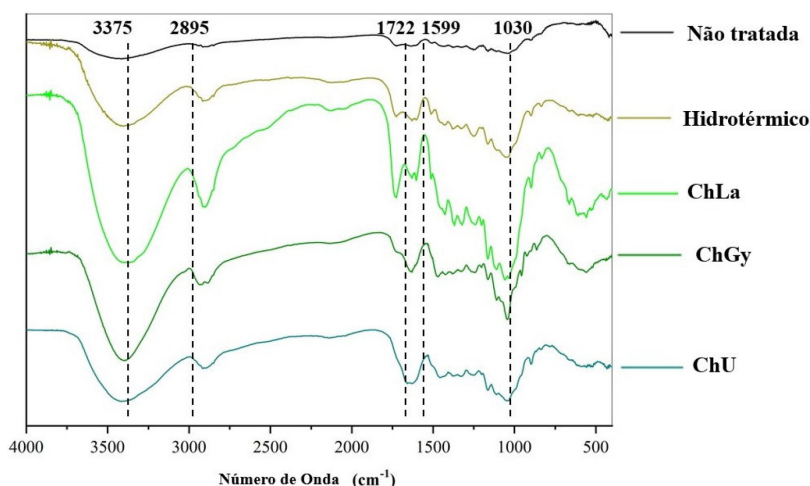


Figura 2. Espectros FTIR das amostras de bagaço de cana-de-açúcar antes e após cada pré-tratamento investigado. Nota: ChLa (Cloreto de Colina- Ácido láctico); ChGy (Cloreto de Colina- Glicerol); ChU (Cloreto de Colina- Ureia)

1030-1035 cm^{-1} , correspondentes às ligações C-O-C da celulose. Os picos nos espectros das biomassas pré-tratadas com DESs e apenas água (hidrotérmico) foram mais intensos em comparação com os das amostras não tratadas, indicando a despolimerização do bagaço pré-tratado, tornando a estrutura da celulose mais exposta.³⁶

Em relação ao índice de cristalinidade (CrI) das amostras após os pré-tratamentos químicos, todas as biomassas tratadas exibiram aumento da cristalinidade, conforme indicado pelos maiores valores de CrI do material lignocelulósico (Tabela 3). Esse aumento pode ser atribuído à remoção de componentes amorfos, como a lignina, durante o processo de pré-tratamento.^{12,38} O maior CrI observado para a biomassa pré-tratada com ChU (58,87%) confirma também sua extração seletiva de lignina, em contraste com os demais tratamentos investigados, que não alcançaram um resultado tão pronunciado. O solvente ChLa, por exemplo, aumentou o CrI do material em aproximadamente 13% (de 35,53 para 40,16%). Esse aumento moderado pode ser explicado pela desorganização simultânea da hemicelulose e da celulose após esse pré-tratamento, que compensou o efeito sobre a cristalinidade final devido à extração de lignina amorfa. Os pré-tratamentos com ChGy e hidrotérmico resultaram em efeitos semelhantes sobre a cristalinidade final do material.

O aumento da cristalinidade do material, por meio da remoção de lignina recalcitrante e amorfa, é um resultado desejável em qualquer estratégia de pré-tratamento. Esse aumento está associado à maior exposição das estruturas de celulose, facilitando rendimentos superiores na sacarificação e fermentação nas etapas subsequentes da produção de etanol de segunda geração. Além disso, a preservação das estruturas de celulose e hemicelulose permite sua utilização em outros setores de biorrefinaria para obtenção de produtos alternativos.^{2,12,39,40}

Os difratogramas de raios X das amostras não tratadas e pré-tratadas são mostrados na Figura 3.

Considerando que o solvente ChU apresentou melhor desempenho na redução de lignina entre os demais DESs avaliados³¹ neste estudo, ele foi selecionado para o estabelecimento de um método sustentável de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica. A fase subsequente da pesquisa focou na otimização estatística do processo de extração.

3.2. Otimização estatística da extração de lignina assistida por DES sob vapor pressurizado

A otimização do processo de extração de lignina assistida por DES sob vapor pressurizado envolveu a seleção das variáveis independentes, que incluíram: o volume do solvente (V), que afeta a razão sólido-líquido; o tempo de extração (T); e a quantidade de água adicionada ao DES (ChU) antes de seu uso como extratante (A). A variável resposta (dependente) foi a recuperação de lignina (RL), conforme apresentado na Tabela 4.

