



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**NÁDIA MARIA DOS SANTOS MATOS SÁ**

**UTILIZAÇÃO DA FIBRA PODA DO CAJUEIRO COMO FONTE DE LIGNINA E  
NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA INCORPORAÇÃO EM FILMES DE  
CELULOSE BACTERIANA**

**FORTALEZA**

**2020**

NÁDIA MARIA DOS SANTOS MATOS SÁ

UTILIZAÇÃO DA FIBRA PODA DO CAJUEIRO COMO FONTE DE LIGNINA E  
NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA INCORPORAÇÃO EM FILMES DE CELULOSE  
BACTERIANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Engenharia Química. Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadora: Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo.

Coorientadora: Profa. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S113u Sá, Nádia Maria dos Santos Matos.  
Utilização da fibra poda do cajueiro como fonte de lignina e nanocristais de celulose para incorporação em filmes de celulose bacteriana / Nádia Maria dos Santos Matos Sá. – 2020.  
115 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2020.  
Orientação: Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo .  
Coorientação: Profa. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa .
1. Nanocompósitos. 2. Biopolímeros. 3. Biorrefinaria. I. Título.

CDD 660

---

NÁDIA MARIA DOS SANTOS MATOS SÁ

UTILIZAÇÃO DA FIBRA PODA DO CAJUEIRO COMO FONTE DE LIGNINA E  
NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA INCORPORAÇÃO EM FILMES DE CELULOSE  
BACTERIANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Engenharia Química. Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos e Bioquímicos.

Aprovada em: 10/09/2019.

BANCA EXAMINADORA

---

Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo (Orientadora)  
EMBRAPA Agroindústria Tropical/Embrapa Instrumentação

---

Dra. Morsyleide de Freitas Rosa (Coorientadora)  
EMBRAPA Agroindústria Tropical

---

Dr. Edy de Sousa Brito  
EMBRAPA Agroindústria Tropical

---

Dr. Adriano Lincoln Albuquerque Mattos  
EMBRAPA Agroindústria Tropical

---

Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho  
EMBRAPA Agroindústria Tropical

---

Dra. Fábيا Karine Andrade  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por toda fé, força e coragem que me ofereceu para ter alcançado minha meta. Não foi fácil, mas sem ele nada é impossível.

Agradeço aos meus pais, Angêla Maria e Ferreira Matos, meus maiores exemplos de vida. Aos meus amados irmãos Jean Lucas, Natália Matos, Angélica Matos, Emanuel Santos, Felipe Matos, Carlos Rafael e Hélio Matos. Exemplos de luta e determinação, e que mesmo de longe, sempre me apoiaram e torcem pelo meu sucesso. Amo todos vocês!

Ao meu esposo Aldo Sá, obrigada por ser compreensivo, companheiro e um grande amigo. Por ensinar-me todos os dias a superar desafios e acreditar sempre em dias melhores. Ao meu filho André Luiz, meu maior tesouro que enche meu coração de alegria. Obrigada por ensinar-me todos os dias a nunca deixar de sonhar.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, pela oportunidade e possibilidade de ampliar meus conhecimentos. À FUNCAP, pelo apoio financeiro e ao Laboratório de Tecnologia da Biomassa – EMBRAPA, por me proporcionar dias de aprendizagem muito ricos.

A minha orientadora pela paciência. Obrigada, Dr<sup>a</sup> Henriette Azeredo, por ter me proporcionado ferramentas para crescer e aprender um pouco mais todos os dias. A palavra que expressa à minha admiração e respeito é gratidão pela partilha de conhecimento e ensinamentos para a vida. Aos pesquisadores Dra. Morsyleide Rosa, Dr. Edy Brito, Dr. Mén de Sá e aos participantes da banca Dr. Adriano Matos (meu *brother*) e Dra. Fábila Karine, muito obrigada a todos pela participação, contribuições e sugestões.

Por fim, mas não menos importante gratidão a todas as pessoas que de alguma forma me transmitiram coragem e confiança. Eu acredito muito no poder da amizade e sei que posso ser melhor a cada dia porque sempre posso aprender mais com meus amigos. A todos que me ensinaram algo serão meus eternos amigos (amigos da graduação, pós-graduação, LTB, outros laboratórios, estagiários, terceirizados da Embrapa e analistas). Quero deixar um agradecimento imensurável porque sem eles não teria sido possível a concretização desse ciclo em minha vida. Não citarei nomes para não correr o risco de esquecer ninguém sem contar que seria uma folha inteira.

Para essas pessoas finalizo com uma frase de Mahatma Gandhi que diz: “Quando a alma está feliz, a prosperidade cresce, a saúde melhora, as amizades aumentam, enfim, o mundo fica de bem com você! O mundo exterior reflete o universo interior.” Muito obrigada a todos!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento

de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Não existe limitações para a mente exceto as que nós mesmos reconhecemos.”

Napoleon Hill

## RESUMO

O acúmulo de embalagens de plástico não-biodegradável na natureza tem causado problemas ambientais. Uma das soluções encontradas, particularmente na área de embalagens de alimentos, é o desenvolvimento de filmes a partir de fontes renováveis e biodegradáveis que possam substituir em parte os materiais derivados de petróleo. A celulose bacteriana (CB) é um polissacarídeo promissor para esse tipo de aplicação. No entanto, a baixa resistência à temperatura, assim como a alta permeabilidade a vapor de água estão entre as principais deficiências que inviabilizam a utilização de CB pura. A introdução de fibras naturais e lignina em compósitos poliméricos possui grande potencial de aplicabilidade, pelo fato de terem origens renováveis e de possuírem grande capacidade de se ligar à fase matricial, proporcionando ao compósito alta resistência mecânica e térmica, além de melhorias nas propriedades de barreira. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de lignina (LIG) e nanocristais de celulose (NCC), ambos extraídos da fibra da madeira de cajueiro (FMC), sobre as propriedades dos filmes de CB nanofibrilada (CBNF) produzida a partir de suco de caju. Foram formulados nove tratamentos com diferentes proporções de LIG e NCC. Em seguida, foram realizadas caracterizações químicas, físicas e de morfologia nos filmes. Em todos os tratamentos foram realizadas as análises de permeabilidade ao vapor de água ( $P_{VA}$ ), testes mecânicos, solubilidade, ângulo de contato e opacidade. A partir dos resultados obtidos, alguns tratamentos foram selecionados para serem submetidos às seguintes análises: Microscopia Eletrônica de varredura (MEV), Análise Termogravimétrica (TGA), Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), Difração de raios X (DRX), atividade antioxidante e antimicrobiana. Os filmes apresentaram-se homogêneos com cor tendendo para o marrom (devido à presença de LIG), e boa estabilidade térmica. A adição de lignina alterou o caráter hidrofílico dos filmes, tornando-os mais hidrofóbicos, bem como incorporou compostos fenólicos e atividade antioxidante. No entanto, não apresentou ação antimicrobiana. Quanto à opacidade, foi possível obter filmes com alto índice, indicando proteção à luz UV. A combinação (LIG/NCC) proporcionou melhoras significativas nas propriedades de ( $P_{VA}$ ), resistência à tração e no módulo de elasticidade. Pode-se concluir que os filmes de CB adicionados de LIG e NCC apresentaram características favoráveis para aplicação como embalagens ativas.

**Palavras-chave:** Nanocompósitos. Biopolímeros. Biorrefinaria.

## ABSTRACT

The accumulation of nonbiodegradable plastic packaging in nature has caused environmental problems. One of the solutions found, particularly in the area of food packaging, is the development of films from renewable and biodegradable sources that can replace petroleum-based materials. Bacterial cellulose (BC) is a promising polysaccharide, however, its low temperature resistance and high water vapor permeability are among the main deficiencies that make the use of pure BC unfeasible. The introduction of natural fibers and lignin into polymeric composites has great applicability because they have renewable origins and have great capacity to bond to the matrix phase, giving the composite high mechanical and thermal resistance, in addition to improvements in barrier properties. The objective of this work was to evaluate the effect of the addition of different concentrations of lignin (LIG) and cellulose nanocrystals (CNC), both extracted from cashew wood fiber (CWF), on the properties of the films nanofibrilada BC (NFBC) produced from cashew juice. Nine films with different proportions of LIG and CNC were formulated and characterized chemically, physically and morphologically. In all treatments, water vapor permeability (WVP), tensile properties, solubility, contact angle and opacity were determined. Some treatments were selected to be submitted to the following analyses: Scanning Electron Microscopy (SEM), Thermogravimetric Analysis (TGA), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-ray Diffraction (XRD), antioxidant and antimicrobial activity. The films were homogeneous with color tending to brown (due to the presence of LIG), and good thermal stability. The addition of lignin altered the hydrophilic character of the films, making them more hydrophobic, incorporated phenolic compounds and antioxidant activity, however did not show antimicrobial action. As for opacity, it was possible to obtain films with a high index, indicating protection from UV light. The combination (LIG/CNC) provided significant improvements properties of (WVP), tensile strength and modulus of elasticity. It can be concluded that BC films added with LIG and CNC showed favorable characteristics for application as active packaging.

**Keywords:** Nanocomposites. Biopolymers. Biorefinery.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação esquemática da matriz lignocelulósica da madeira.....	21
Figura 2	– Representação da estrutura da lignina, com destaque para as principais unidades fenilpropânicas.....	22
Figura 3	– Principais tipos de Nanocelulose.....	24
Figura 4	– Possíveis aplicações para o uso da Celulose Bacteriana segundo a literatura.....	26
Figura 5	– A) Obtenção de CNF por oxidação a TEMPO e B) obtenção dos NCC por hidrólise ácida para fibras celulósicas.....	29
Figura 6	– Principais resíduos gerados na cajucultura.....	31
Figura 7	– Algumas tecnologias de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica: vantagens e desvantagens.....	33
Figura 8	– Etapas gerais do processo para obtenção do nanocompósito.....	38
Figura 9	– Sequências de tratamentos para as fibras da madeira do cajueiro e obtenção de nanocristais de celulose e lignina.....	39
Figura 10	– Esquema representativo do processo: A) obtenção da lignina, B) obtenção da polpa celulósica e C) obtenção dos nanocristais de celulose.....	42
Figura 11	– Esquema representativo do processo para a produção da CB e obtenção da CBNF.....	45
Figura 12	– Metodologia experimental para a produção dos nanocompósitos.....	47
Figura 13	– Aspectos das fibras após cada etapa de tratamento químico.....	57
Figura 14	– Fotomicrografias obtidas pelo MEV.....	59
Figura 15	– Gráfico FTIR das fibras.....	60
Figura 16	– Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) das fibras brutas da madeira do cajueiro (FMC); Fibra Branqueada (FBr) e nanocristais de celulose (NCC).	62
Figura 17	– Difractogramas de DRX das fibras – bruta, branqueada e NCC.....	64

Figura 18	– Filmes nanocompósitos incorporados com lignina.....	65
Figura 19	– Espectros no infravermelho das ligninas (região de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> ).....	66
Figura 20	– Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) da lignina orgonosolv e fracionada da madeira do cajueiro.....	68
Figura 21	– Espectro HSQC das regiões alifáticas e aromáticas da lignina com as principais subestruturas identificadas no espectro.....	71
Figura 22	– Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das amostras.....	72
Figura 23	– Espectro de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR) da celulose bacteriana CB e da celulose bacteriana nanofibrilada CBNF.....	74
Figura 24	– Curva termogravimétrica.....	75
Figura 25	– Difractogramas de DRX da Celulose Bacteriana (CB) e Celulose Bacteriana Nanofibrilada (CBNF).....	76
Figura 26	– Micrografias das celulosas.....	77
Figura 27	– Filmes nanocompósitos de celulose e lignina.....	78
Figura 28	– Micrografias de MEV-FEG.....	80
Figura 29	– Espectros FTIR dos nanocompósitos.....	82
Figura 30	– Curvas termogravimétricas (TG) e curvas derivadas (DTG) para filmes dos nanocompósitos.....	83
Figura 31	– Difractogramas de raios X obtidos para os filmes de CBNF e lignina.....	84
Figura 32	– Curvas de contorno para a resposta: A) PVA, B) Matéria Insolúvel e C) ângulo de contato.....	87
Figura 33	– Curvas de contorno para a resposta propriedades óticas.....	90
Figura 34	– Curvas de contorno para A) resistência à tração, B) módulo elástico e C) alongação na ruptura.....	94
Figura 35	– Efeito antimicrobiano dos filmes.....	95

