



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

BEATRIZ MARJORIE MARIM

**EXTRAÇÃO DE CELULOSE DO BAGAÇO DE LARANJA  
UTILIZANDO A COMBINAÇÃO DE ULTRASSOM E ÁCIDO  
PERACÉTICO**

BEATRIZ MARJORIE MARIM

**EXTRAÇÃO DE CELULOSE DO BAGAÇO DE LARANJA  
UTILIZANDO A COMBINAÇÃO DE ULTRASSOM E ÁCIDO  
PERACÉTICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Suzana Mali de Oliveira

Londrina  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Marim, Beariz Marjorie.

Extração de celulose do bagaço de laranja utilizando a combinação dos métodos de ultrassom e ácido peracético. / Beatriz Marjorie Marim. Londrina, 2019.  
78 f.

Orientador: Suzana Mali de Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2019.  
Inclui bibliografia.

1. Resíduos agrindustriais 2. Complexo lignocelulósico 3. Perácidos - Mali, Suzana. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

BEATRIZ MARJORIE MARIM

**EXTRAÇÃO DE CELULOSE DO BAGAÇO DE LARANJA  
UTILIZANDO A COMBINAÇÃO DE ULTRASSOM E ÁCIDO  
PERACÉTICO**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Profa. Dra. Suzana Mali de Oliveira  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Flávia Debiagi  
Universidade Norte do Paraná – Unopar

---

Dra. Paula Cristina Souza Faria-Tischer  
Empresa Angelus Ciência e Tecnologia

Londrina, 27 de fevereiro de 2019

*Dedico este trabalho à meus pais que sempre me apoiaram, estiveram presentes e acreditaram em meu potencial, me incentivando na busca de novas realizações.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade da vida e seu amor infinito onde tudo é possível.

À minha querida orientadora Professora. Dra. Suzana Mali pela paciência, disponibilidade, atenção, apoio e pela oportunidade de aprendizado.

Aos meus pais Rosangela Marim e Denilson Marim, que são meus exemplos de vida, que não mediram esforços para me auxiliar nesta etapa de vida, sempre me apoiando e incentivando para não desistir dos meus sonhos. Agradeço por te-los como meus pais que sem dúvida, são os melhores.

Ao meu irmão Renan Marim pelo companheirismo, compreensão e constante apoio que torna meus dias mais alegres.

Agradeço também a todos os docentes do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, por me proporcionar o conhecimento, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia (CCE/UDEL): Sérgio, Sandra e Elda. E em especial ao Nelson Janeiro, sempre gentil, paciente e pronto a ajudar, um exemplo de generosidade.

Não poderia deixar de agradecer todos meus amigos que fizeram parte dessa etapa da minha vida, sempre me apoiando e dando força, agradeço em especial a Jéssica, Mariane e Victória, por estarem sempre ao meu lado, fazendo meus dias melhores.

À CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada!

*Altíssimo deu-lhes a ciência da  
medicina para ser honrado em suas maravilhas; e  
delas se serve para acalmar as dores e curá-las; o  
farmacêutico faz misturas agradáveis, compõe  
ungüentos úteis à saúde, e seu trabalho não  
terminará, até que a paz divina se estenda sobre a  
face da terra”*

**Eclesiástico 38, 6-8**

## APRESENTAÇÃO

Este trabalho apresenta os resultados e discussão na forma de artigo original, com o intuito de ser submetido a publicação na revista científica **Biomass & Bioenergy** (Elsevier), as normas técnicas de instrução aos autores encontram-se disponíveis ao final deste trabalho, no Anexo A.

MARIM, Beatriz Marjorie. **Extração de celulose do bagaço de laranja utilizando a combinação de ultrassom e ácido peracético**. 2019. 78p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

## RESUMO

Os resíduos lignocelulósicos advindos da agroindústria brasileira tem sido amplamente estudados por apresentarem grande potencial para obtenção de produtos com maior valor agregado, além de evitar graves problemas ambientais. O Brasil tem destaque na produção de suco de laranja, produzindo cerca de 1,6 milhões de toneladas de laranja, sendo responsável por 60 % da produção mundial do suco, gerando como subproduto o bagaço de laranja (BL). Estima-se que aproximadamente 55 % do volume de BL seja considerado rejeito. O BL tem uma grande quantidade de celulose, podendo variar de 9 a 37 % em resíduo seco. Uma alternativa de aproveitamento desse resíduo é sua utilização para obtenção de celulose. Diante disso, o objetivo geral deste estudo foi extrair celulose a partir do bagaço de laranja utilizando uma combinação de tratamento com ultrassom e ácido peracético, além da caracterização do material obtido de acordo com sua morfologia, cristalinidade e isotermas de sorção de água. O bagaço de laranja foi submetido ao pré-tratamento utilizando ultrassom, por 10 minutos com 30 % de amplitude. Em seguida combinado com o tratamento químico utilizando-se ácido peracético. Foram testados diferentes tempos de reação, para avaliação das melhores condições para a deslignificação de bagaço de laranja. A reação química foi realizado em agitador mecânico com temperatura constante (60 °C). Foi possível observar que o uso isolado do ultrassom não foi suficiente para a extração da celulose do bagaço de laranja *in natura*. A combinação do tratamento com ultrassom e ácido peracético resultou em melhores resultados, e a amostra submetida à ultrassonicação por 10 minutos seguida de tratamento com ácido peracético por 24 h resultou no maior índice de cristalinidade (54 %) com um teor de celulose de 83,04 %, além de apresentar maior equilíbrio de sorção de água e o menor valor no teste de GAB (2,48). O ultrassom é um método alternativo e eficaz para a extração de celulose a partir de resíduos lignocelulósicos, além de ser menos poluente do que os métodos convencionais, e sua combinação com ácido peracético é bastante promissora na extração de celulose de materiais lignocelulósicos.

**Palavras-chave:** Resíduos agroindustriais; Complexo Lignocelulósico; Perácidos.

MARIM, Beatriz Marjorie. **Extraction of cellulose from orange bagasse using a combination of ultrasound and peracetic acid treatment**. 2019. 78p. Dissertation (Master's Degree Biotechnology) – State University of Londrina, 2019.

**ABSTRACT:**

The lignocellulosic residues coming from Brazilian agroindustry have been widely studied because they present great potential for obtaining products with greater added value, besides avoiding serious environmental problems. Brazil has a major presence in the production of orange juice, produces about 1.6 tons of orange, accounting for 60 % of the world's production, producing as orange by-product (OB) as byproduct. It is estimated that approximately 55 % of the volume of OB is considered waste. The OB has a large amount of cellulose, and can vary from 9 to 37 % in dry residue an alternative to use this residue is its use to obtain cellulose. Therefore, the main objective of this study was to extract cellulose from the orange bagasse using a combination of treatment with ultrasonic and peracetic acid, besides the characterization of the material obtained according to its morphology, crystallinity and water sorption isotherms. The OB was pre-treated using ultrasound for 10 minutes at 30 % amplitude. Then combined with the chemical treatment using peracetic acid. Different reaction times were tested to evaluate the best conditions for OB delignification. The chemical reaction was carried out on a mechanical stirrer with constant temperature (60 ° C). It was possible to observe that the isolated use of the ultrasound was not sufficient for the extraction of the cellulose of the orange bagasse in natura. The combination of the treatment with ultrasound and peracetic acid resulted in better results, and the sample subjected to ultrasound for 10 minutes followed by treatment with peracetic acid for 24 h resulted in the highest crystallinity index (54 %) with a cellulose content of 83.04 % and showed lower equilibrium moisture contents and the lower value in the GAB tet (2.48). Ultrasound is an alternative and effective method for the extraction of cellulose from lignocellulosic residues, in addition to being less polluting than conventional methods, and its combination with peracetic acid is very promising in the extraction of cellulose from lignocellulosic materials.

**Keywords:** Agroindustrial waste; Lignocellulosic Complex; Peracids.

## LISTA FIGURAS

### Revisão da Literatura:

<b>Figura 1</b> - Estrutura fisiológica da laranja .....	18
<b>Figura 2</b> - Fluxograma do processo de produção do suco e subprodutos.....	19
<b>Figura 3</b> - Estrutura química da celulose.....	23
<b>Figura 4</b> - Estrutura química da molécula de hemicelulose .....	24
<b>Figura 5</b> - Estrutura da lignina.....	25

### Artigo Científico:

<b>Figure 1 a</b> - XRD of raw OB and OB submitted to different treatments. US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication). .....	58
<b>Figure 1b.</b> XRD of raw OB and OB submitted to different treatments PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24 (samples submitted to ultrasonication combined to PA treatment).....	
<b>Figure 2a</b> - FTIR spectra of raw OB, US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication). .....	61
<b>Fig. 2b.</b> FTIR spectre of raw PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24 (samples submitted to ultrasonication combined to PA treatment).....	61
<b>Figure 3a</b> - DRX curves of raw OB, US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication). .....	62
<b>Figure 3b</b> - DRX curves of raw PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24 (samples submitted to ultrasonication combined to PA treatment).....	63
<b>Figure 4</b> - Water sorption isotherms of raw OB and OB submitted to different treatments. US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication); PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24. ....	64

## LISTA DE TABELAS

### Revisão da Literatura:

<b>Tabela 1</b> - Diferentes aplicações propostas para o bagaço de laranja.....	21
<b>Tabela 2</b> - Diferenças na composição do bagaço de laranja.....	22
<b>Tabela 3</b> - Pré-tratamentos e tratamentos utilizados para extração da celulose a partir de resíduos lignocelulósicos.....	29
<b>Tabela 4</b> - Potenciais padrão de alguns oxidantes .....	32
<b>Tabela 5</b> - Descrição das condições de ultrassonicação. ....	35
<b>Tabela 6</b> - Descrição dos tratamentos combinando ultrassonicação seguida de tratamento com ácido peracético. ....	36
<b>Tabela 7</b> - Preparo das soluções saturadas.....	39

### Artigo Científico:

<b>Table 1</b> - Description of the ultrasound conditions.....	52
<b>Table 2</b> - Description of the treatments combining ultrasonography followed by treatment with PA. ....	53
<b>Table 3</b> - Cellulose, hemicellulose and lignin content of samples submitted to ultrasounds. and crystallinity indexes (CI) of the O.B and the samples submitted to ultrasound. ....	56
<b>Table 4</b> - Cellulose, hemicellulose and lignin content of samples treated with PA and samples submitted to ultrasound followed by PA treatment. ....	57
<b>Table 5</b> - GAB model parameters.....	65

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 GERAL.....	16
2.2 ESPECÍFICOS.....	16
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
3.1 A LARANJA E A PRODUÇÃO BRASILEIRA.....	17
3.2 PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA E SEUS SUBPRODUTOS.....	18
3.3 BAGAÇO DE LARANJA DESENGORDURADO.....	21
3.3.1 Celulose .....	22
3.3.2 Hemicelulose .....	24
3.3.3 Lignina.....	25
3.4 EXTRAÇÃO DE CELULOSE A PARTIR DE RESÍDUOS IGNOCELULOSICOS.....	26
3.4.1 Ultrassonicação Para Extração de Celulose.....	30
3.4.2 Tratamento Químico com Ácido Peracético para Extração da Celulose.....	31
3.5 APLICAÇÃO DA CELULOSE .....	34
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	36
4.1 MATERIAL.....	36
4.2 PRÉ- TRATAMENTO UTILIZANDO ULTRASSOM.....	36
4.3 COMBINAÇÃO DA ULTRASSONICAÇÃO SEGUIDA DA DESLIGNIFICAÇÃO COM ÁCIDO PERACÉTICO PARA EXTRAÇÃO DA CELULOSE DO BAGAÇO DE LARANJA.....	34
4.4.1 Composição Centesimal.....	37
4.4.2 Teor De Lignina Insolúvel.....	38
4.4.3 Teores de Celulose e Hemicelulose.....	38
4.4.4 Difração De Raios- X (DRX).....	39
4.4.5 Espectroscopia No Infravermelho Com Transformada De Fourier (FT-IR).....	40
4.4.6 Isotermas De Sorção De Água.....	40
<b>5. EXTRACTION OF CELLULOSE FROM ORANGE BAGASSE USING A COMBINATION OF ULTRASOUND AND PERACETIC ACID TREATMENT</b> .....	50
5.1 ABSTRACT.....	50
5.2 INTRODUÇÃO .....	550

5.3 MATERIALS AND METHODS .....	53
5.3.1 Materials.....	53
5.3.2 Methods.....	53
5.3.2.1 Determination of ultrasound conditions .....	54
5.3.2.2 Ultrasound combined to PA treatment for the extraction of cellulose from OB .....	54
5.3.3 Characterization of OB and cellulose from OB.....	54
5.4 RESULTS AND DISCUSSION.....	56
5.4.1 Cellulose, hemicelluloses and lignin contents.....	56
5.4.2. X-ray diffraction (XRD).....	57
5.4.3 Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FT-IR) .....	63
5.4.4 Differential Scanning Calorimetry (DSC).....	63
5.4.5 Moisture Sorption Isotherms.....	63
5.5. CONCLUSIONS .....	64
5.6 REFERENCES.....	67
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>72</b>
ANEXO A –Normas para publicação de artigos na revista Biomass & Bioenergy.....	72

## 1 INTRODUÇÃO

A agroindústria brasileira está cada vez mais desenvolvida e produtiva, e isso tem levado a um aumento na geração de resíduos de natureza lignocelulósica advindos destes processos industriais. Os materiais lignocelulósicos são formados por estruturas fibrosas, compostas pelos polissacarídeos celulose e hemicelulose (cerca de 70 % da massa seca), intercalados pela lignina (NUNES et al., 2013; THAKUR; THAKUR, 2014). Esses resíduos geram graves problemas ambientais, além de representarem perdas de matérias-primas com grande potencial para a geração energia e obtenção de produtos de maior valor agregado. Assim, a crescente preocupação com a quantidade de resíduos produzidos tem incentivado pesquisas que viabilizem o aproveitamento e a reciclagem desses materiais, promovendo economia de recursos naturais e redução do volume de material disposto no meio ambiente (BENELLI, 2010; SOUSA; CORREIA, 2010).

A laranja (*Citrus sinensis*) é umas das frutas mais cultivadas em todo o mundo. A citricultura brasileira está altamente concentrada na produção de laranjas doces, a região sudeste se destaca na produção nacional. O Brasil produz cerca de 16 milhões de toneladas de laranja anualmente, sendo responsável por 60 % da produção mundial de suco de laranja (KALAKI et al., 2017). A indústria de suco de laranja gera como subproduto o bagaço de laranja ou polpa cítrica, composto pelas cascas, sementes e polpas, equivalentes a cerca de 40-50 % do peso de cada fruto, com aproximadamente 82 % de umidade, logo após o processo de extração do suco da fruta (MACAGNAN et al., 2015). Após a extração do suco e da retirada dos óleos essenciais, o bagaço resultante está desengordurado, então geralmente sofre trituração, prensagem, desidratação e compactação, sendo obtido um bagaço seco peletizado ou farelo peletizado, para uso como complemento de ração animal, empregado principalmente na alimentação de bovinos e suínos (VALENÇA et al., 2016; FRANCISCO, 2017).

A celulose é o principal componente da parede celular dos vegetais, é um polímero linear com regiões cristalinas e amorfas, e apresenta diversos tipos de aplicações, sendo a principal na produção de papel, mas também vem sendo empregada nas indústrias farmacêutica, têxtil, de cosméticos, de alimentos, na indústria química como material de reforço para polímeros sintéticos e biodegradáveis, dentre outras aplicações e ainda, (NUNES et al., 2013; MACHADO et al., 2014; NASCIMENTO et al., 2016; GAZZOTTI et al., 2017). As hemiceluloses são moléculas formadas por cadeias menores que a celulose, e consistem em uma mistura de polímeros de hexoses, pentoses e ácidos urônicos, exibindo uma estrutura completamente amorfa. A maior

importância das hemiceluloses está na produção de açúcares fermentescíveis e etanol (JONOBI et al., 2009; LAN; LIU; SUN, 2011; GENG et al., 2018). A lignina é um polímero tridimensional amorfo, está associado à celulose e às hemiceluloses na parede celular, formando um complexo lignocelulósico. Para o isolamento eficaz da celulose é essencial a remoção da hemicelulose e lignina (FLAUZINO NETO, 2012; BENEVIDES, 2015).

O grande desafio para a obtenção da celulose, tanto da madeira, quanto dos resíduos lignocelulósicos é o processo de deslignificação, que atualmente depende do uso de reagentes químicos em muitas etapas, gerando uma grande quantidade de efluentes industriais de difícil tratamento. Nesse sentido, os resíduos lignocelulósicos são alternativas interessantes para a obtenção da celulose, pois apresentam um menor teor de lignina em comparação com a madeira. Assim muitos métodos de pré-tratamento têm sido propostos, no sentido de minimizar a geração de efluentes e maximizar a extração de celulose a partir dos resíduos lignocelulósicos (REHMAN; KIM, 2013; SAELEE et al., 2014)

Entre os métodos de pré-tratamento alternativos, a ultrassonicação tem sido bastante discutida, por ser um método ecologicamente correto, com alta eficiência e baixos custos. Esse método consiste no processo de transmitir energia das ondas sonoras (mecânicas) para o sistema de extração. Os principais efeitos do ultrassom na extração de matrizes vegetais são o melhoramento da permeabilidade da parede celular, o que facilita a dilatação e hidratação do material através do aumento do tamanho dos poros da parede celular, ajuda o processo de difusão e de transferência de massa, aumento do estresse mecânico das células vegetais, dilatação e hidratação do material da planta, melhorando o intumescimento que melhora o rendimento de extração além da redução do tempo de extração da celulose (FRONE et al., 2011; SERAFIM, 2016; LAMANNA et al., 2018).

Os perácidos, dentre os quais o ácido peracético, são considerados ótimos substitutos para os reagentes clorados, que são empregados largamente pela indústria de celulose e papel, por serem espécies altamente oxidantes e por apresentarem vantagens sobre outros reagentes não clorados, tais como peróxido de hidrogênio e ozônio (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001). Os perácidos permitem a produção de polpas de celulose de maior resistência e maiores índices de deslignificação (DUAN; YU; LI, 2017; LEE; KAZLAUSKAS; PARK, 2017).

A combinação de tratamentos químicos e físicos pode ser uma alternativa interessante no sentido de diminuir a quantidade de reagentes químicos empregados. Os métodos combinados auxiliam na remoção da hemicelulose e lignina, aumentando os rendimentos de extração da celulose (JONOBI et al., 2009, 2015).

Considerando-se que não há relatos na literatura sobre a extração de celulose do bagaço de laranja empregando ultrassom e/ou ácido peracético, o presente trabalho teve como proposta extrair celulose de bagaço de laranja utilizando a combinação de um reagente químico (ácido peracético), associado ao método de ultrassom, visando diminuir a quantidade de reagentes utilizados no processo de deslignificação deste resíduo, assim como, maximizar a extração de celulose

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Extrair celulose, a partir do bagaço de laranja, por meio da combinação do ultrassom e do tratamento com ácido peracético, visando a redução da geração de efluentes e a aumento da extração de celulose.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar o bagaço de laranja *in natura*, quanto aos seus teores de celulose, hemicelulose, lignina;

- Caracterizar o material obtido por meio de difração de raios-X (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), calorimetria diferencial exploratória (DSC) e isothermas de sorção de água.

- Determinar as melhores condições de processamento empregando-se a combinação de ultrassom com tratamento com ácido peracético visando a maior eficiência na extração da celulose.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A LARANJA E A PRODUÇÃO BRASILEIRA

A laranja é um fruto proveniente da árvore laranjeira (*Citrus sinensis*), pertencente à família *Rutaceae*, gênero *Citrus*, espécie *sinensis*. A *Citrus sinensis* é natural do sudeste da Ásia, historicamente a descrição mais antiga de cítricos é encontrada na literatura chinesa, aproximadamente no ano 2000 a.C. Na idade média, a laranja foi levada da Ásia para o norte da África e, posteriormente, para o sul da Europa. No século XVI a laranja foi trazida ao Brasil pelas caravelas portuguesas (MARTINI, 2009; BENEVIDES, 2015; SILVA, 2017).