A análise estatística indicou que as variáveis mais significativas ($p < 0,05$) que influenciam a LR foram o tempo de extração e sua interação com a adição de água ao solvente molecular ChU. Em contraste, o volume do solvente utilizado não apresentou influência significativa no processo ($p > 0,05$). A explicação para esses resultados é que maior tempo de extração significa aumento do tempo de contato entre o agente extrator (DES) e a fase sólida (bagaço de cana-de-açúcar). Esses achados são claramente ilustrados no diagrama de Pareto apresentado na Figura 4(a).

O efeito de interação entre o tempo de extração e a adição de água ao ChU é influenciado pela alta viscosidade dos DESs.³¹ Segundo a literatura atual, a adição de água pode reduzir a resistência ao escoamento dos DESs

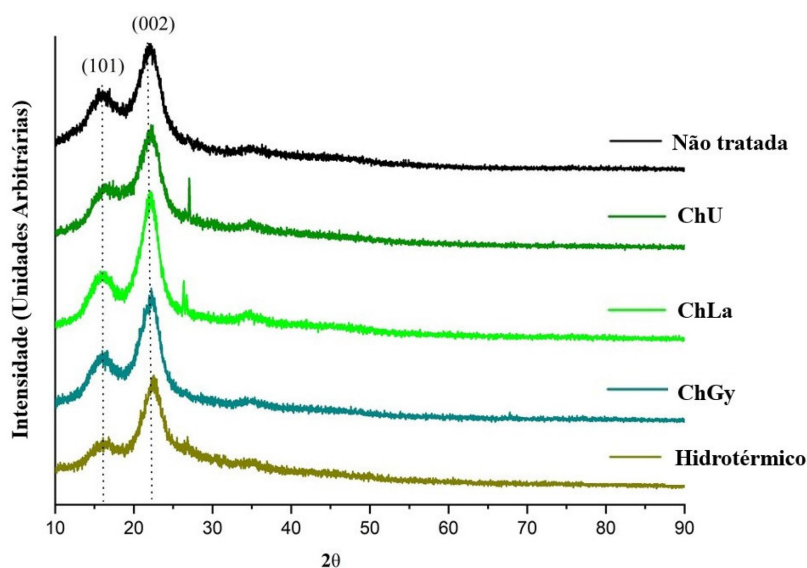


Figura 3. Difratogramas de DRX das amostras de bagaço de cana-de-açúcar antes e após cada pré-tratamento investigado. Nota: ChLa (Cloreto de Colina- Ácido láctico); ChGy (Cloreto de Colina- Glicerol); ChU (Cloreto de Colina- Ureia)

Tabela 4. Matriz experimental do delineamento fatorial fracionário realizado: ensaios e respostas

Experimentos	Volume DES (V) (mL)	Adição de Água no DES (A) (%)	Tempo de Extração (T) (h)	Recuperação de Lignina (%)
1	(-1)	(-1)	(-1)	26,22
2	(+1)	(-1)	(-1)	25,49
3	(-1)	(+1)	(-1)	19,91
4	(+1)	(+1)	(-1)	21,36
5	(-1)	(-1)	(+1)	39,78
6	(+1)	(-1)	(+1)	34,81
7	(-1)	(+1)	(+1)	58,38
8	(+1)	(+1)	(+1)	39,54
9	(0)	(0)	(0)	33,66
10	(0)	(0)	(0)	30,27
11	(0)	(0)	(0)	34,42