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos de resíduos da biomassa utilizados para produção da CB.....	31
Tabela 2 – Condições experimentais do planejamento composto central para obtenção de nanocompósitos.....	46
Tabela 3 – Caracterização química das fibras da madeira do cajueiro bruta e branqueada.....	55
Tabela 4 – Principais frequências vibracionais ( $\text{cm}^{-1}$ ) observadas para a fibra da madeira do cajueiro bruta, branqueada e os nanocristais de celulose.....	61
Tabela 5 – Caracterização química da lignina organosolv extraída da fibra da madeira do cajueiro.....	65
Tabela 6 – Principais frequências vibracionais ( $\text{cm}^{-1}$ ) observadas para a lignina organosolv e lignina fracionada.....	67
Tabela 7 – Propriedades de Peso molecular da lignina obtida da fibra da madeira do cajueiro.....	69
Tabela 8 – Respostas obtidas para os tratamentos definidos pelo delineamento experimental para os parâmetros de hidrofobicidade.....	85
Tabela 9 – Coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.....	86
Tabela 10 – Respostas obtidas para os tratamentos definidos pelo delineamento experimental.....	89
Tabela 11 – Coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.....	90
Tabela 12 – Respostas de propriedades mecânicas obtidas para os tratamentos definidos pelo delineamento experimental.....	92
Tabela 13 – Coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.....	93
Tabela 14 – Capacidade antioxidante dos filmes a base de CBNF com adição de 7,5% e 15% de lignina.....	97

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido acético
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CB	Celulose bacteriana
CBNF	Celulose bacteriana nanofibrilada
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DRX	Difração de raios-x
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FBr	Fibra branqueada da poda do cajueiro
FDP	Fibra deslignificada da poda do cajueiro
FPC	Fibra da poda do cajueiro
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
G	Álcool coniferílico
H	Álcool <i>p</i> -cumarílico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
ICr	Índice de cristalinidade
LA	Lignina acetosolv
LN	Licor Negro
LIG	Lignina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NCC	Nanocristais de celulose
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
NaOH	Hidróxido de Sódio
PA	Polpa de Acetosolv
PC	Polpa de celulose
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
RPA	Rendimento de polpação acetosolv
RPC	Rendimento do branqueamento da celulose
RLA	Rendimento da recuperação da lignina acetosolv
RNCC	Rendimento da obtenção dos nanocristais de celulose extraídos
TGA	Análise termogravimétrica

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	16
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	16
3	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
3.1	<b>Biopolímeros de fontes renováveis e biodegradáveis</b> .....	17
3.2	<b>Fibras naturais em compósitos poliméricos</b> .....	18
3.2.1	<i>Celulose e Hemicelulose</i> .....	20
3.2.2	<i>Lignina e suas aplicações</i> .....	21
3.3	<b>Nanomateriais poliméricos a base de fibras celulósicas</b> .....	23
3.3.1	<i>Celulose Bacteriana – CB</i> .....	24
3.3.2	<i>Celulose Nanofibrilada – CNF</i> .....	26
3.3.3	<i>Nanocristais de celulose – NCC</i> .....	28
3.4	<b>Resíduos da cajucultura como fonte polimérica</b> .....	29
3.5	<b>Etapas para obtenção de nanocristais de celulose (NCC) e lignina</b> .....	32
3.5.1	<i>Pré-tratamento organosolv e a extração da lignina</i> .....	33
3.5.2	<i>Branqueamento das fibras lignocelulósicas</i> .....	34
3.5.3	<i>Hidrólise ácida e obtenção dos nanocristais de celulose-(NCC)</i> .....	35
3.6	<b>Embalagens ativas a base de celulose e aditivos naturais</b> .....	36
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	38
4.1	<b>Obtenção dos resíduos da cajucultura</b> .....	38
4.2	<b>Composição lignocelulósica da madeira do cajueiro</b> .....	39
4.3	<b>Etapas para obtenção dos nanocristais de celulose e da lignina extraídas da madeira</b> .....	39
4.3.1	<i>Polpação organosolv e obtenção da lignina</i> .....	40
4.3.2	<i>Fractionamento da lignina</i> .....	40
4.3.3	<i>Branqueamento das fibras da madeira do cajueiro</i> .....	41
4.3.4	<i>Hidrólise ácida e obtenção dos NCCs da fibra da madeira do cajueiro</i> .....	41
4.4	<b>Rendimentos das fibras obtidos no pré-tratamento químico</b> .....	42
4.4.1	<i>Rendimento do processo de polpação</i> .....	42
4.4.2	<i>Rendimento de recuperação da lignina</i> .....	43

4.4.3	<i>Rendimento fibra branqueada</i> .....	43
4.4.4	<i>Rendimento da extração dos NCCs</i> .....	44
4.5	<b>Obtenção da celulose bacteriana nanofibrilada - CBNF</b> .....	45
4.5.1	<i>Produção, purificação e oxidação da celulose bacteriana (CB)</i> .....	45
4.6	<b>Obtenção dos filmes nanocompósitos</b> .....	46
4.6.1	<i>Delineamento Experimental</i> .....	46
4.6.2	<i>Preparação dos filmes</i> .....	46
4.7	<b>Caracterização dos materiais obtidos para a formulação dos nanocompósitos</b> .....	47
4.7.1	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i> .....	48
4.7.2	<i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	48
4.7.3	<i>Difração de raios-X (DRX)</i> .....	48
4.7.4	<i>Distribuição da massa molar</i> .....	49
4.7.5	<i>Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C)</i> .....	49
4.7.6	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i> .....	49
4.7.7	<i>Microscopia eletrônica de transmissão (MET)</i> .....	50
4.7.8	<i>Potencial Zeta</i> .....	50
4.7.9	<i>Caracterização dos filmes nanocompósitos</i> .....	50
4.7.9.1	<i>Espessura</i> .....	50
4.7.9.2	<i>Opacidade</i> .....	51
4.7.9.3	<i>Solubilidade</i> .....	51
4.7.9.4	<i>Ângulo de contato</i> .....	51
4.7.9.5	<i>Teste mecânico – Ensaio de tração</i> .....	52
4.7.9.6	<i>Ensaio de permeabilidade ao vapor de água – PVA</i> .....	52
4.7.9.7	<i>Atividade antimicrobiana de filmes</i> .....	52
4.7.9.8	<i>Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante nos filmes</i> .....	53
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	55
5.1	<b>Caracterização da fibra da madeira do cajueiro</b> .....	55
5.1.1	<i>Composição Lignocelulósica</i> .....	55
5.1.2	<i>Rendimentos obtidos do pré-tratamento químico da fibra da madeira do cajueiro</i> .....	57
5.1.3	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV</i> .....	58
5.1.4	<i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	60

5.1.5	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i> .....	62
5.1.6	<i>Difração de Raios-X (DRX)</i> .....	63
5.2	<b>Caracterização e fracionamento da lignina</b> .....	65
5.2.1	<i>Análises de Infravermelho (FTIR) das ligninas</i> .....	66
5.2.2	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i> .....	68
5.2.3	<i>Cromatografia de permeação em Gel (GPC)</i> .....	69
5.2.4	<i>Ressonância Magnética Nuclear</i> .....	70
5.3	<b>Caracterização dos nanocristais de celulose da fibra da poda do cajueiro</b> .....	72
5.3.1	<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET e Potencial Zeta</i> .....	72
5.4	<b>Caracterização da celulose bacteriana (CB) e nanofibrilada</b> .....	73
5.4.1	<i>Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier</i> .....	73
5.4.2	<i>Análise Termogravimétrica – TGA</i> .....	74
5.4.3	<i>Difração de Raios-X da CB e CBNF</i> .....	76
5.4.4	<i>Microscopia Eletrônica de varredura (MEV) e Microscopia eletrônica de transmissão (MET) para celulose bacteriana</i> .....	77
5.5	<b>Caracterização dos filmes nanocompósitos</b> .....	78
5.5.1	<i>Aspecto visual e espessura dos filmes nanocompósitos</i> .....	78
5.5.2	<i>A microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i> .....	79
5.5.3	<i>FTIR dos nanocompósitos</i> .....	81
5.5.4	<i>Análise termogravimétrica</i> .....	82
5.5.5	<i>Difração de Raios X</i> .....	84
5.5.6	<i>Parâmetro de Hidrofobicidade - Respostas experimentais, coeficientes de regressão e curvas de contorno</i> .....	85
5.5.7	<i>Parâmetro de ópticas - Respostas experimentais, coeficientes de regressão e curvas de contorno</i> .....	89
5.5.8	<i>Parâmetros mecânicos - Respostas experimentais, coeficientes de regressão e curvas de contorno</i> .....	92
5.5.9	<i>Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante nos filmes</i> .....	95
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	100
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	101

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos industrializados cresceu consideravelmente nos últimos anos e tal fato gerou um dos maiores desafios da indústria de alimentos: a preocupação com os resíduos de embalagens gerados (AHMED *et al.*, 2017). Outro fator perceptível é a mudança de comportamento dos consumidores, que buscam cada vez mais embalagens amigáveis, o que impulsiona a utilização de matérias-primas oriundas de fontes renováveis (GARCÍA *et al.*, 2016; RONG; MUBARAK; TANJUNG, 2017). Por essa razão, a indústria de embalagens para alimentos busca alternativas que utilizem fontes naturais na composição de seus produtos, como substituintes dos polímeros sintéticos que são oriundos do petróleo. Estes, apesar de serem bastante eficientes quanto às suas propriedades físicas, podem ser tóxicos e não biodegradáveis (HUANG *et al.*, 2018; MAACHE *et al.*, 2017).

Dentro deste contexto, sabe-se que o Brasil se destaca mundialmente pelo agronegócio, possuindo grandes áreas cultiváveis de frutas, grãos e cereais. Dentre estes cultivos, destaca-se a cajucultura, mais concentrada na região Nordeste. O último levantamento da safra de 2018, realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), mostrou que foram produzidas 140 mil toneladas de castanhas do caju no Brasil. Desta produção, grande parte é constituída de subprodutos e resíduos, principalmente de poda do cajueiro ou pedaços de madeira. Estes materiais são gerados em grandes quantidades anualmente, principalmente no período da safra deste fruto, e são destinados principalmente para indústria de combustíveis em usinas (SERRANO; PESSOA, 2016). Estudos estão sendo realizados sobre a obtenção, caracterização e utilização destes subprodutos ou resíduos, como potenciais agentes de reforço em materiais compósitos (MAACHE, *et al.*, 2017).

Filmes a base de celulose geralmente possuem boas propriedades de barreira a gases e propriedades mecânicas moderadas (KHALIL *et al.*, 2017). Todavia, estes filmes mostram uma natureza hidrofílica e, como consequência, propriedades físicas muito suscetíveis à umidade (SIQUEIRA; BRAS; DUFRESNE, 2010; GUTIÉRREZ; ALVAREZ, 2017). Um material bastante apropriado para obtenção dessas embalagens é a celulose bacteriana (CB), que se diferencia da celulose vegetal principalmente por apresentar fibras de caráter nanométrico contra o micrométrico do vegetal. Tais características conferem à CB uma maior pureza, maior cristalinidade e excelentes propriedades mecânicas como maior resistência à tração (WANG *et al.*, 2018). Portanto, as características da CB proporcionam variadas aplicações industriais em diferentes áreas da engenharia de materiais. O uso de nanofibras e nanocristais oriundos de fibras celulósicas vegetais ou bacterianas são promissoras conforme o

apresentado em diferentes pesquisas científicas (DUFRESNE, 2017; AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017; SHEIKHI *et al.*, 2019; AZEREDO *et al.*, 2019).

Variados trabalhos desenvolvidos no laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical – Brasil remetem ao uso de fibras celulósicas para produção de filmes biodegradáveis, como filmes de CB reforçados com nanocristais de celulose (NASCIMENTO *et al.*, 2018); filmes de CB adicionados de hidrolisado de gelatina da pele de tilápia (LIMA *et al.*, 2018), compósitos à base de CB e goma do cajueiro (SILVA, 2018); bem como filmes de pectina reforçados com nanofibras de celulose bacteriana (VIANA *et al.*, 2018).

Outra substância abundante presente em materiais vegetais, e que se destaca pelo seu potencial antioxidante, é a lignina (YANG *et al.*, 2016; FIGUEIREDO *et al.*, 2018). Estimativas apontam que dos 70 milhões de toneladas de lignina obtida nos processos de polpação, menos de 2% é isolada e utilizada em aplicações de alto valor agregado (AHUJA; KAUSHIK; SINGH, 2018). Alguns estudos apontam que o aproveitamento deste subproduto em biocompósitos poliméricos apresenta menor permeabilidade ao vapor de água, maior resistência à tração, assim como menor alongamento na ruptura, quando comparados a amostras que não o continham em suas composições (SHANKAR; RHIM; WON, 2018; AADIL; PRAJAPATI; JHA, 2016; LIU *et al.*, 2017 ; DÖRRSTEIN *et al.*, 2018). Mesmo que a presença de nanocelulose (CB/NCC) tenha mostrado uma mudança no caráter hidrofílico dos filmes, frente a estudos realizados com diferentes matrizes, a presença da lignina poderá potencializar esses valores. Em alguns casos, a adição de lignina à biocompósitos resultou em materiais aptos a competir com termoplásticos sintéticos (TRIBOT *et al.*, 2019).