A laranjeira é uma das árvores frutíferas mais importantes do mundo, os principais produtores do fruto são Brasil, China e Estados Unidos. O Brasil começou a ter destaque na exportação de frutas cítricas a partir de 1927. Dez anos depois, a laranja se tornou um produto de grande importância nas exportações brasileiras (BEN ABDELAALI et al., 2018). Atualmente, o Brasil é o maior produtor de laranja no mundo, no ano de 2018, cerca de 16 milhões de toneladas foram produzidas, seguida da China, com uma produção de aproximadamente 6,9 milhões de toneladas (USDA, 2018).

A agricultura de laranja está amplamente distribuída pelo território brasileiro, encontrada principalmente na região sudeste. O estado de São Paulo é responsável por cerca de 70 % da produção nacional de laranja e 98 % da produção de suco, resultando anualmente em aproximadamente US\$ 1 bilhão de dólares em lucro das exportações da laranja e também do suco proveniente da fruta (GOMES et al., 2016; VALENÇA et al., 2016; GUO et al., 2018).

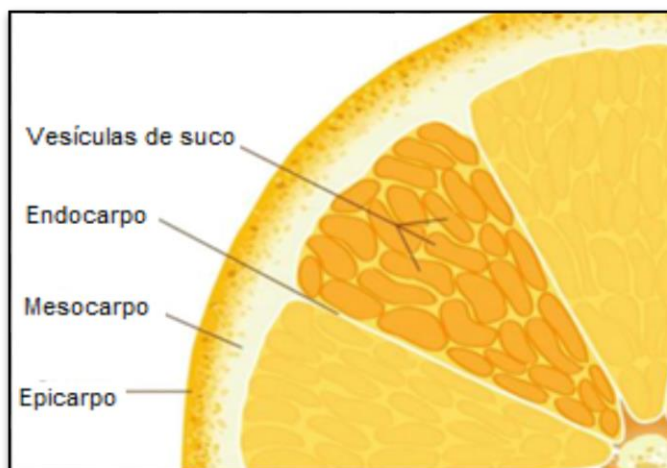
A laranja é conhecida por ser uma fruta rica em vitamina C, apresenta cerca de 70 mg por fruta, que corresponde a uma quantidade maior do que as necessidades diárias de um adulto. Esta vitamina é importante para a saúde por ser um antioxidante, responsável pela proteção das células contra os prejuízos causados pelos radicais livres, levando a redução dos riscos de alguns tipos de câncer, ataque cardíaco entre outras morbidades. Já a parte fibrosa da laranja é rica em fibras insolúveis e atua de forma benéfica sobre o trânsito intestinal (EGBUONU; OSUJI, 2016; VALENÇA et al., 2016; GUO et al., 2018).

A laranja é composta pelo epicarpo, que representa a parte externa alaranjada da casca, a cor característica é devido a presença de carotenóides, na casca também estão presentes os óleos essenciais e o limoneno, que são substâncias de grande interesse comercial (Figura 1).

A parte correspondente a parte branca interior da casca, chamada mesocarpo, apresenta textura esponjosa e sabor amargo devido a presença de flavononas e pectinas. A parte

mais interna do fruto é o endocarpo que separa os gomos os quais contém vesículas de suco e sementes (Figura 1). (NOGUEIRA, 2016; QUEIROZ, 2017; GUO et al., 2018).

**Figura 1** - Estrutura fisiológica da laranja



**Fonte:** adaptado de Nogueira (2016).

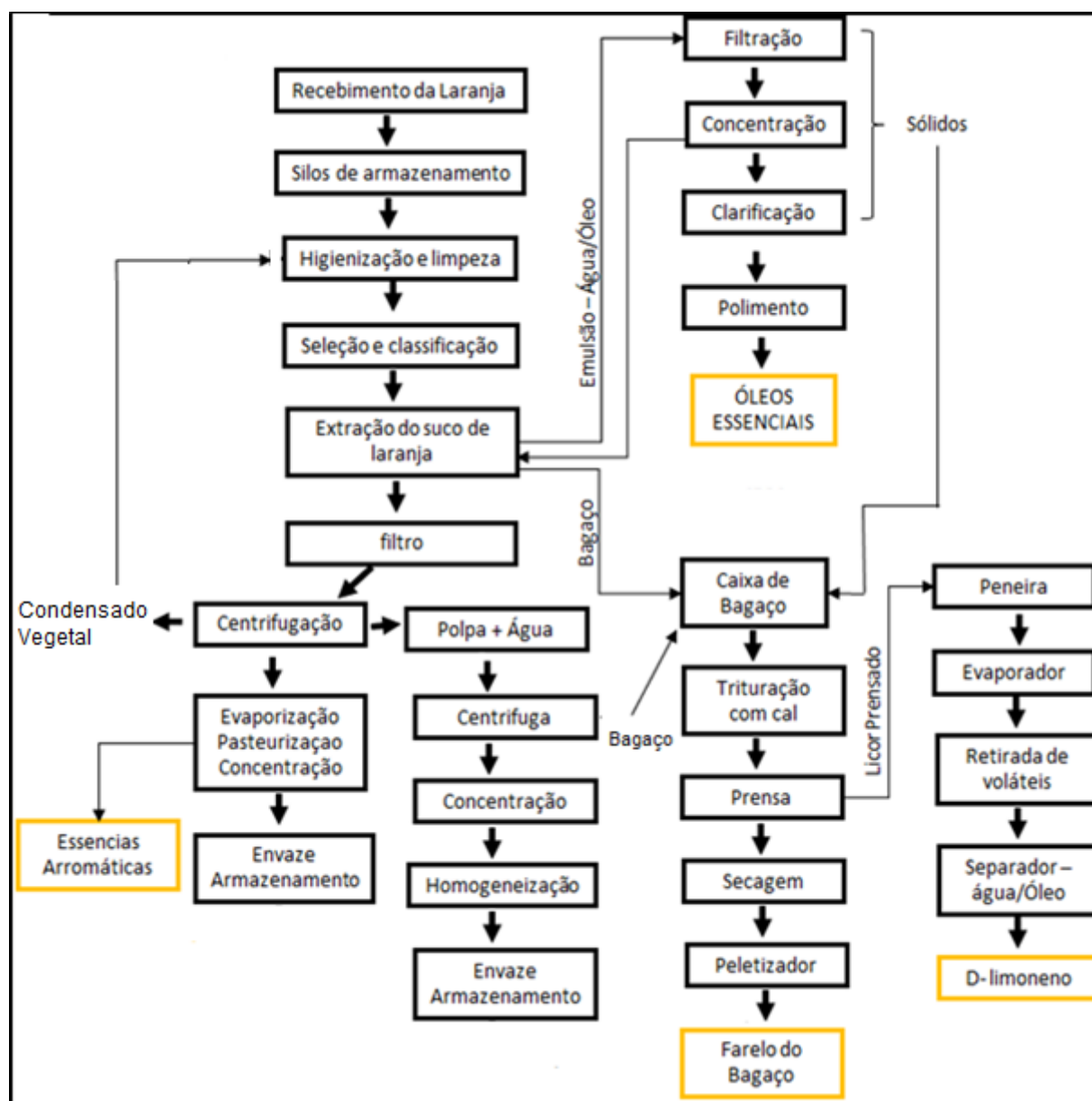
### 3.2 PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA E SEUS SUBPRODUTOS

No ano de 1950, iniciou-se no Brasil a fabricação de suco de laranja concentrado e congelado, e na década de 1960 as indústrias de suco ganharam notoriedade e começaram as exportações. Atualmente, 72 % dos frutos produzidos são processados na forma de suco (EMBRAPA, 2018).

Nas indústrias, o principal produto extraído da fruta é o suco, porém há outros produtos importantes a serem extraídos como: óleos essenciais e o D-limoneno, que apresentam diversas aplicações no mercado, tais como, a produção de fragrâncias, aromas, produtos químicos, solventes e cosméticos (BENELLI, 2010; BENEVIDES, 2015a; GOMES et al., 2016).

Variados tipos de suco são produzidos nas indústrias brasileiras, que são destinados tanto para o mercado nacional, quanto para exportação. O processo de obtenção do suco de laranja consiste em uma série de operações, e para dar início ao processamento, os frutos são recepcionados e pré-selecionados. A extração do suco é realizada em extratores, onde o suco é separado da emulsão, que será posteriormente tratada e dará origem ao óleo essencial e ao D-limoneno. O suco extraído passa por um processo de pasteurização e concentração, para posterior envase (Figura 2) (FARINAS et al., 2008; REZZADORI; BENEDETTI; AMANTE, 2012).

**Figura 2** - Fluxograma do processo de produção do suco e subprodutos.



**Fonte:** Adaptado de Martini (2009); Benelli (2010).

O processamento do suco gera resíduos sólidos que consistem da casca, sementes, bagaço e também os resíduos líquidos, que são resultantes da limpeza da fruta. O processamento da laranja gera 40 a 60 % de resíduo sólido (bagaço), que compreende 42 % do peso total da fruta, com teor inicial de umidade de 82 %. Neste bagaço restante, ainda há 83 a 88 % de nutrientes digestíveis totais, 6 a 7 % de proteína bruta, 23 a 28 % de fibras totais (celulose, hemicelulose e lignina). Das fibras totais, 3 a 4 % correspondem a lignina, 10 a 12 % de hemicelulose e 72 a 84 % são de celulose (MARTINI, 2009; BENELLI, 2010; KALAKI et al., 2017).

Dentre os subprodutos da extração do suco de laranja, o óleo essencial pode ser considerados um dos mais importantes, por ser empregado industrialmente para diversos fins, principalmente nas áreas de alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos. Os óleos essenciais são produtos voláteis, têm origem no metabolismo secundário de vegetais aromáticos. São encontrados em altas concentrações na superfície da laranja, armazenados em grânulos, podendo ser removidos por diferentes métodos de extração, sendo os mais comuns, a destilação por arraste de vapor ou prensagem a frio (GOMES et al., 2016; SOUZA JUNIOR et al., 2018).

O óleo essencial da laranja é uma mistura que pode conter até 300 diferentes compostos químicos, sendo o D limoneno o principal componente, atingindo concentrações que podem variar de 90 a 96 % do óleo (BAKKALI et al., 2008; MARTINI, 2009). A extração do óleo essencial ocorre paralelamente ao processamento de suco. Quando o fruto é pressionado nos copos da extratora, os grânulos de óleo da casca se rompem, anéis em volta dos copos jogam jatos de água que removem o óleo que está na casca (FRANCISCO, 2017).

A pectina também é um importante subproduto da extração do suco de laranja, são encontrados 3,5 a 5,5 % de pectina no bagaço de laranja. A pectina é um polissacarídeo estrutural, sua função está relacionada a adesão entre as células e melhoramento da resistência mecânica da parede celular vegetal. São amplamente utilizadas em indústria de alimentos, como espessantes, emulsificantes ou estabilizantes e também tem aplicação em indústria farmacêutica e cosméticas (MA; CERVERA; MEJÍA SÁNCHEZ, 1993; BICU; MUSTATA, 2013).

### 3.3 BAGAÇO DE LARANJA DESENGORDURADO

O bagaço da laranja desengordurado, também chamado de polpa cítrica, é composto por cascas, polpa, sementes e demais resíduos, e grande parte deste resíduo é destinada à fabricação de rações animais, mas para isso, geralmente o bagaço é seco. Com a parte sólida resultante da produção do suco, são produzidos *pellets* de baixa umidade, que podem ficar armazenados por um grande período de tempo sem risco de contaminação. Porém, ainda assim, devido à elevada produção de suco de laranja, ainda são geradas grandes quantidades do bagaço úmido, que são materiais com grande capacidade de contaminação microbiana, podendo trazer graves prejuízos ambientais se o seu tratamento ou descarte for realizado de forma inadequada (MARTINI, 2009; LESSA et al., 2017).

A destinação desses resíduos, portanto, é um problema a ser resolvido pela indústria de suco de laranja. Uma saída seria o estudo do potencial de valorização desses resíduos, o que contribuiria para a redução do impacto ambiental associado ao seu descarte, assim como a

obtenção de materiais com valor agregado, que podem trazer benefícios, tanto ao meio ambiente, como econômicos (GOMES et al., 2016; SOUZA JUNIOR et al., 2018). Atualmente há diversos estudos sobre a utilização do resíduo gerado nas indústrias de suco de laranja (Tabela 1).

**Tabela 1** - Diferentes aplicações propostas para o bagaço de laranja

<b>Aplicação</b>	<b>Referência</b>
Substrato para a produção de enzimas	ALEXANDRINO et al. (2007); CAMARGO; et al. (2005); DÁVILA; ROSENBERG; CARDONA (2015) GIESE; DEKKER; BARBOSA (2008)
Alimentação de ruminantes	VALENÇA et al. (2016)
Substrato para a produção de biocombustíveis	FORSTER-CARNEIRO et al. (2013); QUEIROZ (2017)
Hidrolise ácida e enzimática para a obtenção de açúcares redutores	NOGUEIRA (2016)
Extração de Polifenóis da casca da laranja	KHAN et al. (2010)
Extração de óleo essencial da casca da laranja	BOUKROUFA et al. (2015)
Pirólise para produção de energia	MARTINI (2009); MORAIS et al. (2013)
Adsorventes, usados para a remoção de metais pesados	LESSA et al. (2017)
Pesquisa de atividade antimicrobiana	EGBUONU; OSUJI (2016)
Produção de carbono ativado para suporte como catalisador	LAM et al. (2017)

**Fonte:** Próprio autor.

De acordo com a Tabela 1 o bagaço da laranja resultante das indústrias de suco já vem sendo estudados para diversos finalidades. Porém, ainda são necessários mais estudos deste resíduo para extração de celulose, tema ainda pouco relatado na literatura.

Na Tabela 2 estão apresentados os teores de celulose, hemicelulose e lignina descritos na literatura por vários autores para a casca e para o bagaço de laranja.

**Tabela 2** - Diferenças na composição do bagaço de laranja

<b>Material</b>	<b>Componente</b>	<b>Quantidade (%)</b>	<b>Referência</b>
Casca da Laranja	Celulose	9	RIVAS et al. (2008)
	Hemicelulose	11	
	Lignina	1	
Casca de Laranja	Celulose	37	MARÍN et al. (2007)
	Hemicelulose	11	
	Lignina	8	
Casca da Laranja	Celulose	16	MAMMA; KOURTOGLOU; CHRISTAKOPOULOS (2008)
	Hemicelulose	14	
	Lignina	1	
Bagaço de Laranja	Celulose	10	OROZCO et al. (2014)
	Hemicelulose	26	
	Lignina	3	

**Fonte:** Próprio autor

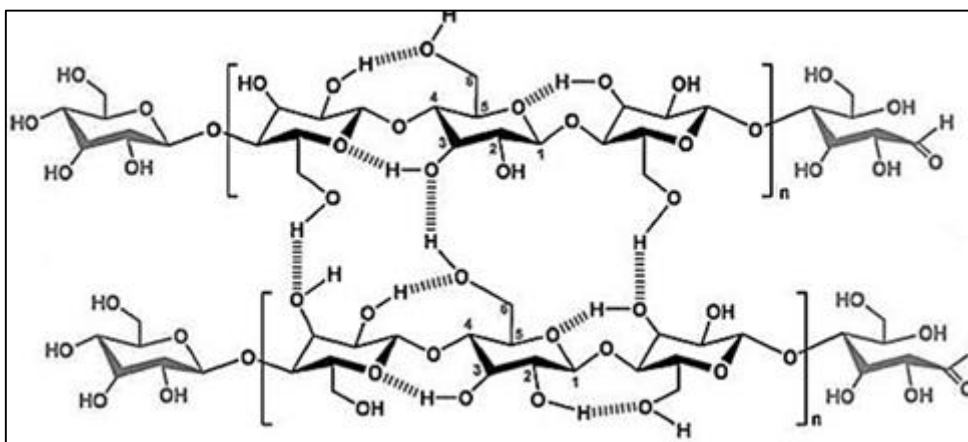
Pode-se observar na Tabela 2 uma grande variação nas composições das cascas e no bagaço de laranja, e isso pode ser atribuído à grande variedade de plantas, a composição do solo, o clima (umidade, temperatura), a época de colheita e até mesmo pelo método de plantio (CYPRIANO; DA SILVA; TASIC, 2018).

### 3.3.1 Celulose

A celulose é um polímero natural, principal constituinte de tecidos vegetais superiores, é material de construção de células fibrosas longas e tem como principal característica a alta resistência e rigidez. Pode ser encontrada também em algumas espécies de animais marinhos, algas, fungos, bactérias e pequenas quantidades em invertebrados (GAZZOTTI et al., 2017).

Quimicamente, a celulose  $(C_6H_{10}O_5)_n$  é um homopolissacarídeo linear, constituído por unidades de glicose unidas por ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas, e a unidade repetitiva é conhecida como celobiose, que confere uma estrutura única a celulose (Figura 3). Este polímero possui massa molar média de 100.000 g / Mol. O número de monômeros de glicose que compõe a cadeia da celulose determina seu grau de polimerização (MARTINI, 2009; SOUZA, 2009; COSCIA et al., 2018).

**Figura 3** - Estrutura química da celulose



Fonte: adaptado de Trache et al. (2017)

Esse polímero possui uma extremidade redutora no carbono 1, e outra não redutora no carbono 4. As cadeias de celulose são próximas entre si, e a presença de hidroxilas (OH) em sua estrutura facilita as ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Essas ligações são permitidas devido a linearidade da celulose, e essas ligações impedem a solubilidade da celulose em água (fibras insolúveis), dificultando a sua degradação (PADZIL et al., 2015, TRACHE et al., 2017).

Devido a essas ligações de hidrogênio, a celulose apresenta uma estrutura de elevada cristalinidade, com regiões com alto grau de ordenação, que são chamadas regiões cristalinas e outras regiões com baixa organização ou desorganizadas, chamadas de regiões amorfas. O grau de cristalinidade é variável, e é determinado de acordo com a origem da celulose (PADZIL et al., 2015). A celulose extraída do algodão, por exemplo, possui cadeias extremamente ordenadas, chegando a uma cristalinidade de 70 %, enquanto a celulose extraída de madeiras de árvores tem o índice de cristalinidade de aproximadamente 40 %. A absorção de água só ocorre nas regiões amorfas, a cristalinidade da molécula influencia a solubilidade em água, dificulta a sua reatividade química e deixa a celulose menos susceptível ao ataque enzimático (DALAGNOL, 2010; GAZZOTTI et al., 2017).

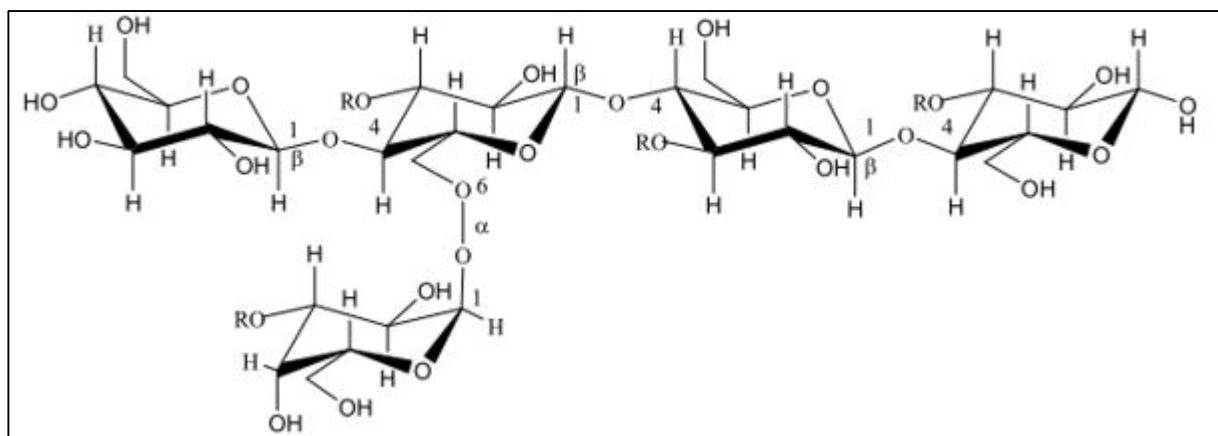
### 3.3.2 Hemicelulose

Na parede celular vegetal, o grupo de polissacarídeos que apresenta a segunda maior ocorrência em quantidade são as hemiceluloses, que correspondem a polissacarídeos

complexos, formados por uma estrutura de cadeia curta, ramificada e de baixo grau de organização (TRACHE et al., 2017).