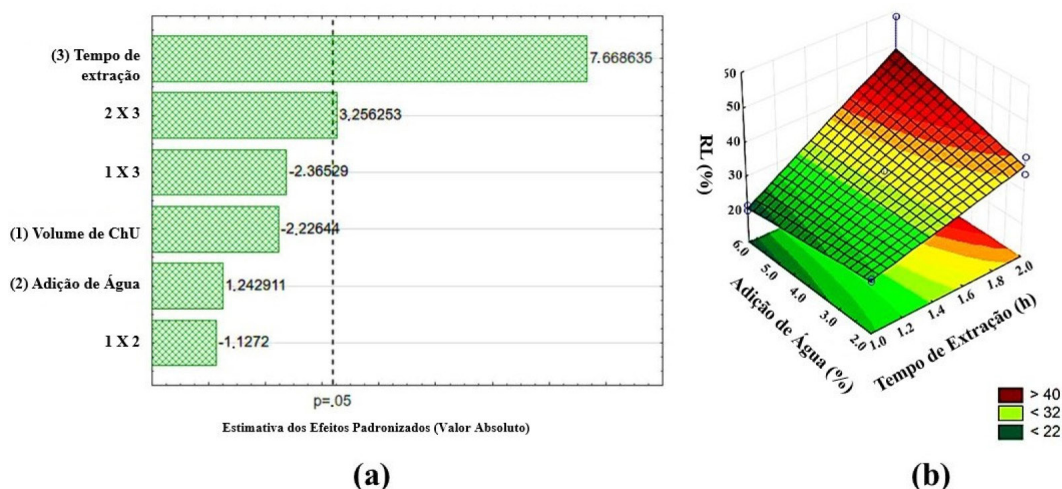


Figura 4. Diagrama de Pareto (a) e Superfície de Resposta (b) obtidos a partir do planejamento fatorial experimental (2³). Nota: na Figura 4(b), a variável “volume de ChU” foi fixada em seu valor intermediário. Nota: ChU (Cloreto de Colina- Ureia)

por meio da formação de ligações de hidrogênio entre seus precursores e as moléculas de água. Entretanto, a adição excessiva de H₂O pode comprometer a estrutura dos DESs, levando à formação de uma solução aquosa contendo seus constituintes HBA e HBD.⁴¹⁻⁴² Essa redução na viscosidade dos DESs também diminui a espessura da camada limite de transferência de massa, melhorando, assim, a extração de lignina. Esse efeito foi relatado em estudos que investigaram o uso de um DES à base de ácido p-toluenossulfônico para a designificação de amostras de resíduos de casca de arroz.⁴³

Apesar disso, o uso de DESs puros em escala industrial ainda representa um desafio, principalmente em relação à energia necessária para bombeá-los através das tubulações dos equipamentos. Portanto, regular sua viscosidade é essencial. Além disso, o uso de água para mitigar a viscosidade não apenas atende a preocupações econômicas, mas também se alinha aos princípios da química verde e da sustentabilidade.

O modelo estatístico que descreve a relação entre LR e as variáveis independentes é apresentado na Equação 3.

$$\text{RL}(\%) = 32,94 (\pm 1,16) - 2,87 (\pm 1,30) \text{V} + 1,61 (\pm 1,30) \text{A} + 9,94 (\pm 1,30) \text{T} - 1,46 (\pm 1,30) \text{V A} - 3,07 (\pm 1,29) \text{V T} + 4,22 (\pm 1,29) \text{A T} \quad (3)$$

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar a relevância estatística do modelo representado pela Equação 3, e os resultados são apresentados na Tabela 5. O modelo apresenta um elevado coeficiente de correlação ($R^2 = 0,97$), indicando que é capaz de explicar aproximadamente 97% dos resultados possíveis obtidos por meio dele. O teste F para a regressão revela que a equação matemática descrita na Equação 3 é estatisticamente significativa (teste $F > 1$, em relação à soma dos quadrados da regressão e dos resíduos) e preditiva (teste $F < 1$, em relação à falta de ajuste e à soma dos quadrados do erro puro).

Tabela 5. Tabela de análise de variância (ANOVA)

Fonte	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F _{Test}
Regressão	1112,89	6	185,48	4,63
Resíduo	40,35	3	4,48	*
Falta de ajuste	34,59	2	17,30	0,015
Erro puro	5,75	1	5,75	*
Total	1153,23	9	*	*

F_{0,95(6,3)} = 8,94; F_{0,95(2,1)} = 199,50; R² = 0,97.

A representação gráfica (superfície de resposta) da Equação 3 é apresentada na Figura 4(b), a qual mostra o comportamento da LR em função da adição de água e do tempo de extração. A análise dessa superfície de resposta, combinada com a análise estatística discutida anteriormente, sugere que o rendimento máximo de extração de lignina (56,13%) pode ser alcançado utilizando as seguintes condições para o pré-tratamento de 0,3 g de bagaço de cana-de-açúcar: 3 mL do solvente extrator (ChU) e 6% de adição de água ao DES antes de seu uso no processo de extração com duração de 2 horas. Esse resultado está bastante próximo ao obtido no experimento 7 (58,38%) (Tabela 4).

