

ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DOS PRÉ-TRATAMENTOS HIDROTÉRMICO (LHW) E SOLVENTES EUTÉTICOS (DES) NA CONVERSÃO DA CASCA DE CUPUAÇU EM AÇÚCARES FERMENTÁVEIS

Caíque S. dos Santos¹; Larissa S. Conceição¹; Rafael J. N. Gomes¹; Leila M. A. Campos^{1,2}

¹Engenharia Química/CATAM/NQV, Universidade Salvador (UNIFACS), Salvador, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Brasil.

caiquesantos.social@hotmail.com

Resumo:

O desenvolvimento de tecnologias para a produção de moléculas de alto valor agregado a partir de subprodutos agroindustriais é crucial para o avanço sustentável e socioambiental. No presente estudo, foram avaliados dois métodos de pré-tratamento para a desestruturação da matriz lignocelulósica da casca de cupuaçu, com o objetivo de facilitar o acesso aos açúcares fermentescíveis provenientes da celulose e hemicelulose. O pré-tratamento hidrotérmico (LHW) foi conduzido a uma temperatura de 180 °C por 45 minutos. Como resultado, observou-se um aumento significativo nas concentrações de xilose (33,67%) e arabinose (163,41%), embora tenha ocorrido uma redução de 65,1% na concentração de glicose. Em contraste, o pré-tratamento com solventes eutéticos profundos (DES), utilizando cloreto de colina e ácido láctico a 180 °C por 6 horas, levou a uma diminuição nas concentrações de glicose, xilose e arabinose. Ambos os pré-tratamentos resultaram em um aumento no teor de lignina nas amostras, com alterações mínimas nas concentrações dos grupos funcionais, conforme evidenciado pela espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Esses resultados indicam que os métodos de pré-tratamento testados apresentam impactos distintos na composição química da biomassa, sendo essenciais para a otimização de processos biotecnológicos voltados à produção de bioprodutos.

Palavras-Chave: Açúcares fermentáveis; casca de cupuaçu; LHW; DES.

Introdução

Os métodos de valorização de resíduos agrícolas estão sendo amplamente desenvolvidos para converter esses materiais em produtos de maior valor agregado, como biopolímeros e compostos utilizados nas indústrias alimentícia e farmacêutica¹. A aplicação de bioprocessos e tecnologias inovadoras é essencial para uma conversão eficiente desses resíduos, promovendo a sustentabilidade e reduzindo os impactos ambientais². Estima-se que, até 2050, a geração global de resíduos atinja 3,80 bilhões de toneladas por ano, sendo que apenas uma pequena fração desses resíduos será reaproveitada para a produção de produtos de alto valor agregado³. Atualmente, muitos resíduos são enviados para aterros, incineração, utilizados como ração animal ou descartados inadequadamente, o que resulta em sérios problemas ambientais e de saúde pública⁴.

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma fruta nativa do Brasil, cuja produção nacional em 2017 alcançou 21.240 toneladas, destacando a Bahia como o principal estado produtor, o que ressalta a relevância dessa região para o setor agroindustrial do país⁵. Durante o processamento do cupuaçu, o principal resíduo gerado é a casca, que constitui aproximadamente 43% do peso total do fruto⁶. Esse resíduo lignocelulósico apresenta um elevado potencial para aplicações industriais, incluindo a produção de compostos de valor agregado, como xilitol, etanol, biodiesel e bio-óleo⁷.

Apesar do potencial da lignocelulose como matéria-prima, sua viabilidade econômica é comprometida por obstáculos significativos, em especial o alto custo do pré-tratamento da biomassa, que pode chegar a representar mais de 40% do custo total do processo.⁸. O pré-tratamento é uma etapa crucial para a conversão eficiente da biomassa lignocelulósica, uma vez que facilita a hidrólise dos polímeros complexos em açúcares fermentáveis. Dentre os métodos de pré-tratamento avaliados, destacam-se os físico-mecânicos, químicos e biológicos, com ênfase no tratamento hidrotérmico (Liquid Hot Water, LHW) e no uso de solventes avançados, como líquidos iônicos e solventes eutéticos profundos (Deep Eutectic Solvents, DES).