A hemicelulose não é quimicamente homogênea, em sua estrutura podem conter diferentes combinações de monossacarídeos, sendo as mais prevalentes as glicoxilanas, arabinoglicoxilanas, galactoglicomananas e ácidos metil galacturônico e galacturônico, que estão ligados entre si por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 (Figura 4) (SILVA et al., 2010). Apresenta uma massa molar de aproximadamente 30.000 g / Mol, com estrutura amorfa, e diferente da celulose, a hemicelulose possui uma estrutura mais solúvel em água (MARTINI, 2009; LAN; LIU; SUN, 2011; COSCIA et al., 2018).

**Figura 4** - Estrutura química da molécula de hemicelulose



Fonte: adaptado de Trache et al. (2017)

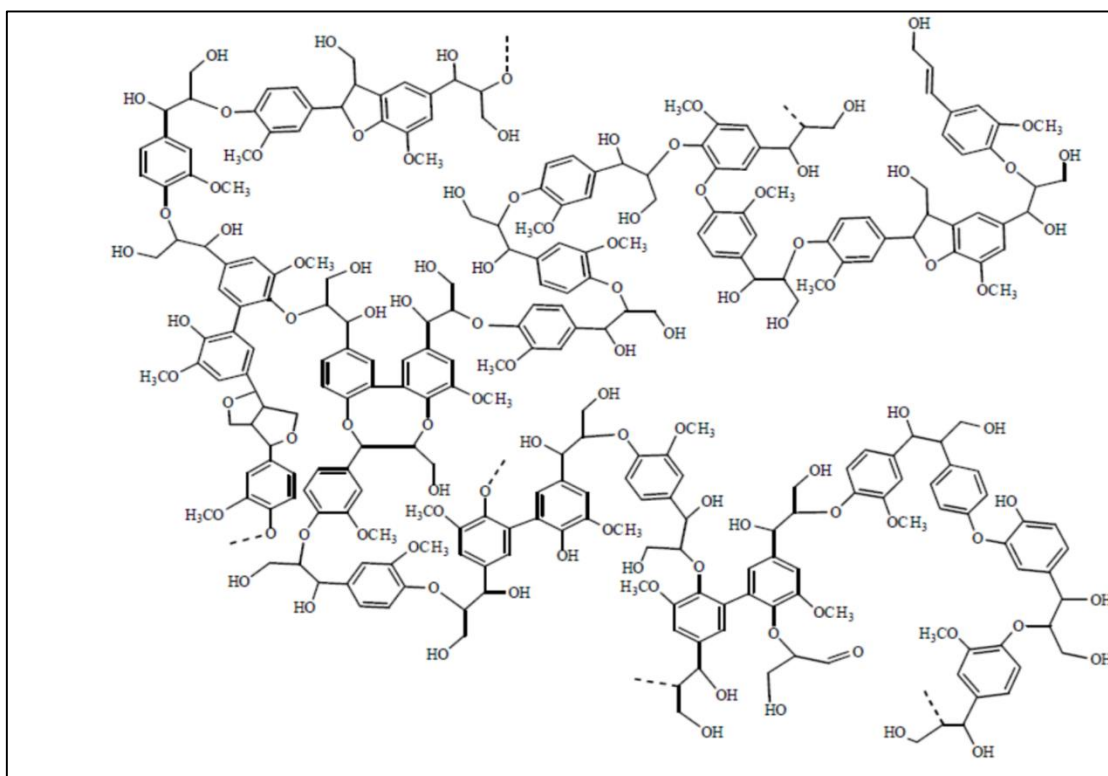
A hemicelulose encontra-se intercalada às fibras de celulose e tem a função de ligar às microfibrilas de celulose e lignina para a formação da parede celular de vegetais. Age na regulação do crescimento, elasticidade e desenvolvimento das plantas. Devido a sua estrutura amorfa, pode ser mais facilmente degradada e hidrolisada por ação de ácidos que a celulose, assim como, pode também ser atacada por enzimas (DALAGNOL, 2010; GENG et al., 2018).

### 3.3.3 Lignina

A lignina é encontrada associada a celulose e hemicelulose na composição de materiais lignocelulósicos, tanto por interações físicas, como por meio de ligações covalentes. A estrutura química da lignina apresenta variações entre as diferentes espécies vegetais, mas se apresenta como uma macromolécula fenólica com muitas ramificações, sintetizada a partir de três precursores primários majoritários, tem sua origem na desidrogenação dos álcoois cumarílico

(unidade p-hidroxifenila), coniferílico (unidade guaiacila) e sinapílico (unidade siringila) (ARAYA et al., 2015; SIQUEIRA et al., 2017; YANG et al., 2017). Uma estrutura hipotética e suas unidades encontram-se representadas na Figura 5. Os obstáculos em se determinar a estrutura da lignina estão relacionadas às dificuldades em se determinar um método para isolar esse polímero em sua forma nativa.

**Figura 5** - Estrutura da lignina.



**Fonte:** Adaptado de Souto, Calado e Pereira-JR. (2015).

Como pode-se observar na Figura 5, a lignina pode ser classificada como um polifenol, sendo organizado por um arranjo irregular de várias unidades de fenilpropano, que pode conter grupos hidroxila e metoxila como substituintes no grupo fenil. As ligações éteres dominam a união entre as unidades da lignina, que apresenta um grande número de interligações. Tem como característica a formação de uma rede tridimensional que é ligada covalentemente a celulose e hemicelulose (LAN; LIU; SUN, 2011; QUEIROZ, 2017).

Esta resina amorfa atua como um agente enrijecedor no interior das fibras. A força de adesão entre as fibras de celulose e a lignina é ampliada pela existência de ligações covalentes entre as cadeias de lignina e os constituintes da celulose e da hemicelulose (SILVA et al., 2010).

Devido ao arranjo estrutural do complexo celulose-hemicelulose-lignina e as variações entre estes três componentes dependendo da espécie da planta e outras condições climáticas e de manejo, a extração da celulose e conversão da biomassa lignocelulósica em produtos de maior valor agregado é um desafio. Geralmente, esses processos requerem processamento em várias etapas, o que inclui a realização de pré-tratamentos (mecânico, químico, biológico ou combinado) (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014). Os pré-tratamentos são necessários porque desestruturam o complexo lignocelulósico, resultando em um material mais acessível para ataque enzimático ou um material rico em celulose. A heterogeneidade da biomassa lignocelulósica torna muito difícil o processo, e é muito complicado generalizar os sistemas de pré-tratamento e o equipamento ideal para eles (GARCIA-MARAVÉ et al., 2013).

De acordo com Menon e Rao (2012), a maior parte da celulose na natureza é inadequada para extração ou bioconversão, a menos que procedimentos eficazes e economicamente viáveis sejam desenvolvidos para remover hemicelulose e lignina. Os principais obstáculos nos processos de pré-tratamento e tratamento existentes incluem separação insuficiente de celulose e lignina, formação de subprodutos que inibem a fermentação, uso de produtos químicos e/ou energia em grandes quantidades, e considerável produção de efluentes resultantes dos processos de neutralização e purificação.

#### 3.4 EXTRAÇÃO DE CELULOSE A PARTIR DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Grande parte da celulose extraída mundialmente vem da madeira, empregando-se o processo de polpação, onde a lignina e a hemicelulose são removidas da fibra por vários tipos de métodos ou pela combinação destes métodos. No Brasil, o método mais comum é o processo kraft, onde a madeira de eucalipto é a mais utilizada. Este método tem elevada demanda energética, além de riscos ambientais, e grande parte dos efluentes químicos resultantes são tóxicos à biota aquática, mesmo após tratamento. A utilização do processo de kraft se justifica na atualidade pois todos os materiais empregados apresentam baixo custo quando comparados aos insumos utilizados em outros métodos (CABRERA, 2017; MELLO; BROETTO; SIQUEIRA, 2018).

No método de kraft a madeira é submetida à reação com uma solução contendo hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na<sub>2</sub>S), conhecida por licor branco, essa mistura é mantida em digestor a altas pressões e temperaturas (160 °C). A principal função é dissolver a lignina presente na madeira. Os reagentes químicos utilizados reagem com a lignina, fragmentando-a em substâncias de baixa massa molar, que se solubilizam na solução alcalina e que podem ser removidas das fibras por inúmeras etapas de lavagem. Porém, a polpa de celulose

obtida apresenta uma coloração escura, e para obtenção de uma polpa com maiores níveis de brancura, existe uma etapa de lavagem e branqueamento, onde são aplicados tratamentos químicos geralmente envolvendo dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ), ozônio ( $\text{O}_3$ ) ou ácido peracético, depois a celulose é seca, cortada e embalada para a venda (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001; CABRERA, 2017). Legislações ambientais severas e demandas do mercado por celulose branqueada sem compostos à base de cloro ocasionaram a busca de processos alternativos de branqueamento. Por isso, novos reagentes e métodos começaram a ser utilizados e o uso de cloro drasticamente reduzido (BRASILEIRO, 1999; BRAZ, 2018).

Para extração da celulose a partir de resíduos agroindustriais, é necessário a quebra parcial da parede celular, algum tipo de pré-tratamento é crucial para a quebra da lignina que está ligada covalentemente com as moléculas de celulose e hemicelulose. A celulose pode ser hidrolisada em suas regiões amorfas dependendo do tipo de pré- tratamento empregado. Existem diversos tipos de pré-tratamento que podem ser utilizados para a descompactação da parede celular, tais como, processos físicos, químicos, físico-químicos, biológicos, e a sua combinação (REHMAN; KIM, 2013; SIQUEIRA et al., 2017).

Os pré-tratamentos físicos têm a capacidade de auxiliar no processo de extração de celulose, sem degradação da fibra de celulose. Dentre os tratamentos físicos estão incluídos a redução do tamanho de partículas, vaporização, água quente, explosão a vapor e, mais recentemente, o processo de ultrassonicação tem sido estudado. Métodos químicos também podem ser utilizados para a quebra da estrutura lignocelulósica, como por exemplo o uso de ácidos, álcalis elíquidos iônicos. Tratamentos biológicos, como uso de enzimas e microrganismos também têm sido relatados (MOON et al., 2011; JONOBI et al., 2015).

Na Tabela 3 estão apresentados alguns pré-tratamentos químicos e físicos relatados na literatura para a extração da celulose a partir de resíduos lignocelulósicos. Pode-se observar que a grande maioria dos métodos envolve a utilização de reagentes alcalinos, como o hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) e ácidos, como o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Um pré-tratamento ácido consiste no uso de ácidos concentrados ou diluídos para quebrar a estrutura rígida do material lignocelulósico e remover a hemicelulose por solubilização. O pré-tratamento alcalino resulta no rompimento da lignina da biomassa, aumentando a acessibilidade da celulose e hemicelulose às enzimas. A combinação de tratamentos ácidos e alcalinos em uma sequência resulta na remoção de hemicelulose e lignina, respectivamente, resultando em celulose relativamente pura (MENON; RAO, 2012).

Os perácidos são outro grupo de reagentes químicos que estão sendo estudados mais recentemente para deslignificação e branqueamento de polpa de celulose como uma

alternativa aos reagentes clorados convencionais, e têm mostrado bons resultados em termos de resistência, indicando baixos níveis de degradação da celulose (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001).

Neste trabalho foi empregada a combinação de um método físico, a ultrassonicação, associada ao uso do ácido peracético, para a extração da celulose do bagaço de laranja desengordurado. Pode-se perceber observando-se a Tabela 3, que a extração de celulose do bagaço de laranja empregando-se ultrassom ou ácido peracético, ou a combinação destes tratamentos, ainda não foi estudada. A utilização desses métodos associados, pode ser vantajosa para a extração de celulose, além de diminuir a utilização de reagentes prejudiciais ao meio ambiente.

**Tabela 3** - Pré-tratamentos e tratamentos utilizados para extração da celulose a partir de resíduos lignocelulósicos

<b>Pré – tratamento</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Resíduo</b>	<b>Referência</b>
Químico – NaOH	Químico - hidrólise ácida	Bagaço de cana de açúcar	SOUZA (2009); RIBEIRO (2016)
Físico – Ultrassonicação	Químico – hidrólise Alcalina NaOH	Resíduos de Palma	ABDULLAH et al. (2016)
Físico - Auto hidrólise em digestor rotativo	Químico – NaOH	Eucaliptos Globulus	ARAYA et al.(2015)
Físico - explosão a vapor	Químico – Ácido Peracético	Bagaço de cana de açúcar	SAELEE et al.(2014)
Químico - H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Químico- NaOH	Bagaço de cana de açúcar	CANDIDO; GONÇALVES (2016)
Químico – HCl	Químico- NaOH	Bagaço de laranja	EJIKEME (2008)
Químico - ácido peracético	Químico - Peróxido de hidrogênio	Casca de aveia	PASCHOAL et al., (2015)
Químico - Precipitação em acetona	Químico – NaOH	Bagaço de cana de açúcar	LAN; LIU; SUN, (2011)
Químico – NaOH	Químico- Peróxido de hidrogênio	Bagaço de cana Casca de soja Palha de milho	SOUZA et al., (2015)
Químico – NaOH	Químico -Hipoclorito de sódio	Fibra de coco verde	MACHADO et al., (2014)
Químico – NaOH	Químico - ácido peracético	Casca de arroz	NASCIMENTO et al.(2016)
Químico - Ácido nítrico	Quimico - Hidróxido de sódio	Bagaço de cana de açúcar	RODRIGUES FILHO et al. (2011)
Químico – NaOH	Químico - HCl e Ácido Sulfúrico	Casca de arroz e palha de feijão	ADEL et al., (2010)
Físico - Reator de micro pressão	Químico – Peróxido de Hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	Palmeira	YAN et al. (2009)
Quimico – NaOH	Químico - HNO <sub>3</sub>	Bagaço de cana de açúcar	CERQUEIRA; FILHO; MEIRELES, (2007)
Químico - Hidróxido de sódio	Químico - Tampão acetato e clorito de sódio aquoso (NaClO <sub>2</sub> )	Casca de soja	FLAUZINO-NETO (2012)

### 3.4.1 Ultrassonicação Para Extração De Celulose

A ultrassonicação tem sido alvo de pesquisas para a extração da celulose de materiais lignocelulósicos, por ser um método ecologicamente correto, que pode ser realizado na ausência de reagentes químicos, sem a geração de resíduos poluentes (LEE; KAZLAUSKAS; PARK, 2017).

Segundo estudos realizados por Chowdhury e Hamid (2016), a ultrassonicação se mostrou capaz de melhorar a acessibilidade e reatividade da celulose com reagentes ácidos, enquanto Aimin e colaboradores (2005) relataram que houve mudança morfológica após o tratamento celulose por ultrassom, sendo que houve aumento no grau de intumescimento das fibras, facilitando o acesso de reagentes à celulose.

O ultrassom fornece energia em forma de ondas sonoras que se propagam na matéria em frequências de 20 - 100 kHz. A transmissão acústica é causada pela interação da onda sonora com as moléculas do fluido, provocando turbulência de microescala, criando ciclos de expansão e compressão, produzindo pressão negativa, podendo gerar bolhas ou cavitação, o que causa o colapso violento que promove desagregação das fibras (CHEN et al., 2011; FRONE et al., 2011). Além disso, durante a ultrassonicação há o efeito da pressão e do calor, que podem gerar radicais livres que são capazes de promover reações químicas. A turbulência melhora a mistura e a transferência de massa na interface sólido-líquido, a dissipação de energia acústica pode induzir o movimento ao nível molecular, particularmente em macromoléculas, partículas e células suspensas. O ultrassom produz efeitos físicos e químicos permanentes, que contribuem para o pré-tratamento da fibra (BENELLI, 2010; REHMAN; KIM, 2013) .

O ultrassom tem como efeito o aumento do estresse mecânico entre os componentes da fibra, aumento da permeabilidade, facilitando a dilatação e hidratação do material por ter a capacidade de aumentar o tamanho dos poros da parede celular, melhorando o processo de difusão e de transferência de massa, podendo resultar na desestruturação da parede celular, auxiliando a saída de compostos aromáticos, além de aumentar a eficiência e redução do tempo de extração da celulose (ROHAIZU; WANROSLI, 2017; LAMANNA et al., 2018).

O tempo de ultrassonicação deve ser adequado, pois quanto maior o tempo, maior será a deslignificação da fibra, concomitantemente pode ocorrer a liberação de açúcares, podendo causar reações indesejáveis. Por exemplo, fibras que contem elevadas quantidades de amido associados em sua composição requerem um tratamento de curto tempo, pois pode ocorrer grande liberação de açúcares e a reação de deslignificação pode ser prejudicada. Outro parâmetro

que influencia a atividade do ultrassonicador é a potência, que afeta diretamente o fenômeno de cavitação, em qualquer nível de potência, o prolongamento da duração do tratamento além de um certo tempo geralmente não melhora a deslignificação da fibra. Para cada fibra lignocelulósica o nível de potência e o tempo de tratamento devem ser preliminarmente definidos para se atingir os objetivos do pré-tratamento (MOREIRA et al., 2015; BOUKROUFA et al., 2015).

A ultrassonicação excessiva pode deixar o método não viável economicamente, aumentando seu custo, além de levar à formação de subprodutos indesejáveis. O aumento da potência de sonicação geralmente encurta o período de tempo necessário do tratamento (VENTURINI; BENCHIMOL, 2012; REHMAN; KIM, 2013; MOREIRA et al., 2015).

A extração com ultrassom vem sendo relatada em diversas áreas de pesquisa, tais como, extração de compostos naturais como vitaminas, compostos antioxidantes e fitoquímicos, como hidrocarbonetos, flavonóides, alcalóides, polissacarídios, óleos, fenóis, ésteres de ácidos graxos, esteróides e antraquinonas de diferentes partes da planta e das sementes (KHAN et al., 2010; O'DONNELL et al., 2010; BOUKROUFA et al., 2015; MOREIRA et al., 2015).

#### 3.4.2 Tratamento Químico com Ácido Peracético para Extração da Celulose

Os processos convencionais de extração da fibra de celulose branqueada envolvem a utilização de reagentes clorados em uma série de etapas, no entanto, esses processos apresentam o grande inconveniente da formação de compostos organoclorados, com alta toxidez. A obtenção das fibras celulósicas por processos livres de produtos clorados ainda é um desafio. Uma alternativa é a substituição de reagentes clorados por reagentes que sejam ecologicamente corretos. Os perácidos são fortes agentes oxidantes e produzem um impacto ambiental menor, se comparados aos métodos que utilizam o cloro (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001).

Os perácidos, especialmente o ácido peracético e o ácido permonossulfúrico são considerados substitutos para os reagentes clorados, por serem espécies altamente oxidantes e por apresentarem vantagens sobre outros reagentes não clorados, tais como peróxido de hidrogênio e ozônio (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001). O uso dos perácidos resulta na produção de polpas de celulose de maior resistência e maiores índices de deslignificação, segundo Duan, Yu e Li.(2017), o tratamento de fibra de juta com ácido peracético foi eficiente e levou ao aumento do teor de celulose (80 %) devido a remoção de lignina e hemicelulose.

Para o branqueamento de polpas, os perácidos são geralmente preparados pela mistura de peróxido de hidrogênio (soluções de 50 a 70 %) e o ácido correspondente, no caso do ácido peracético, se emprega o ácido acético no preparo do reagente. Os perácidos são, em geral, preparados nas próprias fábricas de celulose pois sua elevada reatividade torna difícil o transporte e o armazenamento na forma concentrada (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001). As fábricas têxteis européias estão empregando ácido peracético no branqueamento da celulose, principalmente por ser um método branqueamento chamado de TCF (*totally chlorine free* - totalmente isento de cloro) (EL-SHAFIE; FOUUDA; HASHEM, 2009).