O estudo de Varilla-Mazaba *et al.*,³² investigou a otimização estatística de um procedimento de extração de lignina não pressurizado a partir da mesma matriz amostral estudada aqui e utilizando o mesmo DES (ChU) como agente extrator. Sob suas condições otimizadas, alcançadas a 160 °C e 14,04 h, aproximadamente 82% do teor total de lignina foi removido, representando uma taxa de remoção de 0,097% por minuto. Em contraste, nossas condições otimizadas alcançaram uma taxa de remoção de 0,5% por minuto, evidenciando a eficiência econômica do nosso processo de extração, atribuída à aplicação de uma estratégia pressurizada a vapor em etapa única. Outro ponto relevante é o fato de que os autores mencionados realizaram um pré-tratamento químico ácido antes da etapa de remoção da lignina, o que não ocorreu em nosso estudo.

Essa diferença é ainda corroborada por resultados de pesquisa complementar ao presente estudo,¹² os quais demonstraram que a combinação de pré-tratamentos com solventes eutéticos profundos e ácidos diluídos pode possibilitar o fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar, resultando em um material rico em celulose.

Também é importante destacar que as indústrias de processamento da cana-de-açúcar tipicamente produzem vapor excedente em suas caldeiras, o qual é utilizado para suprir suas demandas energéticas. Esse vapor excedente também poderia ser aplicado na etapa de pré-tratamento, reforçando a viabilidade logística dos resultados aqui apresentados.³⁶

4. Conclusão

Este estudo demonstra que diferentes grupos funcionais

nas espécies doadoras de ligações de hidrogênio impactam significativamente a capacidade dos DESs em deslignificar a biomassa, sendo o perfil ácido-base um fator crucial para uma extração de lignina mais seletiva. O uso de uma ferramenta quimiométrica, o planejamento fatorial, possibilitou a otimização necessária para estabelecer um processo de pré-tratamento sustentável e eficiente sob condições de vapor pressurizado para a recuperação da lignina. O procedimento de extração desenvolvido se destaca entre aqueles reportados na literatura, pois atende tanto às demandas industriais quanto ambientais, apresentando uma alternativa viável para o setor de biorrefinarias. Investigações futuras se concentrarão na reciclagem do solvente ChU dentro do processo global e na adição de novas etapas sequenciais de pré-tratamento para o fracionamento total do bagaço de cana-de-açúcar.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro por meio de bolsas. Agradecem também ao Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica e Quimiometria (LAQA) e ao Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba, bem como ao Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pelo suporte técnico em instrumentação. Adicionalmente, o grupo de pesquisa é grato pela participação no Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciências Moleculares (INCT-CiMol), financiado pelo CNPq (Processo 406804/2022-2).

Contribuições dos Autores

Vanessa Freire França: pesquisa, curadoria de dados, redação do rascunho original.

Willyan Araújo da Costa: pesquisa, curadoria de dados, redação do rascunho original.

Layanny Samara da Silva Souza: pesquisa, curadoria de dados, redação do rascunho original.

Laís Chantelle Lima: software, curadoria dos dados.

Vitor Troccoli Ribeiro: curadoria de dados, software.
 Claudio Gabriel Lima Junior: Redação-revisão e edição.
 Claudia Oliveira Cunha: Redação-revisão e edição.
 Everaldo Silvino dos Santos: Redação-revisão e edição.
 Liliana Fátima Bezerra Lira Pontes: curadoria dos dados,
 Redação-revisão e edição.