Os solventes eutéticos profundos (DES) têm ganhado destaque como alternativas sustentáveis para a extração de compostos de biomassa. Os DES se destacam pela capacidade de separar ligações C–O–C na lignina, preservando as ligações C–C, o que facilita a despolimerização da lignina e sua extração da biomassa⁹. Por outro lado, o pré-tratamento hidrotérmico (LHW) utiliza água como reagente, reduzindo a geração de poluentes e a necessidade de insumos químicos, o que se traduz em menores custos financeiros e energéticos¹⁰. No entanto, o LHW demanda alta energia para elevar a temperatura e a pressão, o que pode impactar a eficiência energética e os custos operacionais. Este método é especialmente eficaz para biomassas ricas em hemicelulose, promovendo a conversão em açúcares de cadeia curta¹¹.

A casca de cupuaçu apresenta um grande potencial para a produção de compostos de alto valor agregado. Este estudo avaliou a eficácia dos pré-tratamentos hidrotérmico (LHW) e com solventes eutéticos profundos (DES) na desestruturação da fibra lignocelulósica da casca de cupuaçu, destacando suas características favoráveis do ponto de vista ambiental e econômico.

Material e Métodos

Pré-tratamento físico da casca de cupuaçu

As cascas de cupuaçu (CP) utilizadas neste estudo foram obtidas na Feira de São Joaquim, localizada em Salvador, Bahia. As amostras passaram por um processo inicial de lavagem para a remoção de impurezas superficiais. Posteriormente, foram submetidas à secagem em estufa a 100 °C, até atingirem um teor de umidade inferior a 10%. Em seguida, a biomassa seca foi triturada em um moinho de facas, e peneirada para garantir uma granulometria uniforme, com partículas variando entre 250 µm e 355 µm.

Pré-tratamentos hidrotérmico (LHW) e solvente eutético profundo (DES)

No pré-tratamento hidrotérmico (LHW), 3 g de CP e 30 mL de água destilada foram misturados e aquecidos à 180 °C, por 45 minutos. Após centrifugação, a fração sólida foi lavada e seca novamente. No pré-tratamento com DES, 42,76 g de cloreto de colina e 317,93 g de ácido láctico, na proporção molar de 1:10, foram misturados e aquecidos à 80 °C. Em seguida, 3 g de CP e 60 mL da solução DES foram aquecidos à 160 °C, durante 6 horas. A mistura foi lavada, filtrada e tratada com acetona/água, seguida de lavagem com etanol e água destilada^{12, 13, 14}.

Determinação de extrativos e cinzas

A determinação de extrativos da amostra in natura foi realizada em triplicata com base no procedimento TAPPI T204 om-88¹⁵. O teor de extrativos foi calculado pela Equação 1:

$$\text{Extrativos}(\%) = \frac{M_{ce} - M_{le}}{M_{ce}} * 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde M_{ce} representa a massa da amostra com extrativos, M_{le} a massa da amostra livre de extrativos.

O teor de cinzas foi determinado em triplicata pelo método TAPPI T413 om-93¹⁶. O cálculo do teor de cinzas totais foi realizado utilizando a Equação 2.

$$\text{Cinzas totais} (\%) = \frac{M_{ctc} - M_c}{M_a} * 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde M_{ctc} representa a massa de cinzas totais + cadinho (g), M_c a massa do cadinho calcinado (g), M_a a massa da amostra inicial seca (g).

Determinação da lignina

A determinação da lignina total é realizada através da soma das quantidades de lignina insolúvel e solúvel de acordo com a metodologia adaptada de Rocha et al. (1997) e validada por Gouveia et al. (2009)^{17, 18}. A lignina insolúvel é então calculada utilizando a Equação 3:

$$\text{Lignina insolúvel} (\%) = \frac{M_{pfc} - (M_{cc} - M_c + M_{pf})}{M_a} * 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde M_{pfc} é a massa do papel de filtro com lignina insolúvel seca, M_{cc} é a massa das cinzas mais a massa do cadinho, M_c é a massa do cadinho, M_{pf} é a massa do papel de filtro e M_a é a massa da amostra.