Na Tabela 4 estão apresentados os potenciais de redução de alguns oxidantes utilizados para a deslignificação de fibras vegetais. O potencial oxidante do ácido peracético ( $e_0 = 1,06$  V) é consideravelmente elevado e, considerando que a remoção de lignina envolve processos de oxidação, o uso de perácidos parece coerente para este fim. Porém, muito antes de serem empregados como reagentes de deslignificação, o potencial oxidante dos perácidos já era aproveitado comercialmente na síntese de epóxidos e resinas epóxi e como desinfetantes (LEE; KAZLAUSKAS; PARK, 2017).

**Tabela 4** – Potenciais de redução padrão de alguns agentes oxidantes

Semi-reação	$e_0$ , V
$O_3 + 2 H^+ + 2 e^- \rightarrow O_2 + H_2O$ (ozônio)	2,07
$H_2O_2 + 2H^+ + 2 e^- \rightarrow 2 H_2O$ (peróxido de Hidrogênio)	1,78
$HClO_2 + 3 H^+ + 4 e^- \rightarrow Cl^- + H_2O$ (ácido cloroso)	1,56
$CH_3CO_3H + 2 H^+ + 2 e^- \rightarrow CH_3CO_2H + H_2O$ (ácido peracético)	1,06
$ClO^- + H_2O + 2 e^- \rightarrow HClO_2$ (hipoclorito)	0,90
$ClO_2^- + 2 H_2O + 4 e^- \rightarrow Cl^- + 4 OH^-$ (clorito)	0,78
$O_2 + 2 H_2O + 4 e^- \rightarrow 4 OH^-$ (oxigênio)	0,40

Fonte: Brasileiro; Colodette; Piló - Veloso (2001)

Através dos estudos realizados com o ácido peracético, sabe-se que os perácidos podem reagir com a lignina através de dois mecanismos: reações de substituição/adção eletrofílica e reações nucleofílicas (BRASILEIRO, 1999; NUNES et al., 2013; DUAN; YU; LI, 2017). O ácido peracético em meio ácido é considerado um agente deslignificante altamente seletivo, devido à sua capacidade de oxidar estruturas ricas em elétrons, como os anéis aromáticos da lignina, formando quinonas e intermediários hidroxilados, mais reativos do que as estruturas iniciais. Nas reações do ácido peracético com fenóis e seus éteres metílicos já foi relatada a formação de

quinonas, hidroquinonas, quinóis, ácidos mucônicos e lactonas. A abertura dos anéis da lignina torna este composto mais solúvel, facilitando a sua remoção (JOHNSON; FARRAND, 1971; BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001; BARROS et al., 2010).

Segundo Bailey e Dence (1996) para diferentes tipos de polpas branqueadas com o ácido peracético, o aumento na concentração do perácido promove um aumento na deslignificação. Entretanto, concentrações elevadas colaboram para diminuição da seletividade do processo. Essa degradação é causada pelas espécies reativas resultantes da decomposição do perácido, cuja formação é tanto maior quanto maior for a concentração de ácido aplicado.

O controle das condições de deslignificação, que são pH, temperatura, concentração do oxidante e tempo de reação, são necessários para garantir a máxima eficiência do processo. A melhor eficiência dos perácidos tem sido observada em meio ácido e exibe melhor seletividade à lignina em temperaturas moderadas (50 ° – 70 °C), o aumento da temperatura pode promover maior solubilização dos carboidratos da polpa durante processos de branqueamento. Com o aumento da temperatura, a velocidade de hidrólise dos carboidratos aumenta. O ácido peracético apresenta uma seletividade com relação a lignina devido à sua baixa reatividade com hidroxilas alcoólicas, abundantes em celuloses e hemiceluloses, podendo reagir também com grupos ácidos ligados às xilanas da hemicelulose (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001).

Adicionalmente, o ácido peracético apresenta baixo impacto ambiental, diminuído consumo de energia, água e produtos químicos. Os produtos de degradação são oxigênio e ácido peracético, por isso é considerado um reagente de extração ambientalmente seguro (BRASILEIRO; COLODETTE; PILÓ-VELOSO, 2001; GEDIK; AVINC, 2018).

### 3.5 APLICAÇÃO DA CELULOSE

A principal aplicação da celulose é na produção de papel. A indústria brasileira de papel tem destaque mundial, no ano de 2017 o Brasil produziu 10,3 milhões de toneladas de papel (IBA, 2018). Porém, a celulose possui outros tipos de aplicações, como por exemplo a produção de etanol celulósico, usos na indústria têxtil, farmacêutica, de cosméticos, alimentos e ainda, na indústria química como material de reforço para polímeros sintéticos e biodegradáveis (GAZZOTTI et al., 2017).

O etanol ou álcool etílico (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) é produzido pela fermentação dos açúcares encontrados em produtos vegetais. O novo conceito de etanol celulósico ou bioetanol, corresponde a sua fabricação utilizando como matéria-primas os resíduos de produtos naturais ou biomassa

lignocelulósica. A produção de etanol com base na biomassa lignocelulósica utiliza processos químicos, empregando-se ácidos e álcalis, ou da biotecnologia moderna, empregando enzimas, para a sacarificação da celulose e produção de açúcares fermentescíveis, para então produzir o etanol por meio de processos fermentativos alcoólicos da biotecnologia convencional (SANTOS et al., 2012).

Na indústria farmacêutica, os biopolímeros vem sendo muito estudados em incorporações em diferentes formas farmacêuticas, visando diferentes funções, como mascarar odor e sabor desagradáveis, proteger o fármaco de condições agressivas do meio ambiente (luz e umidade) e do microambiente fisiológico, auxiliar no processo produtivo e para modular a liberação do fármaco. Os medicamentos inovadores orais sólidos podem apresentar liberação retardada ou liberação controlada (prolongada) do fármaco. Há um grande número de comprimidos matriciais de liberação modificada comercialmente disponíveis. Na grande maioria, o polímero que controla a liberação é a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), um derivado da celulose (GARDENAL, 2010; VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2014).

Celulose e seus derivados também são utilizados na indústria farmacêutica e de cosméticos para produção de géis hidrofílicos, tendo um aumento na sua aplicação devido à sua fácil espalhabilidade e por não serem gordurosos, facilitando a adesão de pacientes ao veicularem ativos dessas indústrias (SILVA et al., 2011).

A celulose e seus derivados têm vasta aplicação no preparo de alimentos formulados. As funções dos derivados de celulose quimicamente modificados são principalmente a regulação das propriedades reológicas, emulsificação, estabilização de espumas, modificação da formação e do crescimento de cristais de gelo e capacidade de ligação à água (TONELI; MURR; PARK, 2005).

A celulose ainda pode ser empregada como reforço em materiais poliméricos, como por exemplo, em embalagens biodegradáveis produzidas a partir de biopolímeros, em decorrência da boa adesão desses materiais (MERCY et al., 2015). Os polímeros biodegradáveis são definidos como plásticos degradados por microrganismos, como bactérias, fungos ou algas. Alguns exemplos de polímeros biodegradáveis são os compostos de amido, o polivinil álcool e polilactatos. Apesar da fácil degradação natural, as embalagens à base de amido apresentam desvantagens tais como, baixa flexibilidade, baixa estabilidade ao armazenamento em elevadas umidades relativas e elevado custo se comparadas as embalagens convencionais, logo precisam de tratamentos especiais, tais como a adição de fibras celulósicas, plastificantes, entre outros aditivos (DEBIAGI et al., 2010).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Para este trabalho foi utilizado bagaço de laranja desengordurado doado pela indústria de suco Prats localizada em Paranaíba - PR. O bagaço de laranja foi moído até granulometria adequada e tamizado (40 – 80 mesh), para garantir a homogeneidade quanto ao tamanho das partículas utilizadas. O ácido acético glacial e o peróxido de hidrogênio foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e empregados na produção do ácido peracético pela mistura de 50 % de ácido acético, 38 % de peróxido de hidrogênio e 12 % de água destilada (PASCHOAL et al., 2015).

### 4.2 PRÉ – TRATAMENTO UTILIZANDO ULTRASSOM

Inicialmente, o bagaço de laranja seco foi disperso em água destilada em recipiente tipo Becker de 500 mL (10 % m / v). Em seguida, a suspensão foi submetida ao processo de ultrassonicação por diferentes tempos (Tabela 5). Foi utilizado um ultrassonicador *Fisher Scientific* modelo 505 (Pittsburgh, PA - EUA), com potência de 500 W, empregando-se ponteira Fisher Scientific modelo FB 4219, com 1,27 cm de diâmetro. Durante esse processo, a temperatura dos materiais foi controlada (25 °C) utilizando banho de gelo para evitar superaquecimento, a amplitude de vibração teve variações para cada amostra, de acordo com o método descrito por (AIMIN et al., 2005) com modificações, demonstrados na Tabela 5. Após o tratamento, o excesso de água foi removido por filtração a vácuo, o material foi seco a 60 °C em estufa com circulação de ar (Marconi MA 035, Piracicaba, Brasil) por 24 h.

**Tabela 5** - Descrição das condições de ultrassonicação.

<b>Amostra</b>	<b>Tratamento Empregado</b>
BL	Fibra de laranja <i>in natura</i>
US.1	10 minutos / 30 % amplitude
US.2	30 minutos / 30 % amplitude
US.3	10 minutos / 50 % amplitude
US.4	30 minutos / 50 % amplitude
US.5	20 minutos / 40 % amplitude

### 4.3 COMBINAÇÃO DA ULTRASSONICAÇÃO SEGUIDA DA DESLIGNIFICAÇÃO COM ÁCIDO PERACÉTICO PARA A EXTRAÇÃO DA CELULOSE DO BAGAÇO DE LARANJA

Para o estudo da combinação dos tratamentos, inicialmente, o BL (10 g) foi tratado com 250 ml de PA e submetido ao pré-tratamento em ultrassonicador. Durante o pré-tratamento com o ultrassonicador a amplitude de vibração foi mantida a 30 % por 10 min (parâmetros estes determinados através dos resultados do ensaio anterior, item 4.2). Em seguida, as suspensões foram mantidas em agitador mecânico com temperatura controlada 60 °C, sob diferentes tempos de tratamento (Tabela 6). Em seguida, as amostras foram filtradas a vácuo, lavadas com água destilada até o pH 6 e secas a 60 °C durante 24 h em estufa de circulação de ar, de acordo com método descrito por Paschoal et al. (2015).

Para se avaliar o efeito do tratamento químico com ácido peracético, sem a influência da ultrassonicação, o bagaço de laranja foi submetido ao mesmo tratamento com ácido peracético em 3 diferentes tempos (1, 12 e 24 h), conforme descrito na Tabela 6.

**Tabela 6** - Descrição dos tratamentos combinando ultrassonicação seguida de tratamento com ácido peracético.

<b>Amostra</b>	<b>Ultrassonicador</b>	<b>Tratamento Químico (Ácido Peracético) 60 °C</b>
PA.1	-	1 h em agitação
PA.12	-	12 h em agitação
PA.24	-	24 h em agitação
USPA.1	10 min / 30 % amplitude	1 h em agitação
USPA.12	10 min / 30 % amplitude	12 h em agitação
USPA.24	10 min / 30 % amplitude	24 h em agitação

### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE LARANJA E DA CELULOSE PURIFICADA

#### 4.4.1 Composição Centesimal

Amostras de bagaço de laranja com granulometria entre 48 e 80 mesh foram utilizadas para análise de composição centesimal (umidade, cinzas, lipídios, proteínas e fibras totais, solúveis e insolúveis) segundo métodos da AOAC (2003). O teor de carboidratos totais foi calculado por diferença (FORCE, 2006).

#### 4.4.2 Teor de Lignina Insolúvel

O teor de lignina insolúvel foi determinado, em triplicata, no bagaço de laranja *in natura* e nas amostras de celulose extraídas do bagaço, de acordo com metodologia proposta por GOUVEIA et al. (2009). Cerca de 2 g das amostras secas foram transferidas para béqueres de 100 mL e tratadas com 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72 % (v / v) em banho-maria a 45 °C, por 7 min sob agitação vigorosa. Em seguida, as amostras foram transferidas quantitativamente para Erlenmeyers de 500 mL, foram adicionados 275 mL de água destilada, os frascos foram fechados com papel alumínio, autoclavados por 30 min sob temperatura de 121 °C e resfriados a temperatura ambiente.

A fração sólida foi separada através de filtração a vácuo em papel filtro qualitativo, previamente seco e pesado. O material retido no papel de filtro foi lavado com água destilada e seco em estufa ventilada, sob temperatura de 35 °C até peso constante. A porcentagem de lignina insolúvel foi calculada de acordo com a Equação 1:

$$\% L_{Ki} = \frac{M_K - M_C}{M_A} * 100$$

Eq. 1

Onde LKi: Lignina insolúvel; MK: Massa de lignina insolúvel seca; MC: massa de cinzas; MA: Massa da amostra seca.

#### 4.4.3 Teores de Celulose e Hemicelulose

Os teores de celulose e hemicelulose foram determinados, em triplicata, de acordo com a metodologia proposta por Van Soest (1965) com modificações, a partir das determinações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). Foram pesadas 0,5 g da amostra em Erlenmeyers de 100 ml e adicionados 50 ml de reagente (detergente neutro ou detergente ácido). Os Erlenmeyers foram tampados com papel alumínio e colocados em banho-Maria por 1 hora, cada amostra foi lavada e filtrada a vácuo até que parasse de espumar e, uma última lavagem foi realizada com 40 ml de acetona. Cada amostra foi seca em estufa a 60 °C por 24 horas e pesada. Após a pesagem, cada amostra passou por outra secagem em estufa a 105 °C por 1 hora e foi pesada novamente. Os resultados de cada pesagem, de ambos os procedimentos, foram utilizados para o cálculo das porcentagens em FDN e FDA (Eq.2 e Eq.3, respectivamente).

$$\%FND = \frac{(\text{Peso da amostra final})}{\text{Peso da amostra inicial (base seca)}} \times 100$$

Eq.2

$$\%FDA = \frac{(\text{Peso da amostra final})}{\text{Peso da amostra inicial (base seca)}} \times 100$$

Eq.3

O teor de hemicelulose foi calculado por (% FDN - % FDA). E o teor de celulose por (% FDA - % Lignina).

#### 4.4.4 Difração De Raios-X (DRX)

Para análise de difração de raios-X foi empregado difratômetro Panalytical X'Pert PRO MPD (Netherlands) do Laboratório de Análise por Raios-X da Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa da UEL. As condições de análise empregadas: voltagem e corrente de - 40 kV e 40 mA; faixa de varredura de  $2\theta = 2$  a  $2\theta = 60^\circ$ ; passo -  $0,1^\circ$  e velocidade  $1^\circ / \text{min}$ ; dotado de monocromador de feixe secundário de grafite.

O índice de cristalinidade (IC) foi calculado pelo método de Segal et al. (1959), conforme a Equação 4.

$$IC = \frac{(I_{002} - I_{am}) \times 100}{I_{002}}$$

Eq.4

Onde, *IC* se refere ao índice de cristalinidade da celulose, *I<sub>002</sub>* a intensidade máxima do pico correspondente ao plano (002) ( $2\theta = 20 - 22^\circ$ ), e *I<sub>am</sub>* a intensidade da parte amorfa, que pode ser considerada como a intensidade mínima entre os picos de difração dos planos (002) ( $2\theta = 16 - 18^\circ$ ).

#### 4.4.5 Espectroscopia No Infravermelho Com Transformada De Fourier (FT-IR)

Foi utilizado o método de leitura da amostra em pastilha de brometo de potássio (KBr). As amostras foram colocadas em estufa com circulação de ar (Marconi MA 035) a  $105^\circ\text{C}$

por 4 horas, pulverizadas e mantidas em dessecador contendo cloreto de cálcio anidro por 1 semana. Após esse período, as amostras pulverizadas e secas foram incorporadas ao KBr e submetidas a alta pressão para a produção das pastilhas. O experimento foi conduzido em aparelho Shimadzu FTIR-8300 com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ , utilizando-se uma escala de  $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$ . Os resultados foram integrados por programa Shimadzu Hyper IR.

#### 4.4.6 Isotermas De Sorção De Água

As amostras foram secas em a estufa de circulação de ar por 24 horas sob temperatura de  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após este tempo, foram colocadas em dessecador contendo cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) anidro, à  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante 7 dias, para desidratação.

Em seguida, as amostras foram colocadas em dessecadores contendo diferentes soluções saturadas de sais para o ajuste das diferentes umidades relativas (UR) (Tabela 7). Após 7 dias, as amostras foram pesadas em balança analítica e suas massas anotadas. Então, foi determinado o teor de umidade no equilíbrio das amostras submetidas às diferentes UR, através da secagem das mesmas em estufa a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 4 horas.

**Tabela 7** - Preparo das soluções saturadas.

Sal	UR (%)	Sal (g)	Água (mL)
Cloreto de lítio ( $\text{LiCl}$ )	11	150	85
Cloreto de magnésio ( $\text{MgCl}_2$ )	33	200	25
Brometo de sódio ( $\text{NaBr}$ )	58	200	80
Cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ )	75	200	60
Cloreto de bário ( $\text{BaCl}_2$ )	90	250	70

**Fonte:** Proprio autor.

As isotermas de sorção de água foram obtidas pela plotagem dos dados de umidade no equilíbrio *versus* a atividade de água (UR/100) armazenamento. Foi utilizado o modelo de Guggenheim - Anderson - de Boer (GAB) (WOLF, 1984), conforme apresentado na Equação 5, para ajuste de dados.

$$X_W = \frac{C.k.m_0.a_W}{[(1-k.a_W).(1-k.a_W+C.k.a_W)]}$$

Eq.5

Onde  $X_w$  é a umidade de equilíbrio (g água / 100 g de massa seca),  $a_w$  a atividade de água,  $m_0$  o teor de água na monocamada,  $C$  a constante de GAB, que representa o calor de sorção na primeira camada e  $k$  é o calor de sorção das multicamadas. Os parâmetros do modelo de GAB foram determinados por regressão não-linear, usando o Software Statistica 7.0 (Statsoft, Oklahoma, EUA).

#### 4.4.7 Análise Estatística

Para a análise estatística dos resultados obtidos foi empregado o programa computacional Statistica versão 7.0 (Statsoft, Oklahoma, USA). Foi realizado teste de Tukey (nível de significância de 5 %) para comparação de médias.

## 5 Referências Bibliográficas

- ABDULLAH, M. A.; NAZIR, M. S.; RAZA, M. R.; WAHJOEDI, B. A.; YUSSOF, A. W. Autoclave and ultra-sonication treatments of oil palm empty fruit bunch fibers for cellulose extraction and its polypropylene composite properties. **Journal of Cleaner Production**, v. 126, p. 686–697, 2016.
- ADEL, A. M.; EL-WAHAB, Z. H. A.; IBRAHIM, A. A.; AL-SHEMY, M. T. Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials. Part I. Acid catalyzed hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 12, p. 4446–4455, 2010.
- AIMIN, T.; HONGWEI, Z.; GANG, C.; GUOHUI, X.; WENZHI, L. Influence of ultrasound treatment on accessibility and regioselective oxidation reactivity of cellulose. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 12, n. 6, p. 467–472, 2005.
- ALEXANDRINO, A. M.; FARIA, H. G.; SOUZA, C. G. M. de; PERALTA, R. M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus*. **Food Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 364–366, 2007.
- ANWAR, Z.; GULFRAZ, M.; IRSHAD, M. Agro-Industrial Lignocellulosic Biomass a Key to Unlock the Future Bio-Energy: A Brief Review. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 7, p. 163-173, 2014.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th ed. Washington: AOAC; 2003.
- ARAYA, F.; TRONCOSO, E.; MENDONÇA, R. T.; FREER, J.; RENCORET, J.; DEL RÍO, J. C. Structural characteristics and distribution of lignin in eucalyptus globulus pulps obtained by a combined autohydrolysis/alkaline extraction process for enzymatic saccharification of cellulose. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 60, n. 2, p. 2954–2960, 2015.
- BAILEY, C. W.; DENCE, C. W. Peroxyacetic acid bleaching of chemical pulps. **Tappi**, v. 49, n. 1, p. 9-15, 1996.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BARROS, D. P. **Aplicação do ácido peracético no branqueamento da polpa de eucalipto e o impacto na sua qualidade**. 2008. 165 fls Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2008.
- BEN ABDELAALI, S.; RODRIGO, M. J.; SADDOD, O.; ZACARÍAS, L.; HAJLAOUI, M. R.; MARS, M. Carotenoids and colour diversity of traditional and emerging Tunisian orange cultivars (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). **Scientia Horticulturae**, v. 227, n. September 2017, p. 296–304, 2018..
- BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (citrus sinensis l. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BENEVIDES, L. C. **Pirólise do bagaço de laranja : análise cinética dos estágios de secagem e devolatização**. 2015. Dissertação (Mestrado em Energia) - Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2015.