Neste contexto, resíduos do agronegócio podem ser considerados materiais lignocelulósicos com alto potencial para estes fins (LUZI *et al.*, 2017; SANJAY *et al.*, 2018), embora esses resíduos necessitem, na sua maioria, de um tratamento prévio. No entanto, o baixo valor comercial e a alta disponibilidade na agroindústria brasileira, enaltecem a importância dessas matérias-primas, a exemplo dos resíduos do cajueiro, como fontes de biomoléculas como a nanocelulose e a lignina (GARCÍA, *et al.*, 2016).

Face ao exposto, com o intuito de contribuir com o desenvolvimento de materiais de embalagens biodegradáveis com boas propriedades mecânicas e de barreira para aplicação no setor alimentício, este trabalho propõe um processo para extração de lignina e isolamento de nanocristais de celulose a partir de fibras da madeira do cajueiro, com intuito de utilizá-los como fase de reforço mecânico e de barreira em filmes à base de CB, proporcionando explorar o potencial da lignina e dos NCCs obtidos a partir de resíduos da cajucultura.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Produzir e caracterizar filmes à base de celulose bacteriana nanofibrilada (CBNF) contendo lignina e nanocristais de celulose (NCC) extraídos da poda do cajueiro (madeira).

### 2.2 Objetivos específicos

- Extrair e caracterizar lignina por extração acetosolv;
- Extrair e caracterizar nanocristais de celulose por hidrólise ácida, a partir da madeira do cajueiro;
- Obter celulose bacteriana (CB) por *Komagataeibacter xylinus* ATCC 53582 em cultivo estático utilizando o suco de caju como fonte alternativa;
- Desenvolver filmes nanocompósitos à base de celulose bacteriana nanofibrilada – CBNF utilizando a lignina e NCC da madeira do cajueiro como agente de reforço;
- Caracterizar os filmes nanocompósitos quanto às suas propriedades físicas, mecânicas, morfológicas, estruturais, térmicas, ópticas e de barreira;
- Avaliar o efeito da concentração de lignina sobre as atividades antimicrobiana e antioxidante de filmes a base de CBNF e NCC obtidos por *casting*;

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Biopolímeros de fontes renováveis e biodegradáveis

Embalagens plásticas elaboradas a partir de materiais de origem petroquímica são um problema para o meio ambiente devido ao grande volume de descarte e ao longo tempo de degradação desses materiais (SANJAY *et al.*, 2018). Segundo Rhim, Park e Há (2013), 90% dos materiais plásticos utilizados no mundo são produzidas a partir de resinas derivadas de fontes fósseis, causando acúmulos no meio ambiente quando descartadas de maneira incorreta. Deste total, mais de 40% são utilizados para embalagens, dos quais quase metade é usada para embalagens de alimentos. Logo, pesquisas recentes têm buscado fontes alternativas de embalagens que protejam os alimentos sem prejudicar o meio ambiente (AHMED *et al.*, 2017; HUANG *et al.*, 2018).

Visando reverter esse quadro, várias pesquisas estão sendo desenvolvidas para incrementar ou desenvolver materiais que possam substituir, em algumas aplicações, os polímeros derivados do petróleo (COSTA *et al.*, 2016; TANG *et al.*, 2017). Neste contexto, o desenvolvimento de compósitos obtidos a partir de fontes renováveis é de fundamental importância para as indústrias, com um crescente número de empresas, dos mais variados setores, que vêm buscando estes materiais a fim de minimizar sua imagem como empresas conscientes em relação aos problemas ambientais (XING *et al.*, 2018; TRIBOT *et al.*, 2019).

A expansão do conhecimento a respeito desses materiais biodegradáveis pode impulsionar a produção deste tipo de material em maiores quantidades e, conseqüentemente, reduzir o custo de produção em escala global. Segundo dados fornecidos pela European Bioplastics (BIOPLASTICS, 2018), o crescimento destes produtos é exponencial e extremamente otimista, principalmente para os próximos anos, estimando uma produção mundial em torno de 2 milhões de toneladas em 2020. Embora apenas 0,5% do total de plástico produzido no mundo possa ser considerado biodegradável, a previsão é de que os bioplásticos venham reduzir de 15 a 20% o consumo de plásticos até 2025.

Diferentes setores da indústria têm investido em polímeros obtidos a partir de fontes renováveis. A Sony substituiu 95% do plástico utilizado na carcaça do Walkman pelo seu equivalente biodegradável; a Toyota, desde 2003, utiliza bioplásticos, com materiais oriundos de beterraba e cana-de-açúcar; a BASF desenvolveu bioplásticos que se decompõem completamente em até 180 dias, em oposição alguns tipos de plástico, como garrafas PET, que levam mais de 200 anos para se decompor; a Tetra Pak também vem utilizando materiais de

alta qualidade a partir de celulose reciclada (XING *et al.*, 2018); a Braskem inaugurou no Brasil, em 2010, a maior fábrica do mundo de polietileno produzido a partir do etanol da cana-de-açúcar e em 2018 a empresa lançou um biopolímero 100% reciclável para ser utilizado nas embalagens de pães da empresa Nutrella (BASKEM, 2018). Entretanto, as limitações acerca da maior utilização de biopolímeros e polímeros renováveis residem ainda na baixa escala de produção do material (AHMED *et al.*, 2017).

Propriedades físico-químicas apresentadas por alguns biopolímeros fazem com que estes materiais apresentem um desempenho inferior em relação aos polímeros tradicionais, o que também limita sua aplicabilidade (RONG; MUBARAK; TANJUNG, 2017). Mesmo diante de tantas vantagens para utilização de materiais oriundos de fontes renováveis, ainda há gargalos no processo de síntese destes biopolímeros, bem como dificuldades em torná-los competitivos frente aos sintéticos (RONG; MUBARAK; TANJUNG, 2017). Logo, o interesse em intercalar os polímeros sintéticos não biodegradáveis por materiais biodegradáveis é crescente, e a previsão é que aumente até em 30% sua produção no mercado mundial (BIOPLASTICS, 2018; SUKYAI *et al.*, 2018).

A grande disponibilidade de fontes de fibras celulósicas de baixo valor comercial no Brasil, principalmente na região Nordeste, justifica a utilização destas fibras como fontes de matéria-prima para a obtenção de nanomateriais, cujas propriedades mecânicas são as principais características investigadas na utilização deste material (LABIDI *et al.*, 2019; SIQUEIRA; BRAS; DUFRESNE, 2010). Portanto, inúmeras pesquisas estão sendo realizadas com a finalidade de se descobrir novas fontes formadoras de plásticos, bem como melhorar suas características (RONG; MUBARAK; TANJUNG, 2017; JAYARAMUDU *et al.*, 2019). Estima-se que nos próximos anos os plásticos convencionais possam ser facilmente substituídos por materiais que possuam propriedades físicas muito semelhantes, bem como sejam compatíveis com as demandas de maior cuidado ao meio ambiente. Uma alternativa promissora para essa nova geração de embalagens de alimentos é sua produção a base de nanomateriais (BIDEAU *et al.*, 2017).

### **3.2 Fibras naturais em compósitos poliméricos**

Existem diferentes fontes de fibras lignocelulósicas disponíveis. Algumas são cultivadas comercialmente, em maior escala, e outras são encontradas em resíduos agroindustriais, representando uma fonte de grande potencial para a produção de fibras naturais

tendo em vista as aplicações em compósitos nas escalas macro, micro ou nano (SOUZA *et al.*, 2015; GARCÍA *et al.*, 2016; LUZI *et al.*, 2017).

De acordo com Sbiai *et al.* (2011), as fibras extraídas da madeira e plantas têm recebido crescente atenção como uma alternativa às fibras de vidro. Isso ocorre devido ao seu caráter renovável combinado com baixo custo e abundância. Maache *et al.* (2017) também avaliaram o potencial de fibras lignocelulósicas extraída de *Juncus effusus* L., uma planta silvestre amplamente disponível na Argélia, a fim de avaliar a possibilidade de usá-la como reforço em materiais biocompósitos. Os resultados destes autores mostraram que essas fibras poderiam ser uma alternativa para fibras sintéticas convencionais.

Tais exemplos reforçam a relevância do uso de fibras à base de celulose como grande potencial para uso em matriz de compósitos poliméricos (SÁNCHEZ-SAFONT *et al.*, 2018). Tais fibras são usadas para reforçar materiais plásticos devido à sua elevada rigidez e baixa densidade (MAACHE *et al.*, 2017; SEPE *et al.*, 2018), mostrando resultados promissores e se tornando uma alternativa ao uso de fibras sintéticas, para diferentes setores industriais, tais como automóveis, embalagens, e até mesmo no setor da construção civil (SANJAY *et al.*, 2018; SEPE *et al.*, 2018; AHMED *et al.*, 2017).

Vários trabalhos relatam o uso de fibras vegetais como aditivos viáveis para produção de filmes biodegradáveis, tendo como alguns exemplos os filmes de amido reforçados com nanocristais de celulose da casca de café (COLLAZO-BIGLIARDI *et al.*, 2018); compósitos à base de fibras alfa celulósicas da madeira (LABIDI *et al.*, 2019) e filmes reforçados com nanofibras de celulose derivados do bambu (KWAK *et al.*, 2018).

Diante do exposto, o estudo de fibras naturais para processos industriais tem despertado crescente interesse, visto que esses materiais são gerados em grandes quantidades em diversos países e em regiões que apresentam intensa atividade agroindustrial (LABIDI *et al.*, 2019; SEPE *et al.*, 2018; GARCÍA *et al.*, 2016). No entanto, a utilização efetiva dessas fibras naturais em larga escala depende de diversos fatores, principalmente àqueles relacionados a melhorias de processamento, associado à otimização dos custos de obtenção do produto final relativos ao processo (MAACHE *et al.*, 2017). Dentre as etapas de processamento, a separação dos componentes lignocelulósicos é um dos principais obstáculos à utilização dos recursos renováveis de forma eficiente, e é caracterizada como uma etapa obrigatória para sua utilização no campo nanotecnológico (SHEIKHI *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2019).

As tecnologias de processamento para a transformação da biomassa vegetal em materiais poliméricos dependem das características químicas e estruturais inerentes aos materiais lignocelulósicos. Sendo assim, é de extrema importância um estudo sobre o grau de

polimerização, o índice de cristalinidade, a composição da lignina entre outros, desses materiais (LUZI *et al.*, 2017; SÁNCHEZ-SAFONT *et al.*, 2018; CAMPOS *et al.*, 2017b; SEPE *et al.*, 2018).

Os materiais lignocelulósicos que serão abordados a seguir são constituídos majoritariamente por três polímeros estruturais: celulose, hemiceluloses e o polímero aromático lignina, componentes presentes na parede celular vegetal (NARITA *et al.*, 2019).

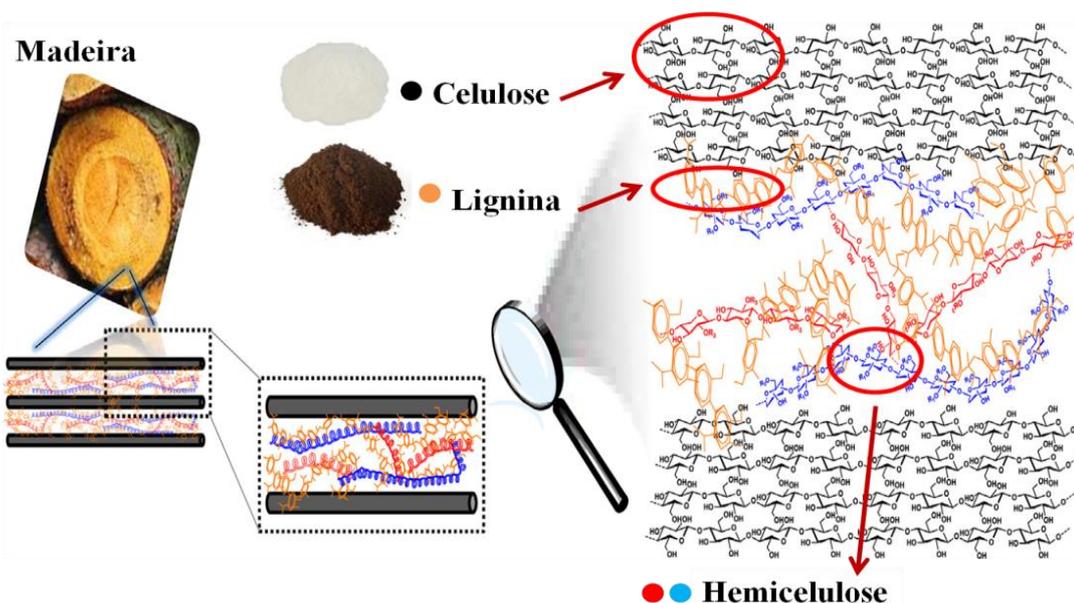
### **3.2.1 Celulose e Hemicelulose**

A celulose ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub> consiste em um polissacarídeo (carboidrato composto por várias moléculas de monossacarídeos) formado por cadeias lineares não ramificadas de moléculas de β-D-glicose, unidas por ligação glicosídicas do tipo β (1→4). A unidade repetitiva da celulose, conhecida como celobiose, contém seis grupos hidroxila que estabelecem interações do tipo ligações de hidrogênio intra e intermolecular (NECHYPORCHURK *et al.*, 2016). Estas interações são responsáveis pela rigidez da cadeia, pela formação de fibras retas e estáveis, que levam a elevada resistência mecânica e fazem com que a celulose seja insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos.