Para a determinação da lignina solúvel, uma alíquota de 5 mL da solução líquida derivada da hidrólise de CP com H_2SO_4 72% foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL, adicionando-se 40 gotas de NaOH 6,5 M e completando-se o volume com água destilada. A absorbância da solução foi medida a 280 nm utilizando um espectrofotômetro UV-VIS^{17, 18}. A concentração e o teor de lignina solúvel foram então calculados pelas Equações 4 e 5, respectivamente:

$$\text{Lignina solúvel} \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{(A_{280} * f_d) - (C_{HMF} * \epsilon_{HMF} + C_{FURF} * \epsilon_{FURF}) - B}{A} \quad (\text{Equação 4})$$

$$\text{Lignina solúvel} (\%) = \frac{C_{LS} * V_f}{M_a} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde A_{280} representa a absorbância do hidrolisado medida a 280 nm; f_d é o fator de diluição, que é 20; ϵ_{HMF} é a absorvidade do 5-hidroximetilfurfural, que é (114,00 L.g⁻¹.cm⁻¹) e ϵ_{FURF} é a absorvidade do furfural, que é 146,85 L.g⁻¹.cm⁻¹. A concentração do 5-hidroximetilfurfural é representada por C_{HMF} , e a concentração do furfural é representada por C_{FURF} . O coeficiente linear na equação é denotado por B, que é 0,018, e o coeficiente angular, que corresponde à absorvidade da lignina, é A, com um valor de 23,7 L.g⁻¹.cm⁻¹. A concentração de lignina solúvel é indicada por C_{LS} , o volume do hidrolisado filtrado é V_f , que é 0,25 L, e M_a representa a massa da amostra.

Determinação dos carboidratos

A determinação dos açúcares foi feita usando a fração líquida obtida a partir da hidrólise de CP com H₂SO₄ 72% (m/m). As análises foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) utilizando uma coluna Aminex HPX87H e um detector de índice de refração. A fase móvel consistiu em ácido sulfúrico 5.10⁻³ mol.L⁻¹, com fluxo de 0,5 mL.min⁻¹ e temperatura de 35 °C. A quantificação dos carboidratos foi realizada por curvas de calibração dos padrões de glicose, xilose, arabinose e celobiose.

Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As amostras da fração sólida in natura, pós-tratadas com DES e LHW, foram analisadas em um espectrômetro FTIR (Shimadzu IR Tracer-100 FT-IR) na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹. A técnica da pastilha, utilizando 0,5 a 1,0 mg da amostra com 100 mg de KBr, foi empregada para identificar os principais grupos funcionais lignocelulósicos. O espectro foi analisado usando o software Origin 2018.

Resultados e Discussão

Pré-tratamento físico da casca de cupuaçu

Após o processo de secagem, as amostras apresentaram um teor de umidade de 9,14%. A Figura 1 mostra o aspecto das amostras de casca de cupuaçu (CP) após as etapas de lavagem, secagem, trituração e peneiramento, evidenciando a uniformidade das partículas obtidas.

Figura 1. Aspecto da amostra de CP após lavagem, secagem, trituração e peneiramento.



Determinação de extrativos

Os resultados do teor de extrativos obtidos neste estudo, estão apresentados na Tabela 1 são constituintes não estruturais da biomassa, tais como terpenos, flavonoides, ácidos fenólicos, gorduras, ceras, ácidos graxos, álcoois, esteroides e hidrocarbonetos de baixo peso molecular, capazes que se solubilizarem em determinado solvente.

Tabela 1. Teor de extrativos da casca de cupuaçu in natura

Referência	Extrativos
Este trabalho	8,25 ± 1,02
Marasca (2022)	5,89 ± 0,26
Borges et al. (2020)	5,95 ± 0,76