Referências Bibliográficas

- Pérez, N. P.; Travieso, J. A. R.; Shelton, E. D. E.; Pedroso, D. T.; Machin, E. B.; Tuna, C. S.; Silveira, J. L.; Unlocking the potential of sugarcane bagasse: a comprehensive analysis for advanced energy conversion. *Bioresources and Bioprocessing* **2025**, *12*, 18. [Crossref]
- Patel, M.; Zhang, X.; Kumar, A.; Techno-economic and life cycle assessment on lignocellulosic biomass thermochemical conversion technologies: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2016**, *53*, 1486. [Crossref]
- Sarker, T. C.; Azam, S. M. G. G.; Bonanomi, G.; Recent Advances in Sugarcane Industry Solid By-Products Valorization. *Waste and Biomass Valorization* **2017**, *8*, 241. [Crossref]
- Velvizhi, G.; Balakumar, K.; Shetti, N. P.; Ahmad, E.; Kishore P. K.; Aminabhavi, T. M.; Integrated biorefinery processes for conversion of lignocellulosic biomass to value added materials: Paving a path towards circular economy. *Bioresource Technology* **2022**, *343*, 126151. [Crossref]
- Kumar, B.; Bhardwaj, N.; Agrawal, K.; Chaturvedi, V.; Verma, P.; Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: An emerging biorefinery concept. *Fuel Processing Technology* **2020**, *199*, 106244. [Crossref]
- del Mar, C. G. M.; Galán, M. Á.; Seixas, N.; da Costa, L. A. M.; Silvestre, A.; Castro, E.; Deep eutectic solvents for improved biomass pretreatment: Current status and future prospective towards sustainable processes. *Bioresource Technology* **2023**, *369*, 128396. [Crossref]
- Park, S. Y.; Kim, J. Y.; Youn, H. J.; Choi, J. W.; Fractionation of lignin macromolecules by sequential organic solvents systems and their characterization for further valuable applications. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, *106*, 793. [Crossref]
- del Río, J. C.; Lino, A. G.; Colodette, J. L.; Lima, C. F.; Gutiérrez, A.; Martínez, Á. T.; Lu, F.; Ralph, J.; Rencoret, J.; Differences in the chemical structure of the lignins from sugarcane bagasse and straw. *Biomass and Bioenergy* **2015**, *81*, 322. [Crossref]
- Cardona, E.; Rios, J.; Pena, R.; Rios, L.; Effects of the pretreatment method on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentability of the cellulose fraction from elephant grass. *Fuel* **2014**, *118*, 41. [Crossref]
- Pandiyan, K.; Singh, A.; Singh, S.; Saxena, A. K.; Nain, L.; Technological interventions for utilization of crop residues and weedy biomass for second generation bio-ethanol production. *Renewable Energy* **2019**, *132*, 723. [Crossref]
- Cocero, M. J.; Cabeza, Á.; Abad, N.; Adamovic, T.; Vaquerizo, L.; Martínez, C. M.; Pazo-Cepeda, M. V.; Understanding biomass fractionation in subcritical and supercritical water. *The Journal of Supercritical Fluids* **2018**, *133*, 550. [Crossref]
- da Costa Nogueira, C.; de Araújo Padilha, C. E.; de Jesus, A. A.; de Santana Souza, D. F.; de Assis, C. F.; de Sousa Junior, F. C.; dos Santos, E. S.; Pressurized pretreatment and simultaneous saccharification and fermentation with in situ detoxification to increase bioethanol production from green coconut fibers. *Industrial Crops and Products* **2019**, *130*, 259. [Crossref]
- Kumari, D.; Singh, R.; Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2018**, *90*, 877. [Crossref]
- Jose, D.; Tawai, A.; Divakaran, D.; Bhattacharyya, D.; Venkatachalam, P.; Tantayotai, P.; Sriariyanun, M.; Integration of deep eutectic solvent in biorefining process of lignocellulosic biomass valorization. *Bioresource Technology Reports* **2023**, *21*, 101365. [Crossref]
- Okonkwo, C. E.; Hussain, S. Z.; Manzoor, S.; Naseer, B.; Taiwo, A. E.; Ayyash, M.; Al-Marzouqi, A. H.; Kamal-Eldin, A.; A comprehensive review on the use of deep eutectic solvents for biomass processing, and the synergistic coupling with physical technology and biological method. *Bioresource Technology Reports* **2023**, *23*, 101577. [Crossref]
- Owhe, E. O.; Kumar, N.; Lynam, J. G.; Lignin extraction from waste biomass with deep eutectic solvents: Molecular weight and heating value. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **2021**, *32*, 101949. [Crossref]
- Abbott, A. P.; Capper, G.; Davies, D. L.; Rasheed, R. K.; Tambyrajah, V.; Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical Communications* **2003**, *70*. [Crossref]
- Chen, Y.; Fu, L.; Liu, Z.; Dai, F.; Dong, Z.; Li, D.; Liu, H.; Zhao, D.; Lou, Y.; Surface tension and surface thermodynamic properties of PEG-based deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids* **2020**, *318*, 114042. [Crossref]
- García-Álvarez, J.; Deep Eutectic Mixtures: Promising Sustainable Solvents for Metal-Catalysed and Metal-Mediated Organic Reactions. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2015**, *2015*, 5147. [Crossref]
- Liu, J.; Qi, L.; Yang, G.; Xue, Y.; He, M.; Lucia, L. A.; Chen, J.; Enhancement of lignin extraction of poplar by treatment of deep eutectic solvent with low halogen content. *Polymers* **2020**, *12*, 1599. [Crossref]
- Alcalde, R.; Gutiérrez, A.; Atilhan, M.; Aparicio, S.; An experimental and theoretical investigation of the physicochemical properties on choline chloride – Lactic acid based natural deep eutectic solvent (NADES). *Journal of Molecular Liquids* **2019**, *290*, 110916. [Crossref]
- Leron, R. B.; Caparanga, A.; Li, M. H.; Carbon dioxide solubility in a deep eutectic solvent based on choline chloride and urea at T = 303.15-343.15K and moderate pressures. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **2013**, *44*, 879. [Crossref]
- Leron, R. B.; Li, M. H.; Solubility of carbon dioxide in a eutectic mixture of choline chloride and glycerol at moderate pressures. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **2013**, *57*, 131. [Crossref]
- Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D.; *Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical*