As hemiceluloses, também chamadas de polioses, referem-se a vários polissacarídeos de baixa massa molar que estão intimamente associados com a celulose nos tecidos das plantas (GUTIÉRREZ; ALVAREZ, 2017). São formadas por diversas variedades de açúcares que variam entre as espécies dos vegetais. As polioses formam estruturas amorfas e com baixo grau de polimerização e, estruturalmente, proporcionam cadeias laterais que interagem espontaneamente com a celulose, dando estabilidade e flexibilidade à fibra (PONNUSAMY *et al.*, 2019).

A Figura 1 mostra a estrutura das principais fibras vegetais em matriz lignocelulósica.

Figura 1 - Representação esquemática da matriz lignocelulósica da madeira.



Fonte: Tribot *et al.* (2019), adaptada pela autora.

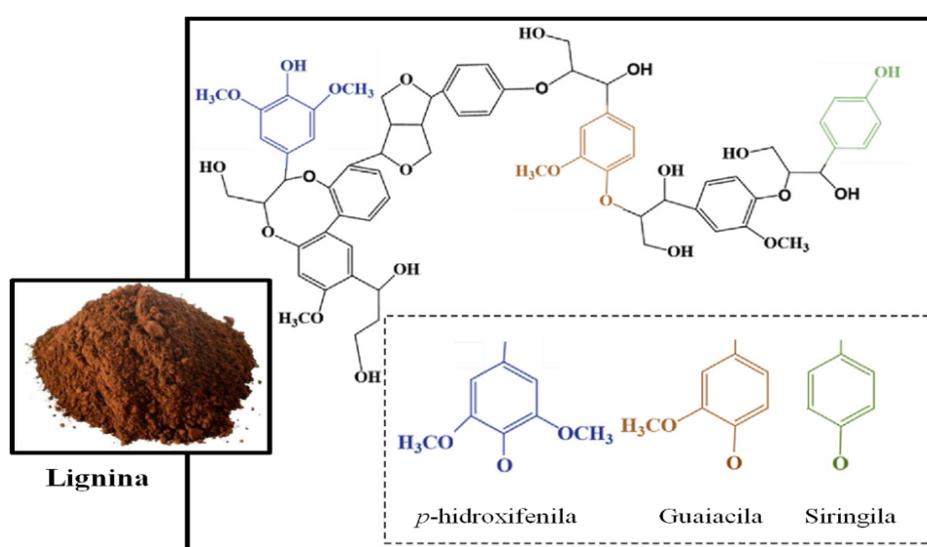
### 3.2.2 Lignina e suas aplicações

A lignina é um material que contém um grande número de funcionalidades químicas na sua estrutura molecular, tornando-a um componente adequado para as aplicações em polímeros (KUN; PUKÁNSZKY, 2017). É um composto bastante promissor, pois além de apresentar grupos fenólicos, tem potencial para melhorar a característica mecânica e a estabilidade térmica do compósito (ABDELWAHAB; MISRA; MOHANTY, 2019). Com estrutura heterogênea e alto teor de carbono este polímero está presente em todos os vegetais e ocupa a posição de segunda macromolécula orgânica mais abundante da natureza, representando cerca de 30% de todo carbono orgânico não fóssil, atrás apenas da celulose e constitui uma fração de 10-25% da biomassa lignocelulósica (AHUJA; KAUSHIK; SINGH, 2018; TRIBOT *et al.*, 2019).

Este componente vegetal é definido como um material amorfo e polifenólico, derivado da polimerização desidrogenativa de três estruturas fenilpropanóides: álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool p-cumarílico. Estes dão origem a um vasto número de grupos funcionais e ligações, levando a formação de um polímero complexo e tridimensional (FIGUEIREDO *et al.*, 2018). Devido à sua complexidade e variedade estrutural nos diferentes tipos de planta, a lignina é considerada basicamente um resíduo da produção de celulose, papel e etanol e é utilizada largamente na combustão para produção de energia

(HAMBARDUZUMYAN *et al.*, 2015; TRIBOT *et al.*, 2019). Estudos recentes têm promovido aplicabilidades de maior valor agregado a esse composto, entretanto, sua utilização comercial está limitada a menos de 2% de sua produção (AHUJA *et al.*, 2018; FIGUEIREDO *et al.*, 2018; KUN; PUKÁNSZKY, 2017). A Figura 2 mostra a estrutura da lignina, com destaque para as principais unidades fenilpropânicas.

Figura 2 - Representação da estrutura da lignina, com destaque para as principais unidades fenilpropânicas.



Fonte: Jayaramudu *et al.* (2019), adaptada pela autora.

As principais aplicações da lignina são: produção de resina fenólica; alimentação animal; uso como dispersantes; uso em biocompósito, aditivos e formação de blendas poliméricas; surfactantes; espessantes; aplicação em química fina; produtos cerâmicos; pesticidas; aditivos em concreto e cimento; entre outros (KUN; PUKÁNSZKY, 2017; FIGUEIREDO *et al.*, 2018). Propriedades como sua resistência à tensão mecânica, alta estabilidade térmica, atividade antioxidante, biodegradabilidade, ações antimicrobianas, propriedades adesivas e plastificantes, bem como absorvedor de radiação UV possibilitam sua incorporação em filmes poliméricos biodegradáveis ou não (TRIBOT *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2019). Muitas propriedades dos polímeros naturais à base de lignina permanecem desconhecidas ou pouco exploradas devido às estruturas complexas da lignina, sendo necessário estabelecer parâmetros ideais para a compatibilidade das propriedades mecânicas, através do ajuste do tipo e a quantidade de lignina (NARITA *et al.*, 2019).

Por ser mais estável termicamente do que celulose ou hemiceluloses, a lignina tem sua inclusão em nanomateriais de celulose proporcionando melhor estabilidade térmica (POLETTO *et al.*, 2012; JAYARAMUDU *et al.*, 2019). Além disso, a lignina (dentro da parede celular) pode ser usada para ajustar a polaridade e a hidrofobicidade da celulose (WANG *et al.*, 2019). Segundo Gutiérrez e Alvarez (2017), há poucos estudos sobre compósitos poliméricos reforçados com lignina. Nesse contexto muitas estratégias já foram desenvolvidas para o avanço de pesquisas com lignina e uma delas é utilizá-las como um insumo químico para a produção de compósitos (AVELINO *et al.*, 2019).

### 3.3 Nanomateriais poliméricos a base de fibras celulósicas

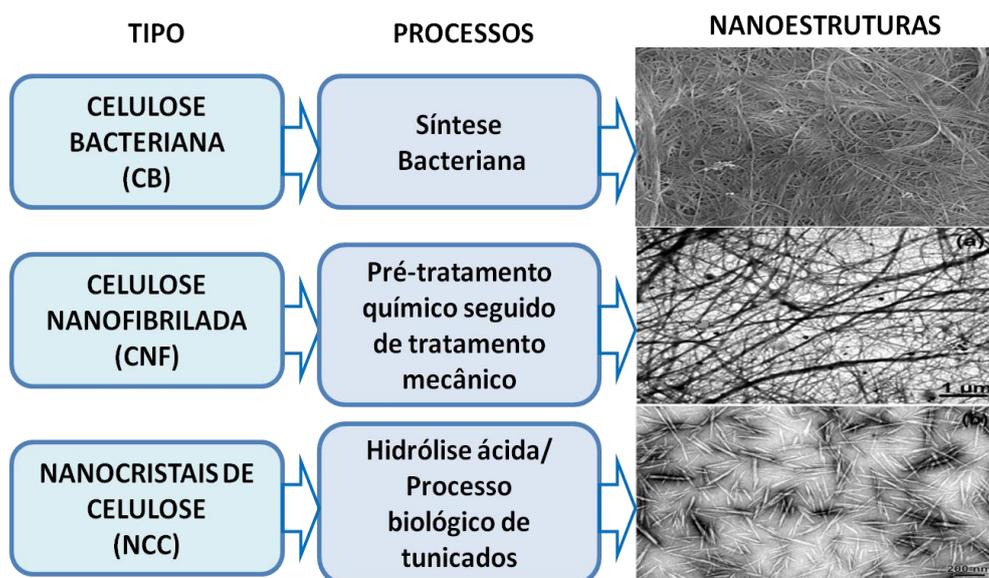
Embalagens oriundas de fibras celulósicas e nanotecnologias constituem uma nova tendência do mercado (GUTIERREZ; ALVAREZ; 2017; HUANG *et al.*, 2018; AZEREDO *et al.*, 2019), os quais apresentam propriedades significativamente melhoradas e diferenciadas (FELFEL *et al.*, 2018). Nos últimos anos, a nanotecnologia tem nos surpreendido com uma gama de possibilidades extremamente amplas na obtenção de novos materiais com propriedades físicas e químicas controladas (BIDEAU *et al.*, 2017; DUFRESNE, 2017).

Nanocompósitos poliméricos são, sem sombra de dúvidas, o futuro de toda ciência e engenharia de materiais (WU; WANG; HUANG, 2018). Pequena porcentagem de nanoreforço provenientes de fibras celulósicas poderá criar uma área de superfície de contato muito maior para interações em polímeros carregados do que nos compósitos convencionais, refletindo em grandes melhorias nas propriedades mecânicas desses materiais (SIQUEIRA; BRAS; DUFRESNE, 2010; SÁNCHEZ-SAFONT *et al.*, 2018; CAMPOS *et al.*, 2017b; SEPE *et al.*, 2018). Todavia, o desenvolvimento técnico de nanomateriais poliméricos, principalmente para o uso em embalagens de alimentos, tem que superar ainda vários obstáculos tais como: segurança, tecnologia, regulamentação e normalização (SHEIKHI *et al.*, 2019; BIDEAU *et al.*, 2017).

A terminologia e nomenclatura de nanoestruturas de celulose foi proposta pela Associação Técnica da Indústria de Celulose e Papel (TAPPI), onde os nanocristais de celulose (NCC) apresentam estrutura cristalina pura e dimensões de 3-10 nm em diâmetro e razão de aspecto (relação da maior para a menor dimensão) maior que 5 e geralmente menor que 50. Por outro lado, celulose nanofibrilada (CNF) é uma nanocelulose que contém regiões cristalinas e regiões amorfas, com dimensões de 5-30 nm de largura e proporção geralmente superior a 50 (TAPPI WI 3021, 2014). Ambos são produtos obtidos a partir da celulose por meio de processos

mecânicos, químicos, físicos e/ou biológicos que apresentam elevado potencial para serem utilizados como reforço no desenvolvimento de novos materiais (TABARSA *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2018; AZEREDO *et al.*, 2019). A Figura 3 mostra os principais tipos de nanocelulose e suas nanoestruturas.

Figura 3 - Principais tipos de Nanocelulose.



Fonte: Dufresne (2017), adaptada pelo autora.

Em vista disso, a nanocelulose já vem sendo estudada como potencial material para o desenvolvimento de filmes nanoestruturados e aplicação em embalagens. Como matrizes poliméricas, essas nanoestruturas servem para promover o melhoramento das propriedades físicas desses filmes (AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017; BIDEAU *et al.*, 2017; LEITE *et al.*, 2017; SUKYAIL *et al.*, 2018). Publicações nos últimos anos refletem o crescimento de pesquisas científicas que abordam a preparação e caracterização deste tipo de materiais (YANG *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2018; TANG *et al.*, 2017; BIDEAU *et al.*, 2017). A seguir, serão abordados os principais tipos de nanocelulose que foram aplicados para elaboração dos filmes obtidos neste trabalho.