BICU, I.; MUSTATA, F. Optimization of isolation of cellulose from orange peel using sodium hydroxide and chelating agents. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 341–348, 2013.

BOUKROUFA, M.; BOUTEKEDJIRET, C.; PETIGNY, L.; RAKOTOMANOMANA, N.; CHEMAT, F. Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 24, p. 72–79, 2015.

BRASILEIRO, L. B. **A Utilização de perácidos no branqueamento e na deslignificação de polpas kraft**. 1999. 250 fls. Tese de Doutorado (Doutorado em Química). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 1999.

BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J. L.; PILÓ-VELOSO, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 819–829, 2001.

BRUM, S. S.; OLIVEIRA, L. C. A. de; BIANCHI, M. L.; GUERREIRO, M. C.; OLIVEIRA, L. K. de; CARVALHO, K. T. G. Síntese de acetato de celulose a partir da palha de feijão utilizando N-bromossuccinimida (NBS) como catalisador. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 447–452, 2012.

CABRERA, M. N. Pulp Mill Wastewater: Characteristics and Treatment. **Biological Wastewater Treatment and Resource Recovery**, v. 7, 2017.

CAMARGO, L. A.; DENTILLO, D. B.; CARDELLO, L. Utilização de bagaço de laranja na produção de pectinases de aspergillus sp. **Alimentação e Nutrição**, v. 16, p. 153–156, 2005.

CANDIDO, R. G.; GONÇALVES, A. R. Synthesis of cellulose acetate and carboxymethylcellulose from sugarcane straw. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 679–686, 2016.

CERQUEIRA, D. A.; FILHO, G. R.; MEIRELES, C. da S. Optimization of sugarcane bagasse cellulose acetylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 3, p. 579–582, 2007.

CHEN, W.; YU, H.; LIU, Y.; CHEN, P.; ZHANG, M.; HAI, Y. Individualization of cellulose nanofibers from wood using high-intensity ultrasonication combined with chemical pretreatments. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1804–1811, 2011.

CHOWDHURY, Z. Z.; HAMID, S. B. A. Preparation and characterization of nanocrystalline cellulose using ultrasonication combined with a microwave - assisted pretreatment process. **Bioresources**, v. 2, n. 11, p. 3397 - 3415, 2016.

COSCIA, M. G.; BHARDWAJ, J.; SINGH, N.; SANTONICOLA, M. G.; RICHARDSON, R.; THAKUR, V. K.; RAHATEKAR, S. Manufacturing & characterization of regenerated cellulose/curcumin based sustainable composites fibers spun from environmentally benign solvents. **Industrial Crops and Products**, v. 111, n. September 2017, p. 536–543, 2018.

CYPRIANO, D. Z.; SILVA, L. L.; TASIC, L.; High value-added products from the orange juice

industry waste, 09/2018, **Waste Management (Elmsford)**, v. 79, p.71-78, 2018.

DALAGNOL, L. M. G. **Avaliação do uso do ultrassom na extração do mosto da uva cabernet sauvignon e na atividade enzimática**. 2010. Dissertação de mestrado (Mestrado em m Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

DÁVILA, J. A.; ROSENBERG, M.; CARDONA, C. A. Techno-economic and Environmental Assessment of p-Cymene and Pectin Production from Orange Peel. **Biomass Valorization**, v. 6, n. 2, p. 253–261, 2015. ]

DEBIAGI, F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Efeito de fibras vegetais nas propriedades de compósitos biodegradáveis de amido de mandioca produzidos via extrusão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 6, p. 1522-1529, 2010.

DUAN, L.; YU, W.; LI, Z. Analysis of structural changes in jute fibers after peracetic acid treatment. **Journal of Engineered Fibers and Fabrics**, v. 12, n. 1, p. 33–42, 2017..

EGBUONU, A.; OSUJI, C. Proximate Compositions and Antibacterial Activity of Citrus sinensis (Sweet Orange) Peel and Seed Extracts. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 12, n. 3, p. 1–7, 2016.

EJIKEME, P. M. Investigation of the physicochemical properties of microcrystalline cellulose from agricultural wastes I: Orange mesocarp. **Cellulose**, v. 15, n. 1, p. 141–147, 2008.

ELSHAFIE, A.; FOUUDA, M. M. G.; HASHEM, M. One-step process for bio-scouring and peracetic acid bleaching of cotton fabric. **Carbohydrate polymers**, v. 78, n. 2, p. 302- 308, 2009.

EMBRAPA AGROENERGIA. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agroenergia>> Acesso em: 13 Novembro 2018.

FARINAS, C. S.; LEMO, V.; RODRÍGUES-ZUÑIGA, U. F.; BERTUCCI NETO, V.; COURI, S. Avaliação de Diferentes Resíduos Agroindustriais como Substratos para a Produção de Celulases por Fermentação Semi-sólida. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - EMBRAPA**, v. 22, p. 16, 2008.

FORSTER-CARNEIRO, T.; BERNI, M. D.; DORILEO, I. L.; ROSTAGNO, M. A. Biorefinery study of availability of agriculture residues and wastes for integrated biorefineries in Brazil. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 77, p. 78–88, 2013.

FLAUZINO NETO, W. P. **Extração e caracterização de nanocristais de celulose a partir de casca de soja e sua aplicação como matriz carboximetilcelulose**. 2012. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

FRANCISCO, V. C. B. **Resíduos de laranja como fonte direta de lipases: obtenção, caracterização bioquímica e aplicações**. 2017. Dissertação de mestrado (Mestrado em Biotecnologia) - UNESP, Botucatu, 2017.

FRONE, A. N.; PANAITESCU, D. M.; SPATARU, D. D.; RADOVICI, C.; TRUSCA, R.; SOMOGHI, R. Preparation and characterization of PVA composites with cellulose nanofibers obtained by ultrasonication. **BioResources**, v. 6, n. 1, p. 487–512, 2011.

GARCIA-MARAVERA, A.; SALVACHÚA, D.; MARTINEZ, M.J.; DIAZ, L. F.; ZAMORANO, M. Analysis of the relation between the cellulose, hemicellulose and lignin content and the thermal behavior of residual biomass from olive trees. **Waste Management**, v. 33, n. 11, p. 2245-2249, 2013.

GAZZOTTI, S.; FARINA, H.; LESMA, G.; RAMPAZZO, R.; PIERGIOVANNI, L.; ORTENZI, M. A.; SILVANI, A. Polylactide/cellulose nanocrystals: The in situ polymerization approach to improved nanocomposites. **European Polymer Journal**, v. 94, p. 173–184, 2017.

GEDIK, G.; AVINC, O. Bleaching of Hemp (*Cannabis Sativa* L.) Fibers with Peracetic Acid for Textiles Industry Purposes. **Fibers and Polymers**, v. 19, n. 1, p. 82–93, 2018.

GENG, W.; VENDITTI, R. A.; PAWLAK, J. J.; CHANG, H. Effect of Delignification on Hemicellulose Extraction from Switchgrass, Poplar, and Pine and Its Effect on Enzymatic Convertibility of Cellulose-rich Residues. **BioResources**, v. 13, n. May, p. 4946–4963, 2018.

GIESE, E. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA, A. M. Orange bagasse as substrate for the production of pectinase and laccase by *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05 in submerged and solid state fermentation. **BioResources**, v. 3, n. 2, p. 335–345, 2008.

GOMES, T. L. C.; LOBO, J. S.; CARVALHO, T. E. A.; PRADO, M. M. Estudo experimental da fluidodinâmica do bagaço de laranja em leite fluidizado. **Scientia Plena**, v. 12, n. 5, p. 1–10, 2016.

GOUVEIA, E. R.; DO NASCIMENTO, R. T.; SOUTO-MAIOR, A. M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500 - 1503, 2009

GUO, Q.; LIU, K.; DENG, W.; ZHONG, B.; YANG, W.; CHUN, J. Chemical composition and antimicrobial activity of Gannan navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck cv. Newhall) peel essential oils. **Food Science & Nutrition**, n. April, p. 1–7, 2018.

IBÁ / GUILHERME BALCONI. Celulose. **Ibá**, 2015. Disponível em: <<http://www.iba.org/web/pt/nossos-produtos/celulose.htm>>. Acesso em: 20 outubro 2018.

JONOBI, M.; OLADI, R.; DAVOUDPOUR, Y.; OKSMAN, K.; DUFRESNE, A.; HAMZEH, Y.; DAVOODI, R. Different preparation methods and properties of nanostructured cellulose from various natural resources and residues: a review. **Cellulose**, v. 22, n. 2, p. 935–969, 2015.

JOHNSON, D. C.; FARRAND, J. C. Peroxyacetic acid oxidation of 4-methylphenols and their methyl ethers. **J. Org. Chem.**, v. 36, p. 3606–3612, 1971.

KALAKI, R. B.; NEVES, M. F.; KALAKI, R. B.; NEVES, M. F. Plano estratégico para o sistema agroindustrial citrícola brasileiro. **Gestão & Produção**, v. 24, n. 2, p. 338–354, 2017.

KHAN, M. K.; ABERT-VIAN, M.; DANGLES, O.; CHEMAT, F. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols ( flavanone glycosides ) from orange ( *Citrus sinensis* L . ) peel. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 851–858, 2010.

LAM, S. S.; LIEW, R. K.; WONG, Y. M.; AZWAR, E.; JUSOH, A.; WAHI, R. Activated Carbon for Catalyst Support from Microwave Pyrolysis of Orange Peel. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 6, p. 2109–2119, 2017.

- LAMANNA, L.; RIZZI, F.; DEMITRI, C.; PISANELLO, M.; SCARPA, E.; QUALTIERI, A.; SANNINO, A.; DE VITTORIO, M. Determination of absorption and structural properties of cellulose-based hydrogel via ultrasonic pulse-echo time-of-flight approach. **Cellulose**, v. 25, n. 8, p. 4331–4343, 2018.
- LAN, W.; LIU, C. F.; SUN, R. C. Fractionation of bagasse into cellulose, hemicelluloses, and lignin with ionic liquid treatment followed by alkaline extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 16, p. 8691–8701, 2011.
- LEE, H. R.; KAZLAUSKAS, R. J.; PARK, T. H. One-step pretreatment of yellow poplar biomass using peracetic acid to enhance enzymatic digestibility. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017a.
- LEE, H. R.; KAZLAUSKAS, R. J.; PARK, T. H. Mild pretreatment of yellow poplar biomass using sequential dilute acid and enzymatically-generated peracetic acid to enhance cellulase accessibility. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 22, n. 4, p. 405–412, 2017b.
- LESSA, E. F.; GULARTE, M. S.; GARCIA, E. S.; FAJARDO, A. R. Orange waste: A valuable carbohydrate source for the development of beads with enhanced adsorption properties for cationic dyes. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 660–668, 2017.
- MA, E.; CERVERA, Q.; MEJÍA SÁNCHEZ, G. M. Integrated utilization of orange peel. **Bioresource Technology**, v. 44, n. 1, p. 61–63, 1993.
- MACAGNAN, F. T.; DOS SANTOS, L. R.; ROBERTO, B. S.; MOURA, F. A.; BIZZANI, M.; DA SILVA, L. P. Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v.22, n. 6, p 1-6, 2015.
- MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O.; DA SILVA, J. B.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. **Química Nova**, v. 37, n. 8, p. 1275–1282, 2014.
- MAMMA, D.; KOURTOGLOU, E.; CHRISTAKOPOULOS, P. Fungal multienzyme production on industrial by-products of the citrus-processing industry. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2373–2383, 2008.
- MARÍN, F. R.; SOLER-RIVAS, C.; BENAVENTE-GARCÍA, O.; CASTILLO, J.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A. By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 736–741, 2007.
- MARTINI, P. R. R. **Conversão pirolítica de bagaço residual da indústria de suco de laranja e caracterização química dos produtos**. 2009. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), Santa Maria, 2009.
- MELLO, F. A.; BROETTO, J.; SIQUEIRA, L. Principais questões ambientais. **O Papel**, v. 79, n. April, p. 70–77, 2018.
- MENON, V.; RAO, M. Trends in Bioconversion of Lignocelluloses: Biofuel, Platform Chemicals & Biorefinery Concept. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, p. 522-550, 2012.

MERCI, A.; URBANO, A.; GROSSMANN, M. V. E.; TISCHER, C. A.; MALI, S. Properties of microcrystalline cellulose extracted from soybean hulls by reactive extrusion. **Food Research International**, v. 73, p. 38–43, 2015.

MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 7, p. 3941–3994, 2011.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. D. F.; DE SOUZA FILHO, M. D. S. M.; NASCIMENTO, L. D.; DO NASCIMENTO, D. M.; CASSALES, A. R. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 229–235, 2013.

MOREIRA, M. E. S.; JUNIOR, C. G. H.; MELLO, P. de A.; OURIQUE, A. F.; MORTARI SERGIO ROBERTO. Influência De Ultrasonicação No the Ultrasonication Influence on the Average Diameter of Liposomal Vesicles. **Disciplinarum Scientia**, v. 16, n. 2, p. 177–185, 2015.

NASCIMENTO, P.; MARIM, R.; CARVALHO, G.; MALI, S. Nanocellulose Produced from Rice Hulls and its Effect on the Properties of Biodegradable Starch Films. **Materials Research**, v. 19, n. 1, p. 167–174, 2016.

NOGUEIRA, D. P. **Redutores totais a partir do bagaço de laranja ( citrus sinenses ) por hidrólises ácida diluída e enzimática**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, Goiânia, 2016.

NUNES, R. DE M.; GUARDA, E. A.; CARLOS, J.; SERRA, V.; MARTINS, Á. A. Resíduos agroindustriais: potencial de produção do etanol de segunda geração no Brasil. **Liberato**, v. 14, n. 22, p. 113–123, 2013.

O'DONNELL, C. P.; TIWARI, B. K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 7, p. 358–367, 2010.

OROZCO, R. S.; HERNÁNDEZ, P. B.; MORALES, G. R.; NÚÑEZ, F. U.; VILLAFUERT, J. O.; LUGO, V. L.; RAMÍREZ, N. F.; DÍAZ, C. E.; VÁZQUEZ, P. C. Characterization of lignocellulosic fruit waste as an alternative feedstock for bioethanol production. **BioResources**, v. 9, n. 2, p. 1873-1885, 2014.

PADZIL, F. N. M.; ZAKARIA, S.; CHIA, C. H.; JAAFAR, S. N. S.; KACO, H.; GAN, S.; NG, P. Effect of acid hydrolysis on regenerated kenaf core membrane produced using aqueous alkaline-urea systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, p. 164–171, 2015.

PASCHOAL, G. B.; MULLER, C. M. O.; CARVALHO, G. M.; TISCHER, C. A.; MALI, S. Isolation and characterization of nanofibrillated cellulose from oat hulls. **Química Nova**, v. 38, n. 10, p. 1374–1378, 2015.

QUEIROZ, V. L. **Caracterização de celulase recombinante de xanthomonas axonopodis pv. Citri para aplicação à hidrólise enzimática do bagaço de laranja**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

REHMAN, M.; KIM, I. Use of ultrasound in the production of bioethanol from lignocellulosic biomass. **Energy Science and Research**, v. 30, n. 2, p. 1391–1410, 2013.

- REZZADORI, K.; BENEDETTI, S.; AMANTE, E. R. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 4, p. 606–614, 2012.
- RIBEIRO, S. D. **Obtenção do triacetato de celulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar para revestimento de micropartículas de goma gelana e avaliação do seu perfil de liberação in vitro e da mucoadesão ex vivo**. 2016. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlandia, 2016.
- RIVAS, B.; TORRADO, A.; TORRE, P.; CONVERTI, A.; DOMÍNGUEZ, J. M. Submerged citric acid fermentation on orange peel autohydrolysate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 7, p. 2380–2387, 2008.
- RODRIGUES FILHO, G.; RIBEIRO, S. D.; MEIRELES, C. da S.; DA SILVA, L. G.; RUGGIERO, R.; FERREIRA, M. F.; CERQUEIRA, D. A.; DE ASSUNÇÃO, R. M. N.; ZENI, M.; POLLETO, P. Release of doxycycline through cellulose acetate symmetric and asymmetric membranes produced from recycled agroindustrial residue: Sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 3, p. 566–571, 2011.
- ROHAIZU, R.; WANROSLI, W. D. Sono-assisted TEMPO oxidation of oil palm lignocellulosic biomass for isolation of nanocrystalline cellulose. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 631–639, 2017.
- SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012
- SAELEE, K.; YINGKAMHAENG, N.; NIMCHUA, T.; SUKYAI, P. Extraction and characterization of cellulose from sugarcane bagasse by using environmental friendly method. In: ANNUAL MEETING OF THE THAI SOCIETY FOR BIOTECHNOLOGY AND INTERNATIONAL CONFERENCE, n. 26, 2014 Tailandia. **Anais de meeting of the thai society for biotechnology and international conference**.2014.
- SERAFIM, R. A. **Efeito da aplicação de extrato de erva-mate (ilex.paraguariensis) assistido por ultrassom na estabilidade oxidativa de linguiça suína**. 2016. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Londrina, 2016.
- SILVA, P. H. F. **Fracionamento da biomassa lignocelulósica pelo processo organosolv**. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Química e Biológica) - UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB , Brasília, 2017.
- SILVA, D. M.; MUSIAL, D. C.; ALTMAYER, C.; VALENTINI, S. A. Obtenção de derivado de celulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar com potencial aplicação nas indústrias farmacêutica e cosmética. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 41-45, 2011.
- SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1682–1685, 2010.
- SIQUEIRA, G.; ARANTES, V.; SADDLER, J. N.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F. Limitation of cellulose accessibility and unproductive binding of cellulases by pretreated

- sugarcane bagasse lignin. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2017.
- SOUSA, B.; CORREIA, R. T. P. Biotechnological reuse of fruit residues as a rational strategy for agro-industrial resources. **Journal of Technology Management and Innovation**, v. 5, n. 2, p. 104–112, 2010.
- SOUTO, F.; CALADO, V.; PEREIRA JUNIOR, N. Carbon fiber from lignin: a literature review. *Revista Matéria*, v. 20, n. 1, p 100 -114, 2015.
- SOUZA, E. E. Síntese e caracterização de membranas de celulose **regenerada a partir da celulose extraída do bagaço de cana-de-açúcar para produção de cuprofane**. 2009. Dissertação (mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.
- SOUZA, E. E. DE; VALE, R. D. S.; VIEIRA, J. G.; RIBEIRO, S. D.; RODRIGUES FILHO, G.; MARQUES, F. A.; ASSUNÇÃO, R. M. N. DE; MEIRELES, C. D. S.; BARUD, H. D. S. Preparation and characterization of regenerated cellulose membranes using cellulose extracted from agroindustrial residues for application in separation processes. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2336–2340, 2015.
- SOUZA JUNIOR, H.; SOUZA, B.; VICTÓRIA, R.; FERNANDES, D. B.; BORGES, S. V.; HENRIQUE, P.; FELIX, C.; VIANA, L. C.; MARIA, A.; LAGO, T.; BOTREL, D. A. Utility of Blended Polymeric Formulations Containing Cellulose Nanofibrils for Encapsulation and Controlled Release of Sweet Orange Essential Oil Utility of Blended Polymeric Formulations Containing Cellulose Nanofibrils for Encapsulation and Controlled R. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1188–1198, 2018.
- USDA. United States Department of Agricultur. National Nutrient Database for Standard Reference – Nutrient Data Laboratory, Release 22. 2017. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp /search/>>. Acesso em: Novembro. 2018
- THAKUR, V. K.; THAKUR, M. K. Processing and characterization of natural cellulose fibers/thermoset polymer composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 109, p. 102–117, 2014.
- TONELI, J. T. D. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Review: estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 7, n. 2, p. 181-204, 2005.
- TRACHE, D. M.; HUSSIN, H.; HAAFIZC, M. K. M.; THAKU V. K. Recent progress in cellulose nanocrystals: sources and production - Review. **Nanoscale**, v. 9, n. 5, p. 1763-1786, 2017
- VALENÇA, R. de L.; FERREIRA, Â. C. D.; SANTOS, A. C. P. dos; SILVA, B. C. D. da; OLIVEIRA, V. da S.; SANTANA NETO, J. A.; LIMA, J. U. do N.; OLIVEIRA, E. S. de. Silagem de bagaço de laranja pré-seco e a sua utilização na alimentação de ruminantes – Revisão. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 15, n. 1, p. 68–73, 2016.
- VENTURINI, T.; BENCHIMOL, L. Estudo Da Secagem E Extração De Sementes De Mamão (Carica Papaya L.). **Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 5, n. 5, p. 950–959, 2012.
- VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros**, p. 11, 2014.