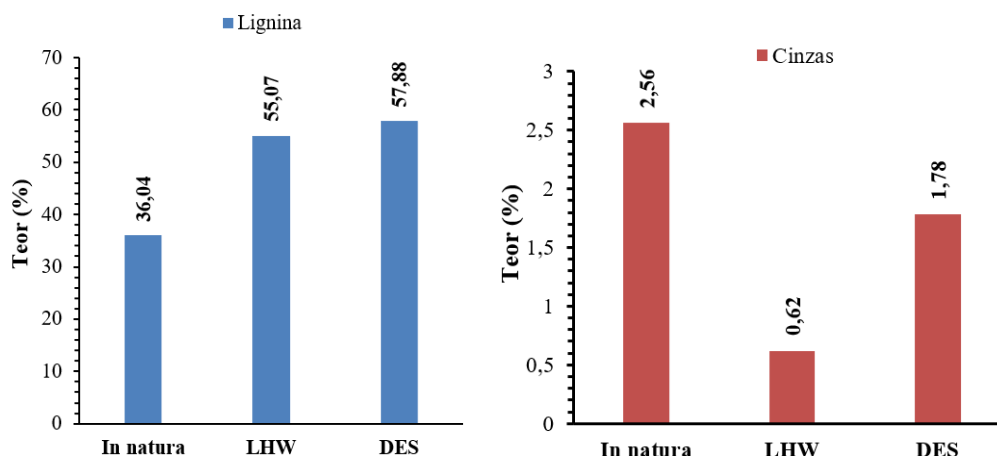
N=3

Os resultados obtidos neste estudo são comparáveis aos relatados por outros autores^{19,20} que utilizaram exclusivamente etanol para a determinação dos extrativos. Tal metodologia pode explicar a discrepância observada, uma vez que o teor de extrativos encontrado por esses autores foi inferior ao registrado no presente trabalho. Isso sugere que a extração realizada por eles possivelmente não foi capaz de remover integralmente todos os componentes voláteis, o que pode ter levado a uma subestimação dos valores de extrativos.

Efeito dos pré-tratamentos na casca do cupuaçu

A Figura 2 mostra os teores de lignina e cinzas presentes nas amostras analisadas. A quantificação da lignina nas cascas de cupuaçu *in natura* resultou em um valor equivalente a $36,04 \pm 1,05\%$.

Figura 2. Teores de lignina e cinzas na CP *in natura* e pré-tratadas com LHW e com DES.