### 3.3.1 Celulose Bacteriana – CB

Bactérias do gênero *Komagataeibacter* (anteriormente *Gluconacetobacter*) são bactérias não patogênicas, comumente encontradas em frutas e vegetais, que apresentam a

capacidade de produzir nanofibras de celulose pura (KUO *et al.*, 2016; PACHECO *et al.*, 2017; AZEREDO *et al.*, 2019). É válido ressaltar que quase que a totalidade da produção mundial de celulose, para usos comerciais, é obtida a partir de materiais vegetais, tornando ainda mais relevante a produção de celulose bacteriana como rota alternativa e sustentável para síntese deste material. Sendo assim, há um grande interesse com relação à produtividade da celulose bacteriana (CB). Diversos autores têm trabalhado sobre este enfoque, utilizando diferentes formas de cultivo em contraste com o cultivo tradicional, bem como diversas fontes para sua produção, como subprodutos da indústria de alimentos (MOHAMMADKAZEMI; AZIN; ASHORI, 2015; SALARI *et al.*, 2018).

O interesse na produção de CB tem aumentado nos últimos anos devido ao seu grande potencial de uso na área da medicina, produção de cosméticos, engenharia de materiais e, especificamente, para elaboração de embalagens de alimentos (AZEREDO; ROSA e MATTOSO, 2017; CACICEDO *et al.*, 2016; STUMPF *et al.*, 2018; VIANA *et al.*, 2018). Azeredo *et al.* (2019) descrevem as principais condições do bioprocessamento que afetam a produção da CB e relatam as possíveis aplicações para alimentos como nata-de-coco e produtos similares; substituto de gordura; produção de sorvetes; análogos de carne; estabilizadores de emulsões; imobilizadores de probióticos e enzimas, bem como uso em embalagens de alimentos.

Há ainda aplicações em desenvolvimento, como a produção de curativos para recuperação de pacientes com ferimentos ou queimaduras, tendo como principal produtora no Brasil a empresa Bionext Produtos Biotecnológicos Ltda (DUARTE *et al.*, 2019; STUMPF *et al.*, 2018). Assim, a CB tem um futuro promissor como ingrediente único para diferenciados novos produtos alimentares, incluindo os filmes comestíveis (AZEREDO *et al.*, 2019). A Figura 4 apresenta algumas das diferentes aplicações da CB.

A CB, portanto, é um produto com elevada aplicabilidade industrial. Sua produção, se comparada à celulose vegetal (CV), é mais versátil, econômica e também ecologicamente sustentável, devido à diminuição do impacto ambiental ao eliminar a produção de efluentes tóxicos (TABARSA *et al.*, 2017). Estudos buscam otimização do cultivo, pois ainda são incompatíveis com a demanda por CV na produção de papel, por exemplo. Ambas as celuloses possuem a mesma fórmula química, porém a grande vantagem da CB se refere à pureza, uma vez que não contém lignina, hemiceluloses e outros constituintes presentes em materiais lignocelulósicos, tornando o processo de purificação com menor possibilidade de contaminação (BARUD *et al.*, 2011; NECHUPORCHUK *et al.*, 2016). Além disto, suas propriedades físicas são superiores devido ao tamanho das fibras, que são cerca de 100 vezes menores quando comparadas à CV.

Figura 4 - Possíveis aplicações para o uso da Celulose Bacteriana segundo a literatura.



Fonte: Elaborada pela autora.

### 3.3.2 Celulose Nanofibrilada – CNF

Um dos métodos para obtenção da celulose nanofibrilada é a desfibrilação mecânica, no qual a celulose pode ser reduzida a diâmetros muito pequenos (DESMAISONS *et al.*, 2017). De acordo com Nechyporchuk (2016), o desafio associado ao isolamento de CNF é a alta demanda de energia exigida pelo processo, que pode ser amenizada através do pré-tratamento do material para facilitar a desintegração das fibras (DUFRESNE, 2017; LIMA *et al.*, 2018). Segundo Willberg-Keyrilainen *et al.* (2017), as CNFs são os biomateriais mais estudados nos últimos anos, apresentando bom potencial para aplicações em embalagens, devido a sua excelente resistência mecânica e propriedades de barreira ao oxigênio (LICHTENSTEIN; LAVOINE, 2017; VIANA *et al.*, 2018). Tarrés *et al.* (2017) avaliaram que é possível obter nanofibras lignocelulósicas da serragem de madeira aplicadas para a produção de sacos de papel reciclados.

Para o isolamento de CNF, dois tipos de equipamentos são empregados: homogeneizadores e microfluidizadores. Deste modo, CNF consiste em um material obtido pela desintegração da celulose submetida a um processo mecânico de homogeneização, no qual é degradada, promovendo a exposição e abertura das superfícies anteriormente situadas no

interior das fibras, as fibrilas e as microfibrilas (DUFRESNE, 2017; LIMA *et al.*, 2018). Este processo ocasiona um aumento da superfície externa, possibilitando uma maior área de contato e maior capacidade de gerar fortes ligações de hidrogênio entre as microfibrilas da parede celular, produzindo então, um material com alta resistência (NECHYPORCHUK *et al.*, 2016).

A maioria dos estudos usam fibras de celulose isentas de lignina ou com baixo teor de lignina para produção de CNF (NAIR *et al.*, 2017). Como o estudo de Dou *et al.* (2019), que elaboraram filmes contendo lignina da casca de salgueiro. As CNF apresentavam-se hidrofóbicas resultantes da condensação da lignina residual com substâncias aromáticas de baixo peso molecular que também estavam presentes na casca. Logo, a abundância de aplicações, bem como as possíveis variações nas propriedades dos materiais, justificam o interesse cada vez maior em estudos que proporcionem o conhecimento das principais propriedades e características deste tipo de nanocelulose (LICHTENSTEIN; LAVOINE, 2017; CAMPOS *et al.*, 2017a; BIDEAU *et al.*, 2017; JAYARAMUDU *et al.*, 2019). Dentre estas aplicações estão a produção de papéis mais resistentes, filmes com boas propriedades ópticas (transparência) e aerogéis (DING *et al.*, 2018).

A modificação química da celulose por oxidação é normalmente conduzida pela reação com um agente oxidante, em temperatura e pH controlados, com a possibilidade de ser realizada por diferentes métodos, dentre as quais a oxidação por ozônio apresenta-se como uma saída sustentável para esta modificação e vem sendo bastante estudada. Pesquisas também mostram a oxidação de nanofibras de celulose com periodato de sódio ( $\text{NaIO}_4$ ; pH 6,1) (MAGALHÃES *et al.*, 2018).

Contudo, dentre os pré-tratamentos químicos utilizados na produção de CNF se destaca o uso da oxidação mediada pelo radical 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPO) (LICHTENSTEIN; LAVOINE, 2017). Nesta oxidação são introduzidos grupos carboxílicos e aldeídos na superfície das fibras de celulose sendo um dos métodos mais promissores na medida em que se conseguem as celuloses com menor tamanho (WU *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2019). Nascimento *et al.* (2019) mostraram que é possível combinar oxidação mediada pelo radical TEMPO e misturador de alta rotação para obter nanofibras de celulose e produzir filmes. Este método mecânico de fibrilação leva a formação de um gel com elevado teor de água, variando de 98,5 a 99,5% (Ver figura 5).

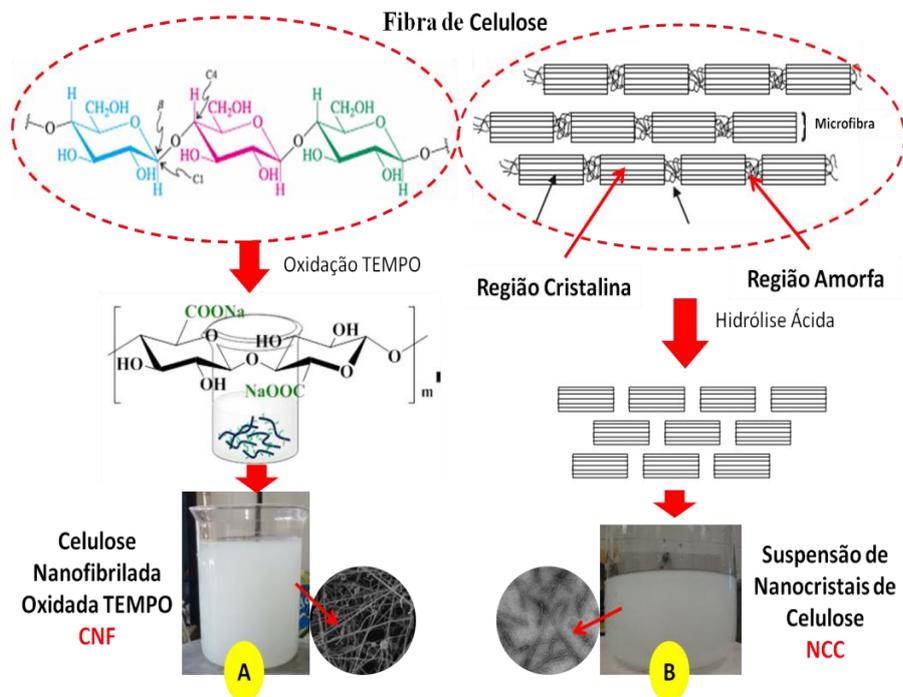
### 3.3.3 Nanocristais de Celulose – NCC

Nanocristais de celulose (NCC) são os domínios cristalinos de fontes celulósicas obtidos principalmente por hidrólise ácida, possuindo características de elevada rigidez, alta cristalinidade e tamanho nanométrico (NECHYPORCHURK *et al.*, 2016). Essas nanopartículas, quando isoladas em solução, têm sido incorporadas e avaliadas como material de reforço em matrizes poliméricas, devido ao seu potencial para melhorar as propriedades mecânicas, de barreira, térmicas e ópticas (GONÇALVES *et al.*, 2018). Quando incorporadas em matrizes obtidas de fontes renováveis, resultam na formação de bionanocompósitos totalmente biodegradáveis (AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017). Segundo Morais *et al.* (2013), os NCCs podem ser empregados tanto como uma forma de valorizar um resíduo agroindustrial gerado em grande volume ou como uma fonte de matéria-prima revolucionária para uso no desenvolvimento de novos produtos. De acordo com Shankar, Rhim e Won (2018), nanocompósitos baseados em NCC e lignina têm alto potencial para a aplicação em embalagens de alimentos ativos podendo prolongar o prazo de validade dos alimentos embalados.

Diversas técnicas foram desenvolvidas recentemente para permitir a fabricação de nanomateriais de celulose com ótimas propriedades para uma variedade de aplicações (LESZCZYŃSKA *et al.*, 2018). De acordo com Xing *et al.* (2018), a produção de NCC de valor agregado a partir de resíduos de fibras agrícolas subutilizadas atraiu ampla atenção devido as preocupações econômicas e ambientais. Como exemplo destas fibras agroindustriais, estão os resíduos da poda do kiwi (*Actinidia deliciosa*), em pesquisa de Luzi *et al.* (2017), que foram utilizados para a extração NCC e as nanoestruturas celulósicas resultantes foram usadas como reforço em filmes à base de quitosana e poli (vinil álcool) (PVA). Já Wei *et al.* (2018) estudaram o desempenho de NCC com elevado conteúdo de lignina em compósitos PLA - poli (ácido láctico) e observaram uma maior estabilidade térmica, maior cristalinidade, superfícies mais hidrofóbicas, menor grau de aglomeração e maior área superficial. Logo, a adição de NCC com alto teor de lignina aumentou a resistência dos compósitos em comparação com PLA puro, concluindo-se que a lignina também pode ser usada como agente de reforço para melhorar as propriedades físicas e térmicas dos polímeros. Assim, as justificativas para o uso de fibras celulósicas no setor de embalagens de alimentos estão relacionadas com sua biocompatibilidade, flexibilidade, estabilidade térmica, resistência química e mecânica, baixa densidade e biodegradabilidade (AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017; AZEREDO *et al.*, 2019).

Posto isto, o uso da celulose bacteriana (CB), nanocristais (NCC) e as nanofibrilas de celulose (NFC) são ideais para aplicações de embalagens sustentáveis (TABARSA *et al.*, 2017; MONDAL, 2017; YANG *et al.*, 2019). Além disso, a mistura de dois ou mais polímeros pode ser considerado um dos métodos mais promissores para alcançar novos materiais com bom desempenho (JAYARAMUDU *et al.*, 2019). A Figura 5 mostra a obtenção de CNF por oxidação a TEMPO e NCC através da hidrólise ácida para as fibras celulósicas. Ambos os processos foram utilizados para elaboração de nanocompósitos obtidos neste trabalho.

Figura 5 - A) Obtenção de CNF por oxidação a TEMPO e B) obtenção dos NCC por hidrólise ácida para fibras celulósicas.



Fonte: Gutierrez e Alvarez (2017), adaptada pelo autora.

### 3.4 Resíduos da cajucultura como fonte polimérica

Em países tropicais, como o Brasil, os resíduos gerados por diversos setores agroindustriais podem constituir uma importante fonte de matéria-prima para a produção de componentes tecnológicos, permitindo assim o aproveitamento das fibras vegetais (SANJAY *et al.*, 2018). Diversos resíduos, como a madeira, são produzidos em virtude da grande produção agrícola do país.