VAN SOEST, P. J. Use detergents in analysis of fibrous feeds.3. Study of effects of heating and drying on yield of fiber and lignin in forages. *Journal of the association of official agricultural chemists*, v. 48, p. 785 - 790, 1965.

YAN, F. Y.; KRISHNIAH, D.; RAJIN, M.; BONO, A. Cellulose extraction from palm kernel cake using liquid phase oxidation. ***Journal of Engineering Science and Technology***, v. 4, n. 1, p. 57–68, 2009.

YANG, J.; LU, X.; LIU, X.; XU, J.; ZHOU, Q.; ZHANG, S. Rapid and productive extraction of high purity cellulose material: Via selective depolymerization of the lignin-carbohydrate complex at mild conditions. ***Green Chemistry***, v. 19, n. 9, p. 2234–2243, 2017.

## 5 EXTRACTION OF CELLULOSE FROM ORANGE BAGASSE USING A COMBINATION OF ULTRASOUND AND PERACETIC ACID TREATMENT

### 5.1 ABSTRACT

The objectives of this study were to produce cellulose from orange bagasse (OB) using a combination of ultrasound and peracetic acid (PA) treatment and also to characterize the obtained materials according to its composition in cellulose, hemicellulose and lignin, crystallinity, thermal stability and water sorption behaviour. It was possible to observe that the use only of the ultrasound was not sufficient for the extraction of the cellulose from OB. The combination of ultrasound and peracetic acid (PA) treatment resulted in better results, and the sample submitted to ultrasound for 10 min followed by PA treatment for 24 h resulted in the highest crystallinity index (54 %) with a cellulose content of 83.04 %. Ultrasound is an alternative and effective method for extracting cellulose from lignocellulosic residues, and it has the advantages of simplicity as well as being less polluting than conventional methods, and its combination with PA is very promising for cellulose extraction from lignocellulosic materials.

**Keywords:** Agroindustrial residues; Lignocellulosic complex; Delignification

### 5.2 INTRODUCTION

The Brazilian agroindustry is increasingly developed, and this has led to an increase in the generation of lignocellulosic residues from these industrial processes [1,2]. These residues can generate serious environmental problems, as well as it represent a group of raw materials with great potential for energy generation and higher value added products, so this encouraged several researchs that make feasible the use and recycling of these materials, promoting savings of natural resources and reduction of the volume of material disposed in the environment [3,4].

The orange (*Citrus sinensis*) is one of the most cultivated fruits in the world. In Brazil, citrus is highly concentrated in the production of sweet oranges, the country is responsible for 60 % of the world production of orange juice [5-7]. Orange bagasse (OB) is an underutilized by-product of the orange juice industry, which corresponds to 50 % of the fruit weight. The chemical composition of OB may generally contain varying amounts of cellulose (9 – 37 %),

hemicelluloses (7 – 26 %) and lignin (1 – 7 %) [7-10], and it generally is obtained after fresh fruits squeezing and essential oil removal and it contains peel, internal tissues and seeds [11,12].

To extract cellulose from lignocellulosic materials, the structural arrangement of the lignocellulosic complex requires the use of multiple step processes that includes the use of pretreatments (mechanical, chemical, biological or combinations) to disrupt the cellulose-hemicellulose-lignin complex to remove hemicellulose and lignin. Low lignin content makes OB an attractive source for extraction of cellulose, and there are a few studies in literature reporting the extraction of cellulose from OB employing alkaline pretreatments [13-15], sulfite digestion [16], lime [17] and enzymes from *Xanthomonas axonopodis* [18].

The main source of cellulose in Brazil is wood and the major challenge in obtaining cellulose from both wood and lignocellulosic materials is the process of delignification, which currently depends on the use of chemical reagents in many stages, generating a large quantity of industrial effluents that are difficult to treat. Ultrasound consists of the process of transmitting energy from sound waves (mechanical) to the extraction system [19]. The main effects of ultrasound on the extraction of plant matrices are the increase of cell wall permeability, which facilitates the dilatation and hydration of the material by increasing the pore size of the cell wall, improving the process of diffusion and mass transfer, resulting in higher extraction yields and reduction of extraction times [20-24].

Peracetic acid (PA) is a strong oxidizing agent with excellent bleaching properties suitable for the extraction of cellulose, as it has low environmental impact when compared to the chlorinated reagents employed in conventional processes used for cellulose extraction, reducing the consumption of energy, water and chemicals, being considered an environmentally safe extraction reagent [21,24,25]. Considering that the extraction of cellulose from OB employing ultrasound or PA was not reported in literature, the objectives of this work were to extract cellulose from orange-bagasse using a combination of ultrasound and peracetic acid (PA) treatment, resulting in a less polluting process than the conventional ones, and also characterize the obtained material according to its composition in cellulose, hemicellulose and lignin, crystallinity, thermal stability and water sorption behaviour.

## 5.3 MATERIALS AND METHODS

### 5.3.1 Materials

The defatted OB was donated by the Prats juice industry (Paranavaí, Paraná, Brazil), which was dried at 45 °C for 24 h in an air circulation oven (Marconi MA 415 - Piracicaba-Brazil) and milled (IKA-A 11 Basic Mill - Germany) to yield particles with 0.30-0.20 mm to ensure homogeneity in particle size. Glacial acetic acid and hydrogen peroxide were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) and used in the production of peracetic acid by the mixture of 50 % acetic acid, 38 % hydrogen peroxide and 12 % distilled water [26].

### 5.3.2 Methods

#### 5.3.2.1. Determination of ultrasound conditions

Initially, the dried OB was dispersed in distilled water in a 500 mL (10 % w / v) Becker, then the suspension was subjected to the ultrasound process for different times and amplitudes (Table 1) using a Fisher Scientific Sonicator model 505 (Pittsburgh, PA - USA) coupled with a probe with tip diameter of 1.27 cm (Fisher Scientific model FB 4219, Pittsburgh, PA – USA). During this process, the temperature was controlled (25 °C) using a water bath. After the treatment, the excess water was removed by vacuum filtration of the samples, which were dried at 60 °C in an air circulation oven (Marconi MA 035, Piracicaba, Brazil) for 24 h according to the method described by Aimin et al. (2005) with modifications [22].

**Table 1** - Description of the ultrasound conditions.

<b>Sample</b>	<b>Ultrasound conditions</b>
US.1	10 min / 30% amplitude
US.2	30 min / 30% amplitude
US.3	10 min / 50% amplitude
US.4	30 min / 50% amplitude
US.5	20 min / 40% amplitude

### 5.3.2.2 Ultrasound combined to PA treatment for the extraction of cellulose from OB

Initially, OB (10 g) was treated with 250 ml of PA and submitted to ultrasound for 10 min at 30 % amplitude, and then the suspensions were maintained in a mechanical stirrer with controlled temperature of 60 °C at different times (Table 2). Control samples were treated with PA without being submitted to ultrasonication (Table 2).

**Table 2** - Description of the treatments combining ultrasound followed by treatment with PA.

Sample	Ultrasound	Chemical Treatment (PA) 60 °C
PA.1	-	1h in shaking
PA.12	-	12 h in shaking
PA.24	-	24 h in shaking
USPA.1	10 min/30% amplitude	1h in shaking
USPA.12	10 min/30% amplitude	12 h in shaking
USPA.24	10 min/30% amplitude	24 h in shaking

After this procedure, the samples were vacuum filtered, washed with distilled water to reach at pH 6 and dried at 60 °C for 24 h in an air circulation oven, according to Paschoal et al. [27]

### 5.3.3. Characterization Of OB And Cellulose From OB

#### 5.3.3.1. Cellulose, hemicellulose and lignin contents

Cellulose and hemicellulose were determined by the Van Soest method [27] , and the lignin content was determined according to a standard method of the Technical Association of Pulp and Paper Industry - TAPPI T222 om-88 [28].

#### 5.3.3.2. X-ray diffraction (XRD)

The crystallinity of each sample was investigated using XRD. The samples were finely powdered (particles  $\leq 0.149$  mm), and the analysis was performed using a PANalytical

X'Pert PRO MPD diffractometer (Almelo, The Netherlands) with copper K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ) under the operational conditions of 40 kV and 30 mA. All of the assays were performed with a ramp rate of  $1^\circ / \text{min}$ . The relative crystallinity index (CI) was calculated using the Segal et al, method [28], as follows:  $\text{CI} (\%) = [(I_{002} - I_{\text{am}})/I_{002}] * 100$ , where  $I_{002}$  is the intensity of the 002 peak (at approximately  $2\theta = 20^\circ - 22^\circ$ ) and  $I_{\text{am}}$  is the intensity corresponding to the peak at  $2\theta = 18^\circ$ .

#### 5.3.3.3 Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FT-IR)

The pulverized and dried samples were then mixed with potassium bromide and compressed into tablets. The FT-IR analyses were carried out with a Shimadzu FT-IR —8300 (Kyoto, Japan), which has a spectral resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$  and a spectral range of  $4000 - 500 \text{ cm}^{-1}$ .

#### 5.3.3.4. Water sorption isotherms

Samples of the materials (0.5 g) were dried for 15 days over anhydrous calcium chloride, and then they were placed over saturated salt solutions in separate desiccators, each with a specific level of relative humidity (RH) (11, 33, 43, 58, 75 and 90 %) and held at  $25^\circ \text{C}$ . Each sample was weighed at regular intervals, and when two consecutive equal measurements had been recorded, it was assumed that the equilibrium weight had been reached. The equilibrium moisture content was calculated as the mass increase of the dried sample at equilibration for each RH. The GAB (Guggenheim– Anderson-de Boer) model was used to fit the data from the sorption isotherms, and the monolayer values were calculated from the GAB isotherm model [29].  $M = m_0 C K_{\text{aw}} / (1 - K_{\text{aw}}) (1 - K_{\text{aw}} + C K_{\text{aw}})$ , where  $M$  is the equilibrium moisture content at a given water activity ( $a_w$ ),  $a_w$  is  $\text{RH}/100$ ,  $m_0$  is the monolayer value (g water/g solids), and  $C$  and  $K$  are GAB constants. All tests were conducted in triplicate.

#### 5.3.3.5 Differential scanning calorimetry (DSC)

The DSC analyses were performed on a Shimadzu DSC 60 (Japan) calorimeter. Approximately 3.0 mg of each sample were placed in platinum containers and heated from  $30$  to  $450^\circ \text{C}$  at a heating rate of  $5^\circ \text{C} / \text{min}$  in a helium atmosphere

#### 5.3.3.5. Statistical analysis

Analyses of variance (ANOVA) and Tukey's mean comparison test ( $p \leq 0.05$ ) were performed with Statistica software version 7.0 (Statsoft, OK, USA).

## 5.4. RESULTS AND DISCUSSION

### 5.4.1. Cellulose, hemicellulose and lignin contents

Cellulose, hemicellulose and lignin contents of samples submitted to ultrasound treatment were displayed in Table 3. Raw OB presented 11.05 % cellulose, 7.85 % hemicellulose and 8.91 % lignin, with an insoluble dietary fiber content of 27.81 % (Table 3), and these results were consistent with literature reports. Macagnan et al. [12] reported that OB presents 29.65 % of insoluble dietary fiber content, very close to the value observed in our work. Bicu and Mustata [14] reported that OB presents 14.4 % of cellulose, 10.9 % hemicellulose and 1.33 % of lignin, while Marin et al. [30] reported values of 24.51 % cellulose, 7.57 % hemicellulose and 7.51 % lignin, and the differences in OB composition reported in different studies could be attributed to the variety of plants, constitution of the soil, the climate (humidity, temperature), the harvest season and even by planting method [11].

OB presented a lower lignin content than other lignocellulosic residues, such as oat hulls (14.5 %) [26], malt bagasse (26.5 %) [2] or sugarcane bagasse (23.90 %) [31], and according to Cypriano et al. [11], lignin has the function of stiffening, impermeability and resistance to enzymatic attack, and a lower lignin content could suggest an increase in the efficiency of the disruption of the lignocellulosic complex, thus reducing the cost of overall process.

Compared to the raw OB, the samples submitted to ultrasonication did not show a significant difference in their cellulose, hemicellulose and lignin contents, indicating that only the ultrasound pretreatment was not effective in alter their composition, and thus we continued our study employing 10 min at 30 % amplitude, the condition that resulted in lower-cost process because of the lower time and energy involved.

**Table 3** - Cellulose, hemicellulose and lignin content of samples submitted to ultrasounds. and crystallinity indexes (CI) of the O.B and the samples submitted to ultrasound.

<b>Samples</b>	<b>Cellulose (%)</b>	<b>Hemicellulose (%)</b>	<b>Lignin (%)</b>	<b>Insoluble dietary fibers (%)<sup>b</sup></b>	<b>CI (%)</b>
<b>OB</b>	12.04 ± 0.53 <sup>a</sup>	7.85 ± 0.87 <sup>a</sup>	8.91 ± 0.53 <sup>a</sup>	28.81	11
<b>US.1</b>	9.55 ± 1.18 <sup>a</sup>	8.32 ± 1.06 <sup>ab</sup>	9.57 ± 0.86 <sup>a</sup>	27.44	12
<b>US.2</b>	12.26 ± 3.86 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.46 <sup>ab</sup>	9.57 ± 0.43 <sup>a</sup>	29.26	12
<b>US.3</b>	13.29 ± 3.65 <sup>a</sup>	9.28 ± 1.69 <sup>ab</sup>	9.76 ± 0.18 <sup>a</sup>	32.33	12
<b>US.4</b>	11.39 ± 2.48 <sup>a</sup>	9.63 ± 2.72 <sup>ab</sup>	9.39 ± 0.54 <sup>a</sup>	30.41	12
<b>US.5</b>	11.91 ± 3.04 <sup>a</sup>	6.16 ± 1.02 <sup>b</sup>	9.69 ± 0.91 <sup>a</sup>	27.76	11

<sup>a</sup> Different letters in the same line indicate significant difference by Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Calculated from the sum of cellulose, hemicellulose and lignin contents.

The cellulose, hemicellulose and lignin contents of samples submitted to PA treatment (PA.1, PA.12 and PA.24) and submitted to the combination of methods (USPA.1, USPA.3, USPA.6, USPA.12 and USPA.24) are shown in Table 4.

It can be observed that the samples submitted to the combined treatments (USPA.1, USPA.12 and USPA.24), when compared to their respective samples submitted only to PA (PA.1, PA.12 and PA.24) treatment, presented significant higher cellulose contents, and significant lower hemicellulose and lignin contents (Table 4), confirming that the combination of treatments can increase the efficiency of hemicellulose and lignin removal from the residue, and consequently the cellulose extraction, demonstrating that the ultrasonic treatment had effects on the structure of the OB, probably forming pores that facilitated the access of PA [23,24]. Other authors also reported that ultrasonication is an efficient pretreatment method for lignocellulosic materials, resulting in a more porous morphology that can facilitates the extraction of cellulose with different solvents [22-24].

For all samples submitted to ultrasonication followed by PA treatment, the insoluble fiber content was greater than raw OB (Table 4), indicating that other components such as lipids, proteins and ash were effectively removed from OB, resulting in a cellulose-rich material, especially in sample submitted to 24 h of treatment (USPA.24).

**Table 4** - Cellulose, hemicellulose and lignin content of samples treated with PA and samples submitted to ultrasound followed by PA treatment.

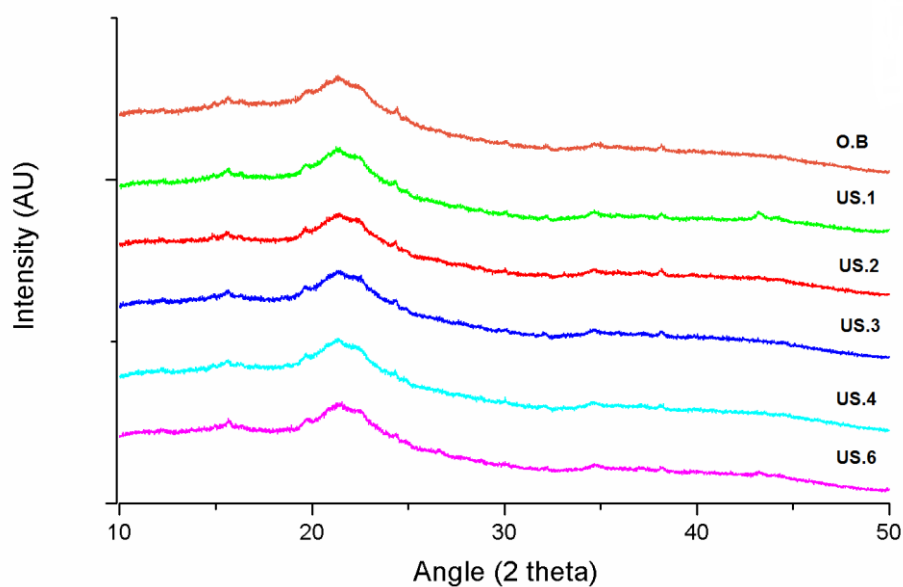
<b>Samples</b>	<b>Cellulose (%)</b>	<b>Hemicellulose (%)</b>	<b>Lignin (%)</b>	<b>Insoluble dietary fibers (%)<sup>b</sup></b>	<b>CI (%)</b>
<b>PA.1</b>	10.05 ± 0.85 <sup>f</sup>	17.31 ± 1.83 <sup>a</sup>	10.85 ± 1.60 <sup>b</sup>	38.21	14
<b>PA.12</b>	20.42 ± 1.41 <sup>e</sup>	5.27 ± 1.58 <sup>c</sup>	12.93 ± 1.41 <sup>a</sup>	38.62	18
<b>PA.24</b>	74.17 ± 3.12 <sup>b</sup>	2.58 ± 0.56 <sup>d</sup>	5.26 ± 0.63 <sup>d,e</sup>	82.01	42
<b>USPA.1</b>	20.49 ± 1.96 <sup>e</sup>	7.81 ± 1.83 <sup>b</sup>	8.80 ± 0.86 <sup>c</sup>	37.10	13
<b>USPA.12</b>	35.23 ± 1.57 <sup>c</sup>	1.17 ± 1.05 <sup>e</sup>	3.95 ± 0.43 <sup>e</sup>	40.35	28
<b>USPA.24</b>	81.49 ± 1.53 <sup>a</sup>	0.88 ± 0.36 <sup>e</sup>	2.68 ± 0.66 <sup>f</sup>	85.05	54

<sup>a</sup> Different letters in the same line indicate significant difference by Tukey test ( $p \leq 0.05$ ).