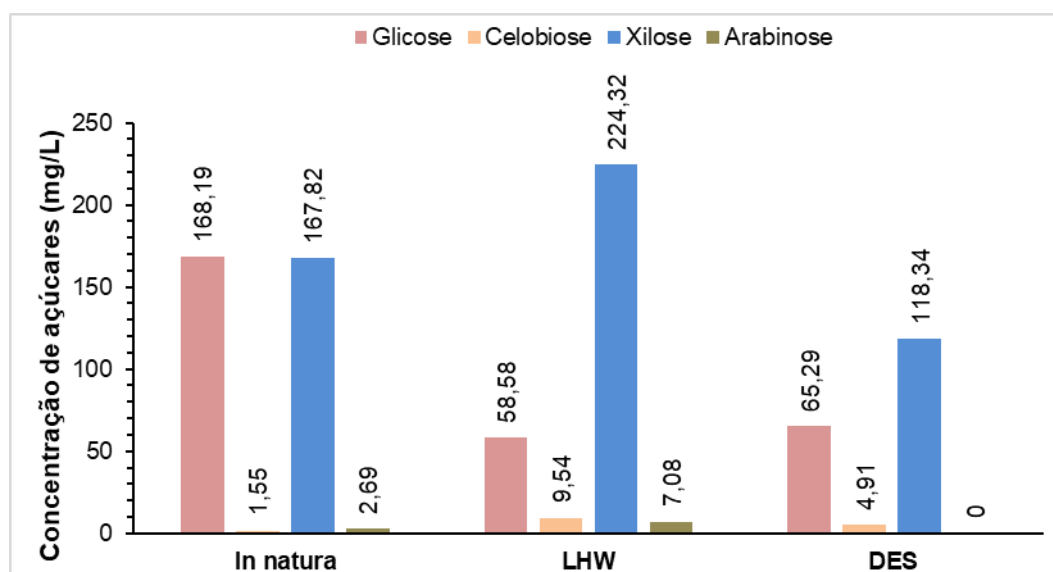


Os pré-tratamentos empregados demonstraram-se insuficientes na remoção da lignina, conforme evidenciado pelos teores remanescentes após os processos LHW e DES, que foram de 55,07% e 57,88%, respectivamente. Esses valores sugerem que a variação observada não possui significância estatística. Apesar de a literatura reconhecer o potencial dos solventes eutéticos profundos (DES) na remoção de lignina²¹, a ineficácia observada pode ser atribuída à degradação da biomassa e às condições experimentais inadequadas, que comprometem a quebra das ligações da lignina, bem como a solubilidade e reatividade dos componentes da biomassa. Fatores experimentais como tempo de tratamento, temperatura e pressão desempenham papel crucial nesses processos. Estudos como o de França et al. (2022) avaliaram os efeitos do tempo de extração, volume de DES e adição de água, concluindo que tanto o tempo quanto a interação entre o volume de DES e a adição de água (alterando a viscosidade) têm influência significativa na remoção da lignina²². À luz dessas informações, faz-se necessário reajustar os parâmetros experimentais e incluir novos fatores, tais como temperatura, pressão, tempo de tratamento e viscosidade, para alcançar resultados mais coerentes com os reportados na literatura, visando a determinação do ponto ótimo para a remoção da lignina. O aumento na concentração de lignina após o pré-tratamento LHW pode ser explicada pela maior solubilização da hemicelulose, uma vez, com a remoção da hemicelulose, os teores de celulose e lignina na biomassa pré-tratada aumentam em relação à biomassa *in natura*.

Ambos os pré-tratamentos promoveram uma redução no teor de cinzas presentes na casca de cupuaçu. A diminuição observada após o tratamento com solventes eutéticos profundos (DES) pode estar associada à presença de sais no citoplasma da casca, que possivelmente se liberaram das células durante o processo²³. Essa redução no teor de cinzas pode ser atribuída à remoção das cinzas extraíveis, ou seja, compostos inorgânicos que são eliminados quando a biomassa é submetida a tratamento com solventes apropriados. Tal fenômeno sugere uma eficiência dos pré-tratamentos na mobilização e remoção desses componentes inorgânicos, contribuindo para a purificação da biomassa.

A Figura 3 mostra as concentrações de glicose, celobiose, xilose e arabinose presentes na amostra da casca de cupuaçu *in natura* e pré-tratadas com LHW e DES.

Figura 3. Concentração de açúcares nas amostras de CP *in natura* e pré-tratadas com LHW e DES.



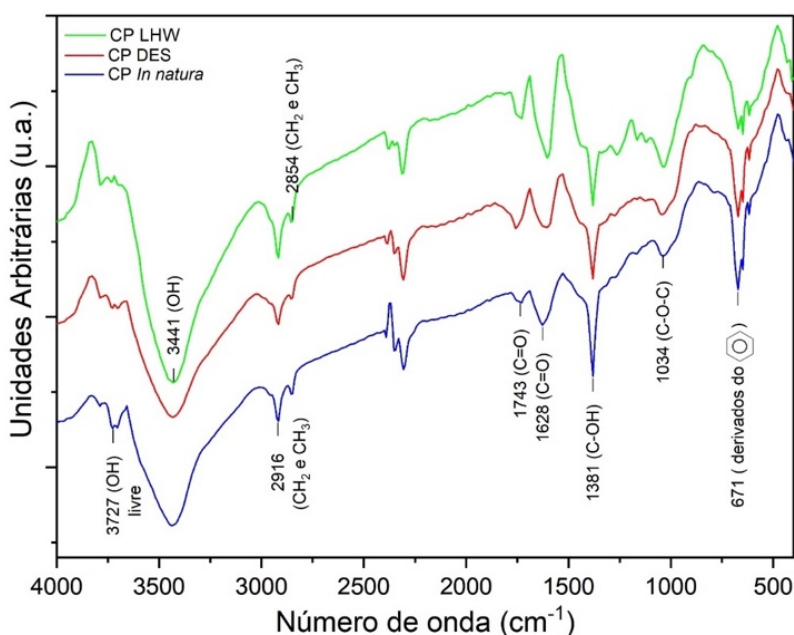
O pré-tratamento com Liquid Hot Water (LHW) resultou em uma redução significativa na concentração de glicose em 65,2% e em um aumento de xilose em 33,7%, elevando a razão xilose/glicose de 0,99 para 3,83. Essas alterações são consistentes com estudos reportados na literatura²⁴, que demonstraram que as condições de temperatura e tempo durante o processo têm influência direta na disponibilidade de glicose e xilose para futuras aplicações. A concentração de arabinose, embora inicialmente baixa, triplicou após o tratamento.