Entretanto, a disposição dos resíduos gerados nestes setores, está se transformando em um sério problema ambiental, pois muitas vezes são queimados para serem utilizados como fonte energética ou simplesmente descartados inadequadamente, gerando contaminação do solo e do meio ambiente (GARCÍA *et al.*, 2016). Uma alternativa viável para agregar valor a estes resíduos e evitar tais problemas é a sua utilização para extração de biomoléculas e formulação de compósitos poliméricos (KUN; PUKÁNSZKY, 2017).

A exploração da cajucultura é considerada uma das principais atividades agroindustriais do Nordeste do Brasil (DEDEHOU *et al.*, 2016). Após extração do suco, o material residual do pedúnculo do caju apresenta altos teores de fibras residuais e seu aproveitamento ainda é insignificante em relação à quantidade de matéria-prima disponível, já que apenas 15% da produção é utilizada (DIONÍSIO *et al.*, 2015; DEDEHOU *et al.*, 2016; DAS; ARORA, 2017). Por ser desperdiçado e ser rico em açúcares e nutrientes, pode ser utilizado em processos fermentativos agregando valor à biomassa vegetal disponível (HONORATO; RODRIGUES, 2010; FONTELES *et al.*, 2016).

Desta forma, a diversidade de produtos industrializados derivados do pedúnculo do caju gera uma grande quantidade de resíduos e a elaboração de produtos obtidos a partir desses resíduos proporciona uma alternativa de aproveitamento, além da possibilidade de diversificação da produção agroindustrial (ANDRADE *et al.*, 2015; FONTELES *et al.*, 2016). Muitas fontes agroindustriais já foram estudadas como meios de cultivo alternativos para a produção de CB e dentre eles estão o suco de caju, que é um material altamente perecível e se deteriora muito rapidamente, estando inviável ao consumo dentro de algumas horas após a sua extração (CARNEIRO, 2015; LIMA, 2018; DAS; AURORA, 2017).

Assim, a possibilidade de aproveitamento como fonte de carbono amplia a variedade de matérias-primas que podem ser utilizadas na elaboração dos meios de cultivo, contribuindo com a redução de custos quando as mesmas são subprodutos de outras atividades industriais (TYAGI; SURESH, 2016; DUARTE *et al.*, 2019). Estudos realizados no laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical - Brasil observou que a membrana de CB obtida com suco de caju como meio alternativo mantém as características típicas do material além de fornecer um bom rendimento quando comparado com o meio padrão (CARNEIRO, 2015; DUARTE *et al.*, 2019; LIMA, 2018).

A Tabela 1 mostra alguns exemplos de resíduos utilizados como fonte alternativa para a produção de celulose bacteriana, dentre eles resíduos da cajucultura.

Tabela 1 - Exemplos de resíduos da biomassa utilizados para produção da CB.

Fonte Alternativa	Referências
Suco de caju	Carneiro (2015)
Permeado de caju	Silva (2018)
Goma do cajueiro	Pacheco <i>et al.</i> (2017)
Melaço de beterraba	Salari <i>et al.</i> (2018)
Sucos cítricos	Kim <i>et al.</i> (2017)

Fonte: Elaborada pela autora.

O líquido da casca de castanha-de-caju (LCC), extraído da castanha, pode ser usado na indústria química e é crescente número de aplicações para esse composto (OIRAM FILHO *et al.*, 2017). Os galhos podados, as cascas das árvores e as folhas do cajueiro, por serem fontes de taninos também podem ser aproveitados na indústria química e na geração de energia (queima) (FIGUEIRÊDO *et al.*, 2016; SOUSA; BRITO, 2015). Madeiras oriundas da poda do cajueiro são resíduos gerados principalmente no período da safra de caju e é usado principalmente como combustível em usinas (SERRANO; PESSOA, 2016). A Figura 6 ilustra os principais resíduos gerados com a indústria da cajucultura no Brasil.

Figura 6 - Principais resíduos gerados na cajucultura.



Fonte: Elaborada pela autora.

Com os avanços tecnológicos disponíveis no agronegócio do caju, há uma oferta considerável de troncos de corte de árvores adultas e poda anualmente, o que leva à maior

disponibilidade de cascas e galhos (SOUSA; BRITO, 2015). Para Tribot *et al.* (2019), na futura bioeconomia, a madeira deve ser biorrefinada para produzir fibras de carbono, bioplásticos, hidrogéis, elastômeros e outros.

No entanto, para a produção dessas fibras, devem-se superar desafios como as diferentes fontes de matéria prima e a natureza hidrofílica do material, tornando-se uma alternativa eficiente e de baixo valor comercial para substituição parcial das embalagens convencionais (NARITA *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2019; SUKYAIL *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2019). Sendo assim, uma nova opção está sendo indicada para o uso de resíduos da cajucultura no processamento de materiais compósitos devido às características ecológica e renovável.

Neste contexto, a utilização de fibras da madeira do cajueiro ou poda, que são direcionadas principalmente para o descarte, gerando assim grandes volumes de rejeitos podem ser reaproveitados para extração de biomoléculas e elaboração de compósitos poliméricos.

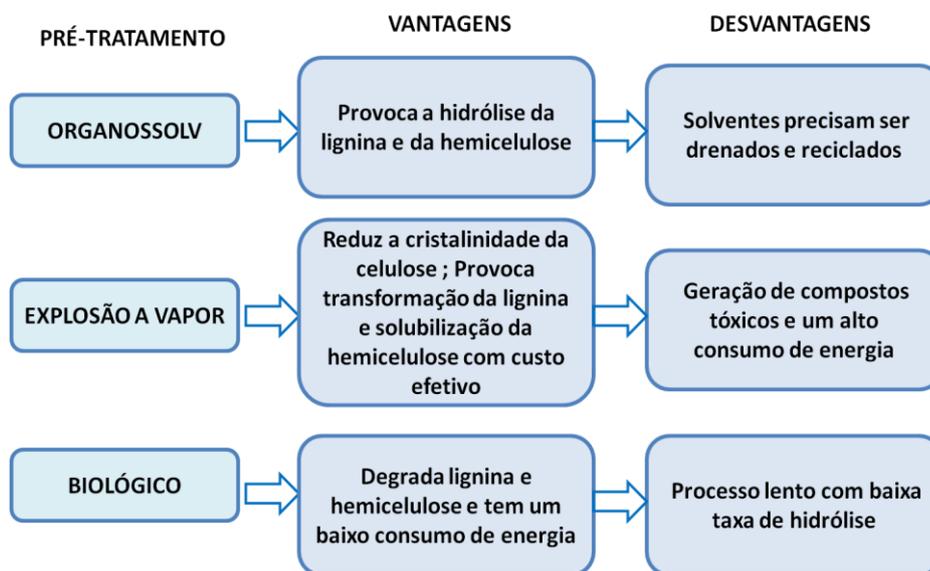
### **3.5 Etapas para obtenção de nanocristais de celulose (NCC) e lignina**

Para a obtenção de nanocristais de celulose (NCC) oriundos de fibras vegetais, o desejável é dispor de um pré-tratamento e combinação de metodologias que removam eficientemente os componentes indesejáveis, preservando a cristalinidade, grau da polimerização da celulose e com custos acessíveis para o processo (NASCIMENTO; REZENDE, 2018; SOUZA, *et al.*, 2015; TAFLICK *et al.*, 2017).

Essas impurezas devem ser removidas para uma melhor compatibilidade com a superfície da matriz polimérica, para que possam ser utilizadas como materiais de embalagens (FENG *et al.*, 2018; LUZI *et al.*, 2017). Na Figura 7 são citadas algumas tecnologias de pré-tratamento utilizadas para biomassa lignocelulósica com suas principais vantagens e desvantagens.

A obtenção de nanocelulose e lignina a partir da biomassa vegetal consiste principalmente de etapas como a polpação química e hidrólise. A seguir serão abordadas cada etapa utilizada neste trabalho para obtenção dos nanocristais de celulose (NCC) e lignina oriundos de fibras da madeira utilizando o pré-tratamento organossolv.

Figura 7 - Algumas tecnologias de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica: vantagens e desvantagens.



Fonte: Feng *et al.* (2018); Gonzalo *et al.* (2016).

### 3.5.1 Pré-tratamento organosolv e a extração da lignina

A polpação Organosolv é considerada um processo que pode ser feito com uma variedade de solventes orgânicos, incluindo álcoois, fenóis, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, aminas e tiocompostos, com proporções variadas de água (PINHEIRO *et al.*, 2017; SHANKAR; RHIM; WON 2018). Nesse processo, a água age como nucleófilo nos centros ativados da lignina, enquanto o solvente (geralmente metanol e etanol) solubiliza os fragmentos de lignina produzidos (AVELINO *et al.*, 2019). Uma das principais vantagens são os altos rendimentos em polpa e pouca modificação da lignina recuperada, assim como a maior facilidade de branqueamento da polpa e menor impacto ambiental, quando comparado com os processos convencionais (NOGUEIRA *et al.*, 2019).

Embora existam diferentes maneiras de obtenção da lignina, o isolamento dela pode ser dificultado principalmente devido a algumas reações de condensação e oxidação que normalmente ocorrem durante o processo (ESPINOZA-ACOSTA *et al.*, 2018; KUN; PUKÁNSZKY, 2017). A principal vantagem da polpação organosolv é a solubilização da maior parte da lignina e eficiente sistema de recuperação química (KUN; PUKÁNSZKY, 2017). Domínguez-Robles *et al.* (2017) obtiveram em seu estudo amostras de lignina a partir de palha de trigo utilizando três diferentes processos de polpação (organosolv, soda e kraft). A lignina

organosolv foi a amostra mais pura sendo também a que apresentou as melhores características térmicas.

A lignina tem sido reportada como estabilizante para plásticos e borrachas atuando como plastificante em filmes de acetato de celulose, melhorando propriedades mecânicas e agindo como antioxidante (retardando a foto-oxidação do material quando exposto a radiação ultravioleta) (SHANKAR; RHIM; WON, 2018). Este componente da parede celular vegetal também é utilizado na síntese de resinas fenólicas para fabricação de colas de madeira, na confecção das placas de compensados e aglomerados, assim como em algumas formulações de compósitos, tornando o polímero mais biodegradável (FIGUEIREDO *et al.*, 2018). Outra aplicação que merece destaque, por se tratar de um uso nobre para o emprego da lignina, e que tem sido bastante pesquisado, é seu emprego como agente hidrofobilizante para produção de filmes poliméricos.

A extração da lignina e dos outros componentes das fibras vegetais pode ser realizada através de tratamentos químicos, físicos, biotecnológicos ou uma interação de todos (FIGUEIREDO *et al.*, 2018; TAGAMI; SHAIK, 2019). No processo de extração é relevante avaliar as alterações estruturais das ligninas extraídas por diferentes métodos, para poder destiná-las às melhores aplicações (CROUVISIER-URION *et al.*, 2017; FIGUEIREDO *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019).

### **3.5.2 Branqueamento das fibras lignocelulósicas**

Entende-se por branqueamento o processo de alvejamento das fibras naturais que tem como principal objetivo a remoção da lignina residual de tratamentos anteriores, como por exemplo, o tratamento alcalino (PEREIRA *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2016). Durante esta etapa, a lignina residual e outros cromóforos (extrativos), os quais conferem uma coloração escura à polpa celulósica, são oxidados e se tornam solúveis no meio alcalino. A maioria dos agentes oxidantes utilizados durante o branqueamento são baseados em cloro, os quais apresentam o inconveniente da formação, especialmente, de dioxinas e furanos, de toxidez elevada (GARCÍA *et al.*, 2016). Por isso, novos reagentes têm sido utilizados para substituir total ou parcialmente o cloro dos processos industriais (SOUZA *et al.*, 2015).

Essas tecnologias alternativas, consideradas ambientalmente corretas, envolvem o uso de oxigênio e seus derivados (por exemplo,  $H_2O_2$ ) para branqueamento de polpas celulósicas, sendo que o peróxido de hidrogênio conquistou uma posição de destaque, pois permite bons índices de deslignificação, promovendo assim baixas reversões de alvura após o

branqueamento e possibilitando menor degradação da celulose (ROSA *et al.*, 2010). Ao término deste processo, a celulose é obtida praticamente pura, ou seja, livre dos demais componentes da parede celular e podem ser utilizadas para diferentes aplicações (PEREIRA *et al.*, 2015).