- Procedure (LAP) (Revised July 2011)*; National Renewable Energy Laboratory (NREL): Golden, 2008.
25. Ribeiro, V. T.; Campolina, A. C.; da Costa, W. A.; de Araújo Padilha, C. E.; da Costa Filho, J. D. B.; de Sá Leitão, A. L. O.; da Câmara Rocha, J.; dos Santos, E. S.; Ethanol production from green coconut fiber using a sequential steam explosion and alkaline pretreatment. *Biomass Conversion and Biorefinery* **2022**, *14*, 8579. [[Crossref](#)]
 26. Alokika, A.; Kumar, A.; Kumar, V.; Singh, B.; Cellulosic and hemicellulosic fractions of sugarcane bagasse: Potential, challenges and future perspective. *International Journal of Biological Macromolecules* **2021**, *169*, 564. [[Crossref](#)]
 27. Kumar, N.; Gautam, R.; Stallings, J. D.; Coty, G. G.; Lynam, J. G.; Secondary Agriculture Residues Pretreatment Using Deep Eutectic Solvents. *Waste and Biomass Valorization* **2021**, *12*, 2259. [[Crossref](#)]
 28. Dias, L. M.; Neto, F. S. P. P.; Brienza, M.; de Oliveira, S. C.; Masarin, F.; Experimental design, modeling, and optimization of production of xylooligosaccharides by hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse and straw. *Biomass Conversion and Biorefinery* **2023**, *13*, 12777. [[Crossref](#)]
 29. Ilanidis, D.; Stagge, S.; Jönsson, L. J.; Martín, C.; Effects of operational conditions on auto-catalyzed and sulfuric-acid-catalyzed hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse at different severity factor. *Industrial Crops and Products* **2021**, *159*, 113077. [[Crossref](#)]
 30. Gan, P.; Zhang, K.; Xu, Q.; Zhao, Y.; Li, J.; Yang, G.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Zhang, L.; Wang, B.; Shang, M.; Chen, J.; Microwave-assisted choline chloride/lactic acid pretreatment for high-efficiency separation and value-added utilization of Sugarcane bagasse components. *Industrial Crops and Products* **2024**, *220*, 119251. [[Crossref](#)]
 31. da Costa, W. A.; de França, V. F.; da Silva Souza, L. S.; de Andrade, A. S. A.; de Araújo, D. A. M.; Moreira, E. D. T.; Pontes, L. F. B. L.; Physical–chemical and ecotoxic evaluation of different deep eutectic solvents for green analytical applications. *Environmental Science and Pollution Research* **2023**, *30*, 70701. [[Crossref](#)]
 32. Varilla-Mazaba, A.; Raggazo-Sánchez, J. A.; Calderón-Santoyo, M.; Gómez-Rodríguez, J.; Aguilar-Uscanga, M. G.; Optimization of lignin extraction by response surface methodology from sugarcane bagasse using deep eutectic solvents (DES). *Industrial Crops and Products* **2022**, *184*, 115040. [[Crossref](#)]
 33. Ito, V. C.; Bet, C. D.; Wojcicichowski, J. P.; Demiate, I. M.; Spoto, M. H. F.; Schnitzler, E.; Lacerda, L. G.; Effects of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice (*Oryza sativa* L.) flour. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **2018**, *133*, 529. [[Crossref](#)]