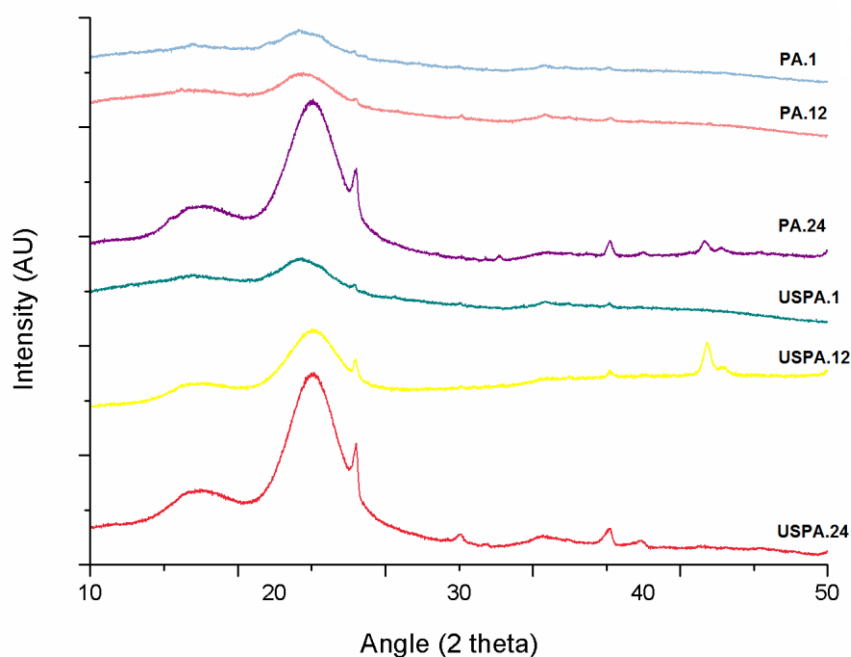
<sup>b</sup> Calculated from the sum of cellulose, hemicellulose and lignin contents.

#### 5.4.2. X-ray diffraction (XRD)

Figures 1a and 1b shows the diffractograms of the OB samples submitted at different conditions to extract cellulose, while in Table 3 and 4 are presented CI of these samples. It can be observed that OB and all samples submitted to ultrasound (Fig. 1a) presents presented similar DRX profiles characteristics of amorphous materials, only a discrete peak at  $2\theta = 22.5^\circ$  appeared and could be attributed to the structure of the native cellulose (cellulose I), where the amorphous valley and crystalline peak are located between the angles  $18^\circ \leq 2\theta \leq 19^\circ$  and  $22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$ , respectively [9].



**Figure 1a** - XRD of raw OB and OB submitted to different treatments. US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication).



**Figure 1b.** XRD of raw OB and OB submitted to different treatments PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24 (samples submitted to ultrasonication combined to PA treatment).

The samples submitted to PA treatment and ultrasonication combined to PA (Fig. 1b) presented similar DRX profiles than ultrasonicated samples (Fig. 1a), with the main peak at  $2\theta = 22.5^\circ$  attributed to cellulose type I. Some authors also observed the prevalence of cellulose type I in cellulose samples obtained from different agroindustrial residues after treatment using an

ultrasound, other studies also highlight the prevalence of type I cellulose after treatment of residues using PA as acid reagent [31–34].

It can be also observed that the PA.24, USPA.12 and USPA.24 samples (Fig 1b), which presented the higher cellulose content (Table 4) presented more pronounced peaks at  $2\theta = 22.5^\circ$ , with new peaks appearing  $2\theta = 24.3^\circ$ , which is also characteristic of cellulose type I. Chowdhury and Hamid [23] reported that the extraction of nanocrystalline cellulose from jute stalk using ultrasonic combined with microwave-assisted pretreatment procedures resulted in materials with similar peaks that were observed in this study by XRD, s at approximately  $2\theta = 22.0^\circ$  and  $24.0^\circ$ , which are characteristic of typical cellulose I.

The crystallinity index (CI) is a good indicator of the removal of hemicellulose and lignin from lignocellulosic residues since these are amorphous components present in OB, and cellulose corresponds to the crystalline fraction, thus on removing the noncellulosic constituents by physical and chemical treatments, the CI will increase [23, 24,33,34]. OB presented a CI of 11 % (Table 3), and the CI of all samples submitted to ultrasound (Table 3) ranged from 11 to 12 %, indicating that the ultrasound conditions (Table 1) employed in this study were not sufficient to change the crystallinity of OB.

The samples treated exclusively with PA, PA.1, PA.12 and PA.24 showed an increase in the CI when compared to the OB sample (Table 4), with CI of 14, 18 and 42 %, respectively, with the higher value corresponding to the PA.24 sample, which presented the higher cellulose content between these samples.

Samples submitted to the combined treatment (USPA.1, USPA.3, USPA.6, USPA.12 and USPA.24) presented CI values of 14, 15, 28 and 54. According to Adel et al. [35], the reaction of lignocellulosic material with mineral acids leads to the cleavage of glycosidic bonds in accessible regions of the cellulose and hemicellulose molecules, especially in the amorphous regions of cellulose, resulting in an increase in CI in samples submitted to acid hydrolysis.

The USPA.24 sample, which was submitted to ultrasonication pretreatment followed by P.A treatment for 24 h had the highest CI value (54%). This sample presented the higher cellulose content between all samples and it had also the lower hemicellulose and lignin contents confirming the efficiency of the combined methods in providing a better delignification compared to single methods.

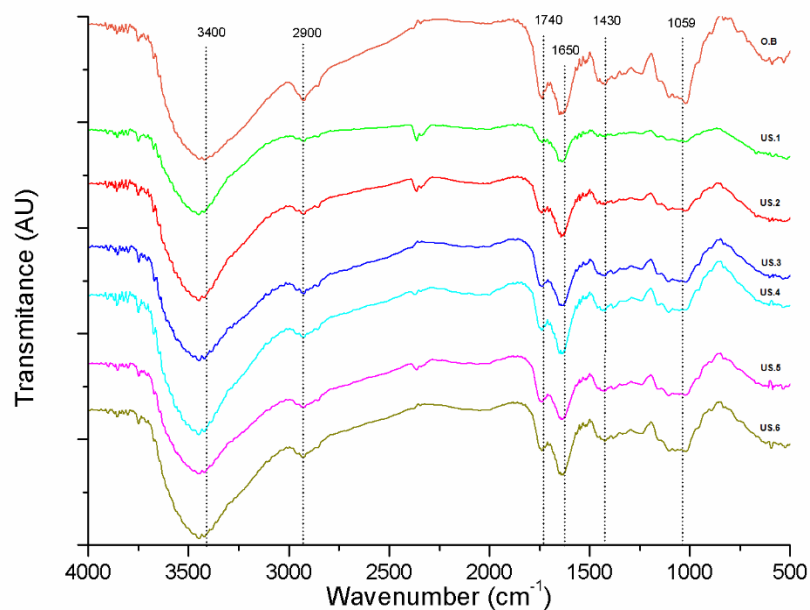
#### 5.4.3 Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FT-IR)

FT-IR spectra of the OB samples submitted at different conditions to extract cellulose are shown in Fig. 2a and Fig 2.b. It can be observed several similarities between the all spectra, indicating that the samples present similar chemical groups, such as alkanes, aromatics, esters, alcohols and ketones with different oxygen contents, comprising the main functional groups of cellulose, hemicellulose, lignin, proteins and other components. It is important to report that FTIR spectra show that no new functional groups or impurities were introduced during the treatment processes.

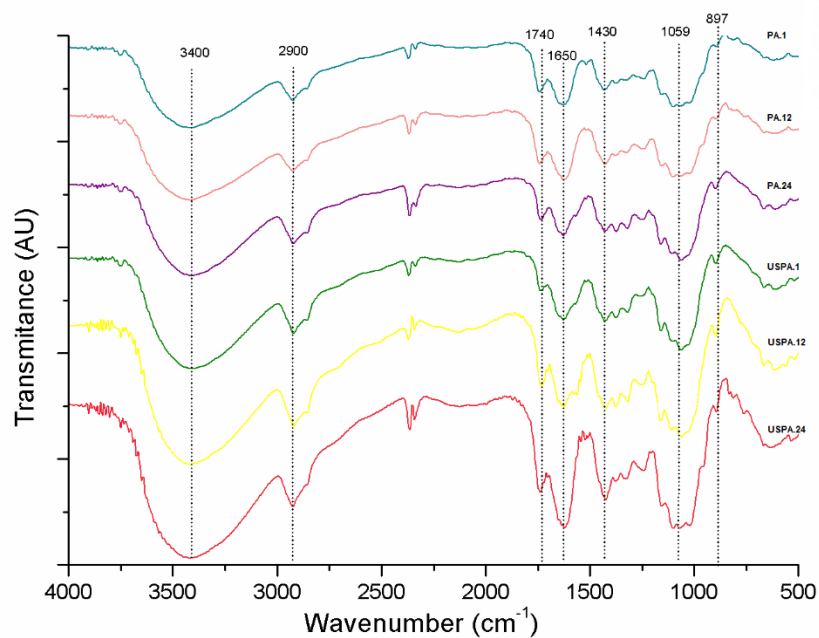
All spectra showed a wide absorption range at approximately  $3400\text{ cm}^{-1}$  corresponding to O-H stretching vibration of hydrogen bound hydroxyl groups, and the bands observed at  $2900\text{ cm}^{-1}$  (Fig. 2a and Fig. 2b) corresponding to the C-H stretching vibration of alkyl groups, and these bands are considered common bands between cellulose and hemicellulose molecules.

In all samples, a band was observed at  $1650\text{ cm}^{-1}$  and it was associated to the bending vibration of water absorbed by hydrophilic groups [33], and this band was more intense for sample USPA.1 (Fig. 2b). Merci et al. [29] and Nascimento et al [32] reported that the range at approximately  $1650\text{ cm}^{-1}$  may result from water, but it can also be attributed to the aromatic C=C stretch of the aromatic ring in the lignin, and this could explain the lower intensity of this band in the samples PA.24, USPA.12 and USPA.24, samples with lower lignin contents (Table 4).

The band corresponding to the acetyl or uronic groups of hemicelluloses usually appears in the region  $1700\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$ [29,35]. In this study, we observed that this band decreased in the samples PA.24 and USPA.24, submitted to PA treatment and ultrasonication combined to PA, respectively, corroborating the removal of hemicelluloses from these samples.



**Figure 2a** - FTIR spectra of raw OB, US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication).



**Fig. 2b.** FTIR spectra of PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24 (samples submitted to ultrasonication combined to PA treatment).

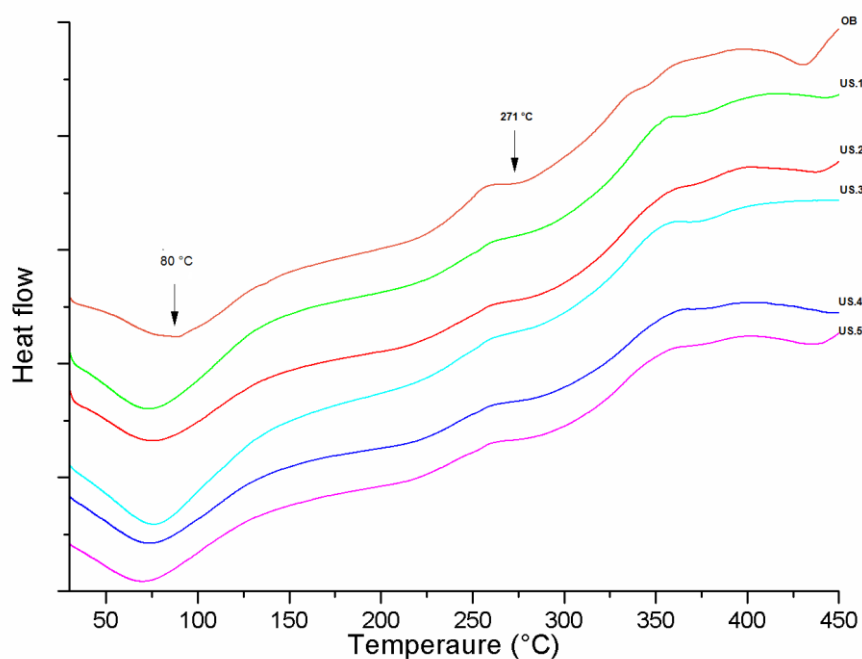
In addition, the bands at 1430, 1059 and 897  $\text{cm}^{-1}$  that are typical of pure cellulose [29,35] appeared in the FT-IR spectra of PA.24, USPA.12 and USPA.24 samples (Fig

2b), which presented the higher cellulose content (Table 4). Generally, a  $897\text{ cm}^{-1}$  band is attributed as C-O-C stretching vibrations of the characteristic (1  $\rightarrow$  4) -glycosidic bonds [32]. The differences between the spectra of PA.24, USPA.12 and USPA.24 and the other samples occurred because these samples have higher cellulose content when compared to OB and other samples.

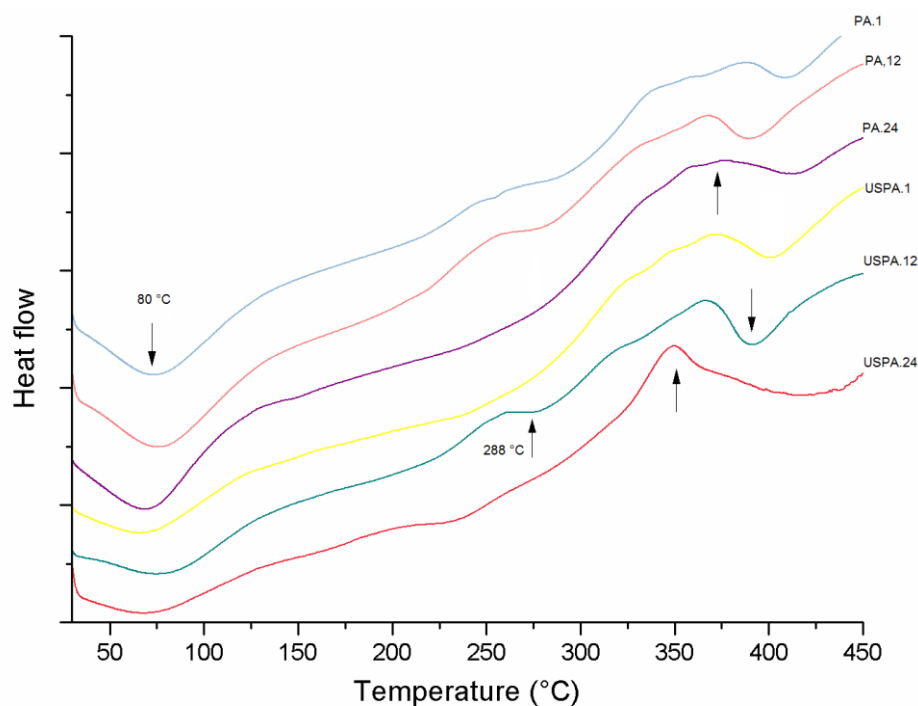
#### 5.4.4 Differential scanning calorimetry (DSC)

The DSC thermograms of OB and OB submitted to different treatments are presented in Figs. 3a and 3b. For all samples (Figs 3a and 3b) it was observed from 50 °C to 125 °C an endothermic peak that was attributed to water evaporation [32,36,37].

Raw OB showed an endothermic peak around 271 °C, which can be attributed to the scission of the glucosidic bonds presented in to cellulose and hemicellulose molecules [37], and another peak around 425 °C, which can be attributed to lignin decomposition [38]. These both peaks appeared in all samples submitted to ultrasonication, however in the treated samples the peaks were more discrete.



**Figure 3a** - DSC curves of raw OB, US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication).



**Figure 3b** - DSC curves of raw PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24 (samples submitted to ultrasonication combined to PA treatment).

It can be observed an endothermic peak around 288 °C for PA.1, PA.12 and USPA.12 (Fig.3b) that may be attributed to the scission of the glucosidic bonds presented in to cellulose and hemicellulose molecules [37]. According to Morán et al. [39], the commercial cellulose contained endothermic peaks related to its melting of the crystal at 330 °C and that to decrease in the position of the peak indicates an increase in the amount of amorphous cellulose.

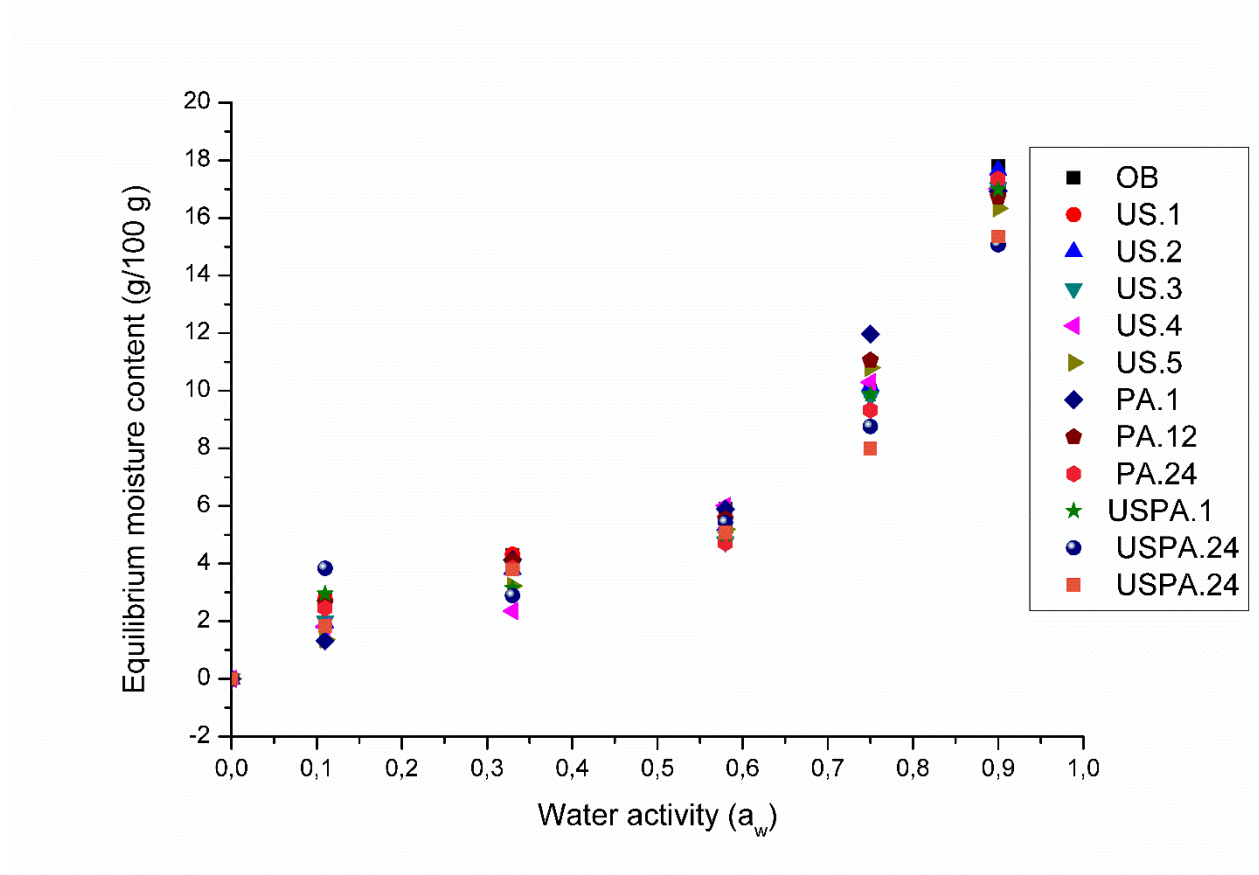
In samples PA.24 and USPA.24, which presented the higher cellulose content, the peak decomposition of the cellulose changed from endothermic to exothermic, a similar inversion was reported by Ray et al [40] in the case of jute fibers that were treated with alkali solvents. Orozco et al [41] also describe this exothermic peak. These peaks around 350 °C can be attributed mainly to exothermic reactions due to cellulose depolymerization and the cleavage of carbon-carbon bonds between lignin structural units, since lignin degradation occurs between 385 and 585 °C.

#### 5.4.5 Moisture sorption isotherms

The moisture sorption isotherms of samples are shown in Fig. 4. There was an increase in the equilibrium moisture content of the samples with increase of water activity ( $a_w$ ), as

also verified by Wolf et al. [42] studying commercial microcrystalline cellulose and by Merci et al. [29] studying microcrystalline cellulose extracted from soybean hulls.