### 3.5.3 Hidrólise ácida e obtenção dos nanocristais de celulose-(NCC)

Atualmente, os NCC são obtidos por diferentes métodos, incluindo hidrólise enzimática, hidrólise assistida por ultrassom, dissolução em N,N-dimetilacetamida (DMAc)/LiCl e líquidos iônicos. Porém, a metodologia mais utilizada é a hidrólise ácida, no qual um ácido em solução aquosa diluída ou concentrada é utilizado (LESZCZYNSKA *et al.*, 2018). Para a síntese dos NCCs, as condições da hidrólise (temperatura, tempo de reação, concentração e quantidade do ácido) devem ser ajustadas adequadamente. Caso contrário, toda a celulose poderá ser hidrolisada em oligossacarídeos ou não ser hidrolisada suficiente para formar os NCCs (XING *et al.*, 2018). Vários fatores comprometem a hidrólise de fontes lignocelulósicas, por exemplo, a porosidade do material, a cristalinidade da celulose e os elevados teores de lignina e hemicelulose (PEREIRA *et al.*, 2015).

Para o processo de hidrólise, os ácidos mais utilizados são o ácido clorídrico e o sulfúrico (VASCONCELOS *et al.*, 2017). Há inúmeras condições de hidrólise encontradas na literatura para a produção de NCC, apresentando variações quanto ao tipo e concentração do ácido, tempo e temperatura de reação. Nascimento e Rezende (2018) utilizaram o tratamento alcalino e a hidrólise ácida para obtenção de NCC a partir de capim elefante, para possível aplicação em nanocompósitos poliméricos. Benini (2015) estudou a obtenção de nanocelulose de fibras de capim-sapê sob nove diferentes condições de hidrólise ácida com ácido sulfúrico. De um modo geral, temperaturas altas e tempos menores favorecem mais a extração (TEODORO *et al.*, 2011).

Quando o ácido sulfúrico é empregado na hidrólise, além da reação catalítica há a formação de grupos éster-sulfatos, em decorrência da reação direta entre o ácido e os grupos hidroxila (GUTIERREZ; ALVAREZ, 2017). A presença de cargas negativas nas nanopartículas gera repulsão e favorece dispersão das mesmas em água e, dessa maneira, a suspensão é mais estável sem tendência a formar aglomerados (TANG *et al.*, 2017; TEIXEIRA *et al.*, 2010).

Uma desvantagem relacionada à utilização do H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> é o comprometimento da estabilidade térmica dos NCCs (DUFRESNE, 2013). No entanto, a neutralização da reação com hidróxido de sódio (NaOH) pode ser realizada para amenizar esse problema (SOUZA *et al.*,

2018). Por outro lado, a hidrólise realizada com ácido clorídrico (HCl) aumenta a estabilidade térmica dos NCCs, mas facilita a formação de agregados, eliminando as dimensões em nanoescala (TEIXEIRA *et al.*, 2010). Geralmente, o ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) é utilizado em maior escala e, em menor proporção, o ácido clorídrico (HCl). Outros autores utilizam a mistura ácida para obtenção dos NCCs, como Vasconcelos *et al.* (2017), que utilizaram um combinado de ácidos que favoreceu NCC com propriedades altamente promissoras para o desenvolvimento de nanomateriais.

### 3.6 Embalagens ativas a base de celulose e aditivos naturais

O uso de antioxidantes sintéticos como aditivos de filmes plásticos é comum nas indústrias de alimentos e a demanda por aditivos naturais é crescente nos últimos anos (BIDEAU *et al.*, 2017; LUZI *et al.*, 2017; NEMAZIFARD *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2016). Segundo Bideau *et al.* (2017) a embalagem deve melhorar o prazo de validade dos alimentos perecíveis e protegê-los contra luz, agindo como uma barreira eficaz à umidade e gases (CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>) ou mesmo possuir propriedades antimicrobianas. Portanto, embalagens antimicrobianas e antioxidantes são tipos promissores de embalagens ativas que apresentam substâncias específicas para tais ações características. A embalagem antimicrobiana apresenta uma substância incorporada ou imobilizada no material capaz de eliminar ou inibir microrganismos deterioradores e/ou patogênicos (DICASTILLO *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2016).

Estudos mostram que nanopartículas lignocelulósicas podem ser utilizados como antioxidante competitivo na indústria de alimentos (YANG *et al.*, 2016). Devido a sua complexa estrutura fenólica, a lignina possui forte atividade antioxidante e antimicrobiana sendo adequada para uso em filmes biodegradáveis. São comumente propostos para a estabilização de poliméricos devido a sua menor sensibilidade a altas temperaturas e maior massa molecular em comparação com os antioxidantes naturais de baixo peso molecular (CROUVISIER-URION *et al.*, 2017). No entanto, essa propriedade depende do material lignocelulósico e do método de extração aplicados para sua obtenção (FAUSTINO *et al.*, 2010). De acordo Mahmood *et al.*, (2018) essas hidroxilas fenólicas são capazes de desempenhar um importante papel na indústria alimentícia, reduzindo a cinética de oxidação. Como a lignina não é capaz de formar filmes, esse aditivo deve ser introduzido na mistura com outros polímeros (CROUVISIER-URION *et al.*, 2017; BIDEAU *et al.*, 2017). Diversos autores vêm estudando o uso da lignina em outras matrizes poliméricas, no entanto ainda não foi observado trabalhos com CB e lignina da madeira.

Salama (2017) avaliou nanocompósitos de celulose e nanopartículas de prata com atividade antibacteriana efetiva contra *E. coli* e *S. aureus*. Padrão *et al.* (2016) produziram embalagens antimicrobianas comestíveis para uso em contato direto com alimentos altamente perecíveis utilizando CB modificada. Pesquisas também mostraram que a CB, juntamente com o dióxido de titânio, possui excelente atividade antibacteriana (LIU *et al.*, 2017) e filmes baseados em nanocelulose oxidada a TEMPO, extrato de semente de uva e nanopartículas de prata apresentaram forte atividade antioxidante além de boa atividade antimicrobiana (WU *et al.*, 2019). Deste modo, a incorporação de aditivos naturais tem sido objeto de estudo no desenvolvimento de filmes para embalagens que empregam diversas matrizes poliméricas (NEMAZIFARD *et al.*, 2017).

A avaliação da atividade antioxidante das embalagens pode ser realizada pelos métodos de DPPH, ABTS, e FRAP, dentre outros. A diferença entre os três métodos está na substância que será reduzida, que pode ser o radical DPPH• ou ABTS•+. No caso do método FRAP, as amostras são avaliadas quanto à capacidade de reduzir o ferro férrico ( $Fe^{3+}$ ) a ferro ferroso ( $Fe^{2+}$ ), pois os íons metálicos podem ser responsáveis por catalisar reações de peroxidação lipídica, ocasionando a formação de radicais livres (GRZESIK *et al.*, 2018; JONES *et al.*, 2017).

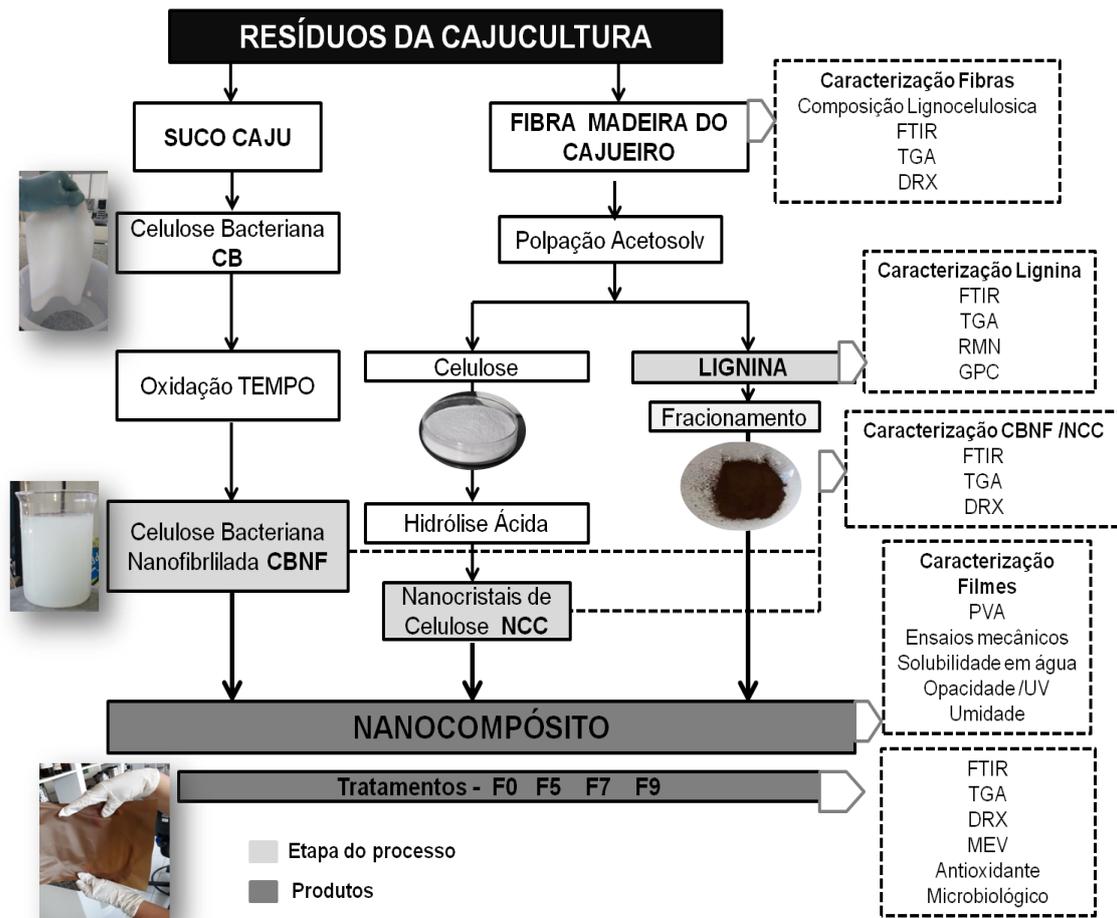
Sendo assim, novos sistemas biodegradáveis multifuncionais, antimicrobianos e antioxidantes estão sendo investigados em diferentes campos de aplicação e no setor de embalagens de alimentos como uma alternativa válida para melhorar a segurança e a qualidade dos produtos alimentícios (LUZI *et al.*, 2017; BIDEAU *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2019). De acordo com Adilah *et al.* (2018), as embalagens antioxidantes são inovações promissoras para manter a qualidade dos produtos alimentares. Tsai *et al.* (2018) relataram que a CB não tem atividade antibacteriana ou antioxidante, limitando assim a aplicabilidade em filmes para alimentos. O mesmo foi observado por Wu *et al.* (2019) em filmes a base de nanocelulose oxidada a TEMPO, sendo necessário introduzir materiais funcionais para fornecer essas atividades. Lima *et al.* (2018) relataram filmes antioxidantes de CB obtidos através da incorporação de peptídeos antioxidantes da gelatina da pele de tilápia.

Este trabalho se propõe a utilizar a lignina extraída da madeira para elaboração de filmes à base de celulose bacteriana nanofibrilada – CBNF e avaliá-los quanto suas propriedades físicas, químicas e ativas (antioxidante e antimicrobiana).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para elaboração deste trabalho foram utilizados resíduos da cajucultura (fibras da madeira do cajueiro ou poda e suco de caju), ambos fornecidos pela Embrapa Agroindústria Tropical, localizada em Fortaleza – CE. A Figura 8 ilustra as principais etapas dos processos.

Figura 8 - Etapas gerais do processo para obtenção do nanocompósito.



Fonte: Elaborada pela autora.

### 4.1 Obtenção dos resíduos da cajucultura

Inicialmente, a madeira (galhos secos e troncos com cascas) coletada no campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical foram cortados para redução de tamanho. Em seguida, as partes mais grossas foram cortadas e colocadas em um moinho de facas tipo Willye (FORTNOX – STAR FT 80), e peneiramento com abertura de 0,3 mm para obtenção da fibra da poda do cajueiro (FPC). O suco de caju foi obtido a partir da prensagem do pedúnculo do caju.