No pré-tratamento com DES, observou-se uma redução de 29,48% na xilose e 61,17% na glicose. A diminuição da glicose pode ter sido causada por um erro no processo, evidenciado pela solidificação inesperada da mistura eutética com a casca de cupuaçu. Foram avaliadas a eficiência de três misturas eutéticas — cloreto de colina e ureia, cloreto de colina e glicerol, e cloreto de colina e etilenoglicol — no pré-tratamento da gramínea *Miscanthus*²⁵, visando a extração de celulose, cujos resultados indicaram um aumento na disponibilidade de celobiose a partir da celulose e uma redução nos teores de xilose e arabinose a partir da hemicelulose, o que também foi observado no presente estudo.

Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) das amostras de CP *in natura* e pré-tratadas com LHW e DES estão mostrados na Figura 4.

Figura 4. Espectrograma de FTIR das amostras de CP *in natura* LHW e DES



Ao comparar os espectros de absorção das três amostras, verificou-se que tanto as amostras *in natura* quanto as pré-tratadas mantiveram os grupos funcionais. Contudo, a principal diferença observada entre os espectros reside na intensidade das bandas, sugerindo apenas alterações mínimas na composição ou estrutura molecular das amostras após os pré-tratamentos. Na casca de cupuaçu, os grupos funcionais são atribuídos à presença de celulose, hemicelulose, lignina, extrativos e água. A vibração de estiramento antissimétrico em 3727 cm^{-1} está associada ao grupo OH da água livre, enquanto a vibração de deformação axial em 3441 cm^{-1} pode ser atribuída às hidroxilas presentes predominantemente na celulose e hemicelulose. A banda em 1381 cm^{-1} corresponde à vibração angular de O-H em álcoois e fenóis, provavelmente relacionada à hemicelulose e lignina. As bandas em 2916 cm^{-1} e 2854 cm^{-1} estão associadas ao estiramento de alcanos (CH_2 e CH_3), presentes em celulose, hemicelulose e lignina. As vibrações de $\text{C}=\text{O}$ foram observadas em 1743 cm^{-1} e 1628 cm^{-1} , possivelmente associadas à hemicelulose e lignina. A banda em 1034 cm^{-1} está relacionada às ligações C-O-C, enquanto a banda em 671 cm^{-1} pode indicar a presença de grupos aromáticos da lignina.

Conclusões

Os resultados demonstraram que o pré-tratamento com LHW foi mais eficiente na extração de açúcares derivados da hemicelulose, corroborando com dados previamente reportados na literatura. Em contrapartida, o tratamento com DES resultou em uma redução nas concentrações de glicose, xilose e arabinose, o que pode ser atribuído à degradação desses açúcares sob as condições específicas do pré-tratamento empregado. Adicionalmente, e contrariamente ao que é sugerido na literatura, o uso de DES não se mostrou eficaz na solubilização da lignina presente na casca de cupuaçu. Esses achados ressaltam a necessidade de otimização das condições de pré-tratamento para maximizar a recuperação de açúcares

fermentescíveis e sugerem que o LHW pode ser uma abordagem mais promissora para o processamento da biomassa lignocelulósica do cupuaçu. Recomenda-se que futuras pesquisas enfoquem a modificação das condições de tratamento com DES, visando aprimorar a eficiência na solubilização da lignina e a recuperação de açúcares.