 34. Athira, G.; Bahurudeen, A.; Appari, S.; Thermochemical Conversion of Sugarcane Bagasse: Composition, Reaction Kinetics, and Characterisation of By-Products. *Sugar Technology* **2021**, *23*, 433. [[Crossref](#)]
 35. Pathak, P.; Gupta, A.; Kant Bhardwaj, N.; Goyal, A.; Suryakant Moholkar, V.; Impact of mild and harsh conditions of formic acid-based organosolv pretreatment on biomass fractionation of sugarcane tops. *Biomass Conversion and Biorefinery* **2021**, *11*, 2027. [[Crossref](#)]
 36. da Silva Souza, L. S.; da Costa, W. A.; de França, V. F.; da Costa Filho, J. D. B.; dos Santos, E. S.; Pontes, M. J. C.; Pontes, L. F. B. L.; Combination of deep eutectic solvent and diluted acid pretreatments for sugarcane bagasse fractionation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* **2024**, *42*, 391. [[Crossref](#)]
 37. Bartos, A.; Anggono, J.; Farkas, Á. E.; Kun, D.; Soetaredjo, F. E.; Móczó, J.; Antoni; Purwaningsih, H.; Pukánszky, B.; Alkali treatment of lignocellulosic fibers extracted from sugarcane bagasse: Composition, structure, properties. *Polymer Testing* **2020**, *88*, 106549. [[Crossref](#)]
 38. Alam, A.; Wang, Y.; Liu, F.; Kang, H.; Tang, S. W.; Wang, Ya.; Cai, Q.; Wang, H.; Peng, H.; Li, Q.; Zeng, Y.; Tu, Y.; Xia, T.; Peng, L.; Modeling of optimal green liquor pretreatment for enhanced biomass saccharification and delignification by distinct alteration of wall polymer features and biomass porosity in *Miscanthus*. *Renewable Energy* **2020**, *159*, 1128. [[Crossref](#)]
 39. Kumar, A. K.; Parikh, B. S.; Pravakar, M.; Natural deep eutectic solvent mediated pretreatment of rice straw: bioanalytical characterization of lignin extract and enzymatic hydrolysis of pretreated biomass residue. *Environmental Science and Pollution Research* **2016**, *23*, 9265. [[Crossref](#)]
 40. Xiao, K.; Li, H.; Liu, L.; Liu, X.; Lian, Y.; Quantitative comparison of the delignification performance of lignocellulosic biomass pretreatment technologies for enzymatic saccharification. *Environmental Science and Pollution Research* **2023**, *30*, 22929. [[Crossref](#)]
 41. Gabriele, F.; Chiarini, M.; Germani, R.; Tiecco, M.; Spreti, N.; Effect of water addition on choline chloride/glycol deep eutectic solvents: Characterization of their structural and physicochemical properties. *Journal of Molecular Liquids* **2019**, *291*, 111301. [[Crossref](#)]
 42. Shishov, A.; Dubrovsky, I.; Kirichenko, S.; Bulatov, A.; Behavior of quaternary ammonium salts and terpenoids-based deep eutectic solvents in aqueous phase. *Journal of Molecular Liquids* **2022**, *347*, 111987. [[Crossref](#)]
 43. Balasubramanian, S.; Venkatachalam, P.; Valorization of rice husk agricultural waste through lignin extraction using acidic deep eutectic solvent. *Biomass Bioenergy* **2023**, *173*, 106776. [[Crossref](#)]