When the samples had  $a_w$  between 0.11 and 0.60, the equilibrium moisture content of all samples was very close, however, between 0.75 and 0.90 (Fig. 4), USPA.1 and USPA.24 samples showed lower equilibrium moisture contents than other samples.



**Figure 4** - Water sorption isotherms of raw OB and OB submitted to different treatments: US.1, US.2, US.3, US.4 and US.5 (samples submitted to ultrasonication); PA.1, PA.12 and PA.24 (samples submitted to PA treatment) and USPA.1, USPA.12 and USPA.24.

In Table 5 it can be observed the GAB model parameters calculated for each sample. The monolayer value ( $m_0$ ) indicates the maximum amount of water that can be adsorbed in a single layer per gram of dried sample [43]. The samples that presented the higher  $m_0$  were US.4 and US.5, these samples were processed employing the combination of higher times and ultrasound amplitudes, which probably affected the structure of the OB by forming pores that facilitated the access of water.

The samples with the lowest  $m_0$  values were PA.24 and USPA24 (Table 5), these samples had the higher cellulose content and the higher CI (Table 4). According to Kulasinski

[44], the adsorption of water in hydrophilic polymers such as cellulose is a complex process that is mainly driven by the formation and breaking of the hydrogen bonds. The higher CI of these samples was related to the formation of higher hydrogen bonds between cellulose chains, which possibly resulted in samples with lower capacity to interact with water.

**Table 5** – GAB model<sup>a</sup> parameters.

<b>Samples</b>	<b>Monolayer value (m<sub>0</sub>) (g/100 g)</b>	<b>C</b>	<b>K</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>OB</b>	3.00	43.60	0.9250	0.99
<b>US.1</b>	3.01	42.60	0.9668	0.99
<b>US.2</b>	3.08	10.53	0.9217	0.99
<b>US.3</b>	3.05	15.74	0.9304	0.99
<b>US.4</b>	4.93	1.88	0.8372	0.99
<b>US.5</b>	5.44	1.74	0.8085	0.99
<b>PA.1</b>	5.17	2.34	0.7866	0.99
<b>PA.12</b>	3.41	16.10	0.8902	0.99
<b>PA.24</b>	2.54	55.38	0.9494	0.99
<b>USPA.1</b>	2.64	92.85	0.9397	0.99
<b>USPA.12</b>	2.64	1888.10	0.9170	0.99
<b>USPA.24</b>	2.48	23.83	0.9323	0.99

<sup>a</sup> $M = m_0CKa_w/(1 - Ka_w)(1 - Ka_w + CKa_w)$ , where  $M$  is the equilibrium moisture content at a water activity ( $a_w$ ),  $m_0$  is the monolayer value (100 g water/g solids), and  $C$  and  $K$  are the constants.

## 5.5. CONCLUSIONS

When the orange bagasse was submitted exclusively to ultrasound process, its cellulose, hemicellulose and lignin contents were not affected, indicating that this pretreatment was not sufficient for extracting the cellulose from OB.

The combination of ultrasound followed by PA treatment for 24 h resulted in the sample with the higher cellulose content (81.50 %), the lower hemicellulose (0.88 %) and lignin (2.69 %) contents and also the highest crystallinity index (54 %). Ultrasonication associated to PA treatment can be considered an alternative and effective protocol for the extraction of cellulose

from lignocellulosic residues because ultrasound treatment facilitate the penetration of the reagent in the fiber, besides presenting the advantages of simplicity and environmental friendness when compared to the conventional methods as it reduced the amount of effluents produced, and also resulted in more safe effluents.

### **Acknowledgment**

The authors wish to thank the Laboratory of X-ray Diffraction (LARX), Laboratory of Spectroscopy (ESPEC) and Laboratory of Electronic Microscopy and Microanalysis (LMEM) of the State University of Londrina, and also CAPES (Brazil) for Beatriz M. Marim grant and Fundação Araucária (Brazil) for financial support.

## 5.6 References

- [1] V.K. Thakur, M.K. Thakur, Processing and characterization of natural cellulose fibers/thermoset polymer composites, *Carbohydr. Polym.* 109 (2014) 102–117.
- [2] G.A. Jacometti, L.R.P.F. Mello, P.H.A. Nascimento, A.C. Sueiro, F. Yamashita, S. Mali, The physicochemical properties of fibrous residues from the agro industry, *LWT - Food Sci. Technol.* 62 (2015) 138–143.
- [3] B. Sousa, R.T.P. Correia, Biotechnological reuse of fruit residues as a rational strategy for agro-industrial resources, *J. Technol. Manag. Innov.* 5 (2010) 104–112.
- [4] S. Ben Abdelaali, M.J. Rodrigo, O. Saddoud, L. Zacarías, M.R. Hajlaoui, M. Mars, Carotenoids and colour diversity of traditional and emerging Tunisian orange cultivars (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 227 (2018) 296–304.
- [5] M.F. Neves, V.G. Trombin, R.B. Kalaki. Competitiveness of the orange juice chain in Brazil, *Int. Food Agribus. Manag. Ver.* 16 (2013) 141 - 158
- [6] USDA. United States Department of Agricultur. National Nutrient Database for Standard Reference - Nutrient Data Laboratory, Release 22. 2017
- [7] S.S. Lam, R.K. Liew, Y.M. Wong, E. Azwar, A. Jusoh, R. Wahi, Activated Carbon for Catalyst Support from Microwave Pyrolysis of Orange Peel, *Waste and Biomass Valorization*. 8 (2017) 2109–2119.
- [8] P. Benelli, C.A.S. Riehl, A. Smânia, E.F.A. Smânia, S.R,S. Ferreira. Bioactive extracts of orange citrus (*Citrus sinensis* L.Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition, *J. Suercritic. Fluids*. 55 (2010) 132-141.
- [9] E.F. Lessa, M.S. Gularte, E.S. Garcia, A.R. Fajardo, Orange waste: A valuable carbohydrate source for the development of beads with enhanced adsorption properties for cationic dyes, *Carbohydr. Polym.* 157 (2017) 660–668.
- [10] M. Rehman, I. Kim, Use of ultrasound in the production of bioethanol from lignocellulosic biomass, *Energy Sci. Res.* 30 (2013) 1391–1410.
- [11] D.Z. Cypriano, L.L. da Silva, L. Tasic, High value-added products from the orange juice industry waste, *Waste Manag.* 79 (2018) 71–78.
- [12] F.T. Macagnan, L.R. Dos Santos, B.S. Roberto, F.A. De Moura, M. Bizzani, L.P. Da Silva, Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre, *Bioact. Carbohydrates Diet. Fibre.* 6 (2015) 1–6.
- [13] P.M. Ejikeme, Investigation of the physicochemical properties of microcrystalline cellulose from agricultural wastes I: Orange mesocarp, *Cellulose*. 15 (2008) 141–147.
- [14] I. Bicu, F. Mustata, Optimization of isolation of cellulose from orange peel using sodium hydroxide and chelating agents, *Carbohydr. Polym.* 98 (2013) 341–348. doi:10.1016/j.carbpol.2013.06.009.
- [15] F. Yaşar, H. Toğrul, N. Arslan, Flow properties of cellulose and carboxymethyl cellulose from orange peel, *J. Food Eng.* 81 (2007) 187–199. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.10.022.
- [16] I. Bicu, F. Mustata, Cellulose extraction from orange peel using sulfite digestion reagents, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 10013–10019. doi:10.1016/j.biortech.2011.08.041.
- [17] R.J. BRADDOCK, P.G. CRANDALL, Carbohydrate Fiber from Orange Albedo, *J. Food Sci.* 46 (1981) 650–651. doi:10.1111/j.1365-2621.1981.tb04936.x.
- [18] M. Mariño, L.L. Da Silva, N. Durán, L. Tasic, Enhanced materials from nature: Nanocellulose from citrus waste, *Molecules*. 20 (2015) 5908–5923.
- [19] W. Chen, H. Yu, Y. Liu, P. Chen, M. Zhang, Y. Hai, Individualization of cellulose nanofibers from wood using high-intensity ultrasonication combined with chemical pretreatments, *Carbohydr. Polym.* 83 (2011) 1804–1811.
- [20] L. Lamanna, F. Rizzi, C. Demitri, M. Pisanello, E. Scarpa, A. Qualtieri, A. Sannino, M. De

- Vittorio, Determination of absorption and structural properties of cellulose-based hydrogel via ultrasonic pulse-echo time-of-flight approach, *Cellulose*. 25 (2018) 4331–4343.
- [21] H.R. Lee, R.J. Kazlauskas, T.H. Park, One-step pretreatment of yellow poplar biomass using peracetic acid to enhance enzymatic digestibility, *Sci. Rep.* 7 (2017) 1–10.
- [22] T. Aimin, Z. Hongwei, C. Gang, X. Guohui, L. Wenzhi, Influence of ultrasound treatment on accessibility and regioselective oxidation reactivity of cellulose, *Ultrason. Sonochem.* 12 (2005) 467–472.
- [23] Z.Z. Chowdhury, S.B.A. Hamid, Preparation and characterization of nanocrystalline cellulose using ultrasonication combined with a microwave - assisted pretreatment process, *BioResources*. 11 (2016) 3397–3415.
- [24] R. Rohaizu, W.D. Wanrosli, Sono-assisted TEMPO oxidation of oil palm lignocellulosic biomass for isolation of nanocrystalline cellulose, *Ultrason. Sonochem.* 34 (2017) 631–639.
- [25] L. Duan, W. Yu, Z. Li, Analysis of structural changes in jute fibers after peracetic acid treatment, *J. Eng. Fiber. Fabr.* 12 (2017) 33–42.
- [26] G.B. Paschoal, C.M.O. Muller, G.M. Carvalho, C.A. Tischer, S. Malii, isolation and characterization of nanofibrillated cellulose from oat hulls, *Quim. Nova.* 38 (2015) 1374–1378.
- [27] P.J. Van Soest, Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility, *J. Anim. Sci.* 24 (1965) 834–843.
- [28] K. Saelee, N. Yingkamhaeng, T. Nimchua, P. Sukyai, Extracion and characterization of cellulose from sugarcane bagasse by using environmental friendly method. In: Annual meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference. 26 (2014) 21–25.
- [29] L. Segal, J.J. Creely, A.E. Martin, C.M. Conrad, An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer, *Text. Res. J.* 29 (1959) 786–794.
- [30] A. Merci, A. Urbano, M.V.E. Grossmann, C.A. Tischer, S. Mali, Properties of microcrystalline cellulose extracted from soybean hulls by reactive extrusion, *Food Res. Int.* 73 (2015) 38–43.
- [31] F.R. Marín, C. Soler-Rivas, O. Benavente-García, J. Castillo, J.A. Pérez-Alvarez, By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres, *Food Chem.* 100 (2007) 736–741.
- [32] G. Gedik, O. Avinc, Bleaching of Hemp (*Cannabis Sativa L.*) Fibers with Peracetic Acid for Textiles Industry Purposes, *Fibers Polym.* 19 (2018) 82–93.
- [33] P. Nascimento, R. Marim, G. Carvalho, S. Mali, Nanocellulose Produced from Rice Hulls and its Effect on the Properties of Biodegradable Starch Films, *Mater. Res.* 19 (2016) 167–174.
- [34] H. Lee, R.J. Kazlauskas, T.H. Park, Mild pretreatment of yellow poplar biomass using accessibility, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 22 (2017) 405–412.
- [35] A.M. Adel, Z.H.A. El-Wahab, A.A. Ibrahim, M.T. Al-Shemy, Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials. Part I. Acid catalyzed hydrolysis, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 4446–4455.
- [36] G.T. Bersaneti, J. Mantovan, A. Magri, M. Antonia, P. Colabone, Edible films based on cassava starch and fructooligosaccharides produced by *Bacillus subtilis natto* CCT 7712, *Carbohydr. Polym.* 151 (2016) 1132–1138.
- [37] D. Ciolacu, F. Ciolacu, V.I. Popa, Amorphous cellulose – structure and characterization, 45 (2011) 13–21.
- [38] M. Ghalibaf, T. Rama, K.C. Doddapaneni, R. Ale, Pyrolytic behavior of lignocellulosic based polysaccharides, *Journal of Thermal Analyses and Calorimetry.* 32 (2018) 1–11.

- [39] J.I. Morán, V.A. Alvarez, V.P. Cyras, A. Vázquez, Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers, *Cellulose*. 15 (2008) 149–159.
- [40] D. Ray, B.K. Sarkar, R.K. Basak, A.K. Rana, Study of the Thermal Behavior of Alkali-Treated Jute Fibers, (2002) 2594–2599. doi:10.1002/app.10934.
- [41] R. Sánchez Orozco, P. Balderas Hernández, G. Roa Morales, F. Ureña Núñez, J. Orozco Villafuerte, V. Lugo Lugo, N. Flores Ramírez, C.E. Barrera Díaz, P. Cajero Vázquez, [P]Characterization of Lignocellulosic Fruit Waste as an Alternative Feedstock for Bioethanol Production, *BioResources*. 9 (2014) 1873–1885.
- [42] W. Wolf, W.E.L. Spiess, G. Jung, H. Weisser, H. Bizot, R.B. Duckworth, The water-vapour sorption isotherms of microcrystalline cellulose (MCC) and of purified potato starch. Results of a collaborative study, *J. Food Eng.* 3 (1984) 51–73.
- [43] U.P. Strauss, R.J. Porcja, Y. Chen, Volume effects of starch water interactions. In H. Levine, L. Slade (Eds), *Water Relationships in Foods*, New York - EUA: Plenum Press (1991) 351-364.
- [44] K. Kulasinski, L. Berkeley, Effects of water adsorption in hydrophilic polymers, *Polymers science*. 5 (2016) 217-223.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quando o bagaço de laranja foi submetido exclusivamente ao ultrassom, os teores de celulose, hemicelulose e lignina dos resíduos não foram afetados, indicando que este pré-tratamento, quando utilizado isoladamente, não foi suficiente para a extração da celulose.

A amostra de OB submetida ao tratamento com PA por 24 h resultou em uma amostra com maior conteúdo de celulose (74,17%), porém a combinação de ultrassom seguida de tratamento com PA por 24 h resultou na amostra com maior teor de celulose (81,50%), os menores valores de hemicelulose (0,88%) e lignina (2,69%) e também o maior índice de cristalinidade (54%).

O ultrassom associado ao tratamento com PA pode ser considerada um protocolo alternativo e eficaz para a extração de celulose a partir de resíduos lignocelulósicos, pois o tratamento com ultrassom facilita a penetração do reagente na fibra, além de apresentar as vantagens da simplicidade e do ambiente quando comparado aos métodos convencionais, reduziu a quantidade de efluentes produzidos e também resultou em efluentes mais seguros.

## ANEXOS

### ANEXO A- NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS NA REVISTA BIOMASS & BIOENERGY

#### DESCRIPTION

Biomass & Bioenergy is an international journal publishing original research papers and short communications, review articles and case studies on biological resources, chemical and biological processes, and biomass products for new renewable sources of energy and materials. The scope of the journal extends to the environmental, management and economic aspects of biomass and bioenergy.

Key areas covered by the journal:

- Biomass: sources, energy crop production processes, genetic improvements, composition. Please note that research on these biomass subjects must be linked directly to bioenergy generation.
- Biological Residues: residues/rests from agricultural production, forestry and plantations (palm, sugar etc), processing industries, and municipal sources (MSW). Papers on the use of biomass residues through innovative processes/technological novelty and/or consideration of feedstock/system sustainability (or unsustainability) are welcomed. However waste treatment processes and pollution control or mitigation which are only tangentially related to bioenergy are not in the scope of the journal, as they are more suited to publications in the environmental arena. Papers that describe conventional waste streams (ie well described in existing literature) that do not empirically address 'new' added value from the process are not suitable for submission to the journal.
- Bioenergy Processes: fermentations, thermochemical conversions, liquid and gaseous fuels, and petrochemical substitutes
- Bioenergy Utilization: direct combustion, gasification, electricity production, chemical processes, and by-product remediation
- Biomass and the Environment: carbon cycle, the net energy efficiency of bioenergy systems, assessment of sustainability, and biodiversity issues.

The journal does not consider papers on the following subjects:

- Performance of fuel combustion in engines
- Technical aspects of first generation biofuels
- Soil science papers with no direct linking to bioenergy generation
- Isolation of yeast/bacterial strains
- Purely analytical biochemistry derived studies that have no direct linking to bioenergy generation

#### AUTHOR INFORMATION PACK:

29 Aug 2018 [www.elsevier.com/locate/biombioe](http://www.elsevier.com/locate/biombioe) 5 to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess'). Changes to authorship Authors are expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or

rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

## PREPARATION

**Peer review:** This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

**Use of wordprocessing software :** It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor. All submitted manuscripts must be double-spaced. Manuscripts must also have all pages numbered consecutively and line numbering activated.

**LaTeX:** You are recommended to use the Elsevier article class `elsarticle.cls` to prepare your manuscript and BibTeX to generate your bibliography. Our LaTeX site has detailed submission instructions, templates and other information.

**Article structure: Subdivision - numbered sections :** Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2.), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

**Introduction:** State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

**Material and methods:** Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

**Theory/calculation:** A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

**Results:** Results should be clear and concise.

**Discussion:** This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

**Conclusions:** The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

**Appendices:** If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

#### **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

**Abstrac:** A concise and factual abstract is required of no more than 250 words. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

**Graphical abstract:** Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site. Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

**Highlights:** Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

**Keywords:** Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. [www.elsevier.com/locate/biombio](http://www.elsevier.com/locate/biombio) Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution

requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts. TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/halftone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

**Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

*Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

*Figure captions:* Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

**Tables:** Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells. All tables should be submitted as a separate file.

**References:** *Citation in text* - Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

*Web references:* As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

*Data references:* This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

*References in a special issue:* Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue

*Reference management software:* Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products

that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/biomass-and-bioenergy> When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

**Reference style - Text:** Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given. Example: "... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result." List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text. Examples: Reference to a journal publication: [1] M. Renouf, M. Wegener, L. Nielsen, An environmental life cycle assessment comparing Australian sugarcane with US corn and UK sugar beet as producers of sugars for fermentation, *Biomass Bioener.* 32 (12) (2008) 1144-1155. Reference to a book: [2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, Macmillan, New York, 3rd ed., 1979.

Reference to a chapter in an edited book: [3] G.R. Mettam, L.B. Adams, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age, E-Publishing*, New York, 1994, p. 281. [4] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, *Mendeley Data*, v1, 2015. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

**Journal abbreviations source:** Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

**Video:** Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

**Data visualization:** Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

**Supplementary material:** Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a

previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

**Research data:** This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project. Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

**Data linking:** If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described. There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission. System. For more information, visit the database linking page. For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect. In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

**Mendeley Data:** This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online. For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

**Data in Brief:** You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief.

**MethodsX:** You have the option of converting relevant protocols and methods into one or multiple MethodsX articles, a new kind of article that describes the details of customized research methods. Many researchers spend a significant amount of time on developing methods to fit their specific needs or setting, but often without getting credit for this part of their work. MethodsX, an open access journal, now publishes this information in order to make it searchable, peer reviewed, citable and reproducible. Authors are encouraged to submit their MethodsX article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your methods article will automatically be transferred over to MethodsX where it will be editorially reviewed. Please note an open access fee is payable for publication in MethodsX. Full

details can be found on the MethodsX website. Please use this template to prepare your MethodsX article.

*Data statement:* To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

*Submission checklist:* The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

**Ensure that the following items are present:**

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers - All necessary files have been uploaded
- Keywords: Figures must be submitted as a separate document tables must be submitted as a separate document
- Figure caption must be submitted as a separate document
- Line numbers must be numbered throughout the manuscript until the end of the references
- Page numbers must be included
- Author must suggest 3 potential reviewers without any conflict of interest Further considerations
- Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://service.elsevier.com>.

**AFTER ACCEPTANCE**

**Online proof correction:** Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility

***Offprints:*** The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link

## **AUTHOR INQUIRIES**

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published