Agradecimentos



UNIFACS



fapesb

ãnima
EDUCAÇÃO



Referências

- [1] YU, O.; KIM, K. Lignin to materials: A focused review on recent novel lignin applications. **Applied Sciences**, v. 10, n. 13, p. 4626, 2020.
- [2] VAITHYANATHAN, V. K. et al. A critical review of the transformation of biomass into commodity chemicals: Prominence of pretreatments. **Environmental Challenges**, 2023, 11.100700.
- [3] INTERNATIONAL SOLID WASTE ASSOCIATION (ISWA) et al. **Global waste management outlook 2024: beyond an age of waste, turning rubbish into a resource**. 2024.
- [4] KAZA, S. et al. What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050. **What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050**. 2018.
- [5] INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Agropecuário (2017)**. Brasil: IBGE, 2017.
- [6] GONDIM, T. M. S. et al. **Aspectos da produção de cupuaçu**. 2001.
- [7] TESSMANN, M. S. et al. Bioproducts from agro-industrial plant residues: opportunities for sustainable reuse. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, 2021.
- [8] ISIDORIO, M. **Etapas de pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar, para produção de Etanol de segunda geração: uma revisão**. 2022.
- [9] JABLONSKY, M.; HAZ, A.; MAJOVA, V. Assessing the opportunities for applying deep eutectic solvents for fractionation of beech wood and wheat straw. **Cellulose**, v. 26, p. 7675-7684, 2019.
- [10] CHEN, W. et al. Liquid hot water as sustainable biomass pretreatment technique for bioenergy production: A review. **Bioresource technology**, v. 344, p. 126207, 2022.
- [11] SCAPINI, T. et al. Hydrothermal pretreatment of lignocellulosic biomass for hemicellulose recovery. **Bioresource Technology**, v. 342, p. 126033, 2021.
- [12] FRANCISCO, M.; VAN DEN BRUINHORST, A.; KROON, M. C. New natural and renewable low transition temperature mixtures (LTTMs): screening as solvents for lignocellulosic biomass processing. **Green chemistry**, v. 14, n. 8, p. 2153-2157, 2012.
- [13] MA, H. et al. Pretreatment of Wheat Straw Lignocelluloses by Deep Eutectic Solvent for Lignin Extraction. **Molecules/Molecules online/Molecules annual**, v. 27, n. 22, p. 7955–7955, 17 nov. 2022.
- [14] LI, L. et al. Delignification of poplar wood with lactic acid-based deep eutectic solvents. **Wood Res**, v. 64, n. 3, p. 499-514, 2019.
- [15] TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY – TAPPI. T-204 om-88: solvent extractives of wood and pulp. Atlanta: **TAPPI Press**, 1996.
- [16] TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY – TAPPI. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 900°C: Standard Method T413 om-93 – **Tappi Test Methods**, 1993.
- [17] ROCHA, G.J.M., SILVA, F.T., ARAÚJO, G.T., CURVELO, A.A.S. A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC. In: **Proceedings of the V Brazilian Symposium on the Chemistry of Lignin and Other Wood Components 5**. p.113–115. 1997.
- [18] GOUVEIA, E. et al. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, p. 1500-1503, 2009.
- [19] BORGES, M. S. et al. Evaluation of residual biomass produced in Cerrado Tocantinense as potential raw biomass for biorefinery. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-12, 2020.
- [20] MARASCA, N. **Aproveitamento da casca de cupuaçu para diferentes aplicações da biorrefinaria**. 2022.
- [21] LIU, Y. et al. Process optimization for deep eutectic solvent pretreatment and enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse for cellulosic ethanol fermentation. **Renewable Energy**, v. 177, p. 259-267, 2021.
- [22] FRANÇA, V. F. et al. **Avaliação do uso de Solventes Eutéticos Profundos (DESS) na extração de lignina do bagaço de cana-de-açúcar**. 2022.
- [23] LU, W. et al. A new approach of microalgal biomass pretreatment using deep eutectic solvents for enhanced lipid recovery for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 123-128, 2016.



63º Congresso Brasileiro de Química
05 a 08 de novembro de 2024
Salvador - BA

^[24] LAUROVÁ, M.; KAČÍK, F.; SIVÁK, J. Water Prehydrolysis of Willow Wood (*Salix alba* L.). **Acta Facultatis Xylogiae**. 2009.51(1). 9–26.

^[25] HASSAN, E.; MUTELET, F. Evaluation of miscanthus pretreatment effect by Choline chloride based Deep Eutectic solvents on bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 345, p. 126460, 2022.