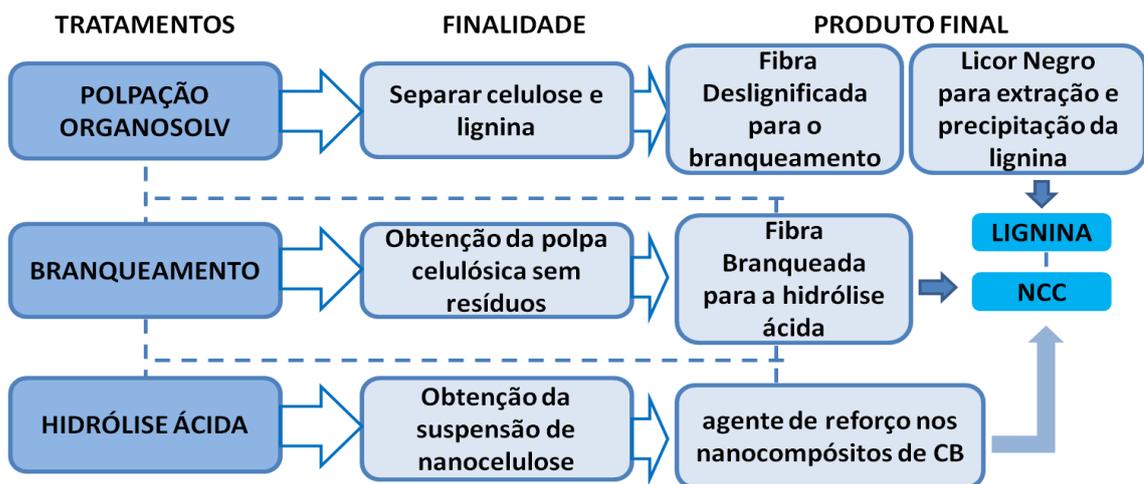
## 4.2 Composição lignocelulósica da madeira do cajueiro

A caracterização química das fibras da madeira do Cajueiro antes e após o pré-tratamento foi realizada para obtenção dos teores de umidade, cinzas, extrativos, lignina insolúvel e alfa-celulose. As metodologias aplicadas nessas caracterizações seguiram as normas Tappi: TAPPI T 421 om-02 (2002), TAPPI T 211 om-02 (2002), TAPPI T 204 cm-97 (1997), TAPPI T 222 om-02, (2000), TAPPI T 203 cm-99 (2009), respectivamente para as caracterizações supracitadas. O conteúdo de holocelulose foi medido utilizando o procedimento descrito por Yokoyama (2002) e o teor de hemicelulose foi determinado pela a diferença entre as quantidades de holocelulose e alfa-celulose.

## 4.3 Etapas para obtenção dos nanocristais de celulose e da lignina extraídas da madeira

A Figura 9 mostra as seqüências de tratamentos utilizados para a fibra da madeira do cajueiro (FMC) e obtenção dos nanocristais de celulose (NCC) e lignina que foram incorporados aos filmes nanocompósitos a base de celulose bacteriana (CB).

Figura 9 - Sequências de tratamentos para as fibras da madeira do cajueiro e obtenção de nanocristais de celulose e lignina.



Fonte: Elaborada pela autora.

Esses pré-tratamentos tiveram o objetivo de remover os resíduos ou outros elementos presentes nas fibras, podendo contribuir para uma celulose purificada e facilitar a obtenção dos NCC. A seguir será explanada cada etapa do pré-tratamento.

### **4.3.1 Polpação organosolv e obtenção da lignina**

Para a extração da lignina utilizou-se o método acetosolv, conduzido de acordo com procedimento geral descrito por Nogueira *et al.* (2019). O processo foi realizado através da adição, à FMC, de solução acetosolv composta por ácido acético 92,8% (v:v), ácido clorídrico 0,7% (v:v) e água destilada 7% (v:v). Para 50 g de FMC moída, 500 ml da solução foram adicionadas numa relação biomassa/solvente de 1:10 (m:v). Para tal procedimento, utilizou-se um sistema de refluxo em balão de fundo chato à temperatura de 115°C e sob agitação mecânica por um período de 180 min.

Após este processo, o licor negro (LN) resultante da polpação foi filtrado a vácuo. Para isso, um volume de 300 ml de ácido acético PA foi aquecido até a temperatura de 80°C. Lavou-se a fração fibrosa com o ácido acético aquecido até que o líquido que desce pelo funil apresentasse coloração incolor, indicando a remoção parcial da lignina na superfície das fibras. As fibras remanescentes no funil foram lavadas com água destilada até atingirem o pH neutro. Em seguida foram levadas para estufa com circulação de ar a 50°C até atingirem peso constante e denominadas de fibras deslignificadas da poda do cajueiro (FDP). O líquido recolhido da primeira lavagem foi considerado como o LN, rico em lignina.

O LN resultante da filtração foi concentrado em um rotaevaporador para isolar a lignina solubilizada no ácido acético. Após a rotaevaporação, o ácido foi guardado para ser reutilizado nas demais extrações e a lignina foi precipitada com água destilada a 80°C na razão 1:10 (v:v), e reservada por 24 horas. Decorrido esse tempo, a dispersão foi filtrada até pH neutro utilizando-se papel de filtro de 8µm de abertura. A fração retirada no papel (lignina) seguiu para secagem em estufa a 50°C até peso constante. A Figura 10 mostra as etapas do processo e a lignina obtida após a secagem (Figura 10-A).

### **4.3.2 Fracionamento da lignina**

Para produzir frações solúveis a partir da matriz polimérica de CBNF, a lignina organosolv ( $L_{Org}$ ), obtida na etapa 4.3.1, foi fracionada de acordo com a metodologia descrita por Avelino *et al.* (2019). Foram pesados 10 g de lignina, que então foi solubilizada em 100 ml de etanol e submetida a agitação contínua à temperatura ambiente durante 30 min. Depois disso, a fração insolúvel foi isolada por filtração a vácuo e armazenada em dessecador sob vácuo. As frações solúveis foram concentradas sob pressão reduzida e chamada de lignina fracionada (LF) e incorporadas aos filmes com lignina.

### **4.3.3 Branqueamento das fibras da madeira do cajueiro**

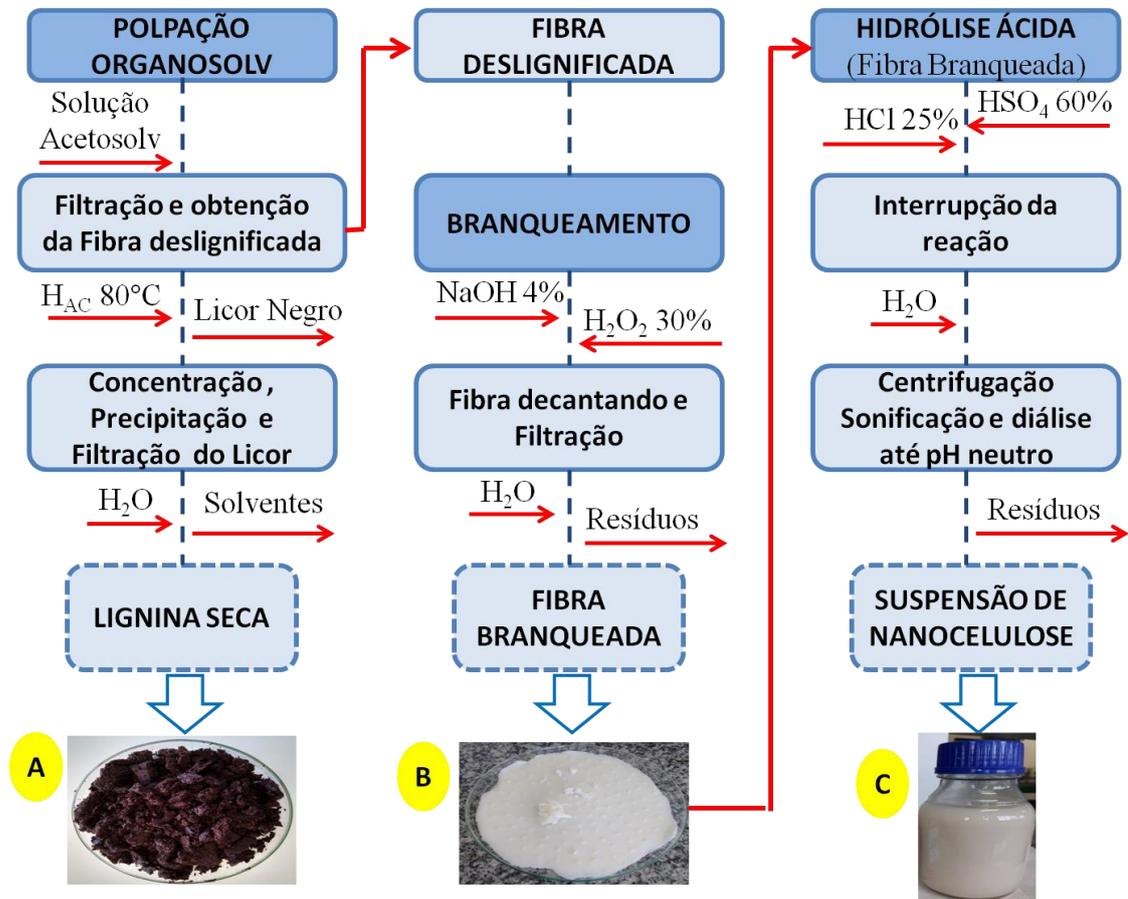
A FDP (fibra deslignificada) resultante do processo descrito no ítem 4.3.1 foi moída mecanicamente e seguiu para o processo de branqueamento, para remoção da lignina residual seguindo o procedimento descrito por Souza *et al.* (2016). O branqueamento foi realizado na proporção de 1g de fibras para 32 ml de solução alvejante. Esta solução foi constituída de 20 ml de hidróxido de sódio 4% (m/v) e 12 ml peróxido de hidrogênio 30% (v/v), pré-aquecida a 65°C, durante 150 min (2h:30), sendo 6 ml de peróxido de hidrogênio adicionados no primeiro momento e o restante após uma hora de reação. Decorrido esse tempo, o material foi filtrado a vácuo e lavado com água, até pH neutro. Após a etapa de lavagem, as fibras da poda branqueadas (FBr) foram secas em estufa a 50°C até peso constante e reservada para posterior hidrólise ácida (Figura 10- B).

### **4.3.4 Hidrólise ácida e obtenção dos NCCs da fibra da madeira do cajueiro**

Após as etapas anteriores (Polpação e Branqueamento), as fibras foram moídas e secas em estufa a 50°C. A obtenção dos NCC se deu por hidrólise baseada no trabalho de Vasconcelos *et al.* (2017) com adaptações. Em 10g de FBr pesados em um béquer de vidro, foi adicionada uma solução de ácido sulfúrico e ácido clorídrico na proporção de 1:20 (100 ml de solução de HSO<sub>4</sub> 60% (m/m) + 100 ml de solução de HCl 25% (m/m)). A mistura ácida foi levemente aquecida a 45 °C e mantida sob agitação por 60 min. Após a hidrólise a reação foi paralisada com a adição de 1000 ml de água destilada gelada. Obteve-se uma suspensão de cor creme, de elevada acidez. Esse material ficou em repouso a temperatura ambiente por 48h e em seguida foi centrifugado em Ultracentrífuga (marca Hitachi, modelo Himac CP-WX) a 20°C/26.400g, por 15 minutos.

O sobrenadante foi descartado e, posteriormente, adicionou-se um volume de água destilada aproximadamente igual ao volume de sobrenadante descartado. A suspensão obtida, após três centrifugações, foi ultrassonificada por 5 min. em um disruptor de células da marca Unique por 2 min na potência de 60W, para garantir uma boa dispersão dos NCC. O precipitado foi então colocado em uma membrana de troca iônica e a suspensão foi dialisada até pH neutro (~48h). Decorrido o tempo de diálise, a suspensão dos NCC foi conservada em geladeira para posterior caracterização e utilização nos filmes nanocompósitos como agente de reforço (Figura 10- C).

Figura 10 - Esquema representativo do processo: A) obtenção da lignina, B) obtenção da polpa celulósica e C) obtenção dos nanocristais de celulose.



Fonte: Elaborada pela autora.

#### 4.4 Rendimentos das fibras obtidos no pré-tratamento químico

Os rendimentos obtidos no processo organosolv para cada fibra (fibra após acetosolv, fibra branqueada, nanocristais de celulose e lignina organosolv) foram calculados de acordos com as seguintes equações:

##### 4.4.1 Rendimento do processo de polpação

O rendimento do processo polpação acetosolv ( $\%R_{PA}$ ), ou seja, o percentual da fibra bruta (FPC em base seca) que foi convertida em fibra deslignificada (FDP base seca), foi calculado usando a Equação 1:

$$\%R_{PA} = \frac{m_{FDP}}{m_{FPC}} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

$\%R_{PA}$  = rendimento do processo acetosolv;

$m_{FPC}$  = a massa da fibra da madeira do cajueiro e

$m_{FDP}$  = a massa da fibra deslignificada da madeira.

#### **4.4.2 Rendimento de recuperação da lignina**

O rendimento de recuperação da lignina ( $\%R_{LA}$ ), ou seja, o percentual de lignina Klason (item 4.2) da FMC (base seca) que foi convertida em LA (base seca), foi calculado usando a Equação 2:

$$\%R_{LA} = \frac{m_{LA}}{m_{ligninaKlason}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

$\%R_{LA}$  = rendimento da obtenção da lignina;

$m_{ligninaKlason}$  = a massa da lignina Klason da fibra da madeira do cajueiro e

$m_{LA}$  = a massa da lignina acetosolv.

#### **4.4.3 Rendimento fibra branqueada**

O rendimento do branqueamento da celulose ( $\%R_{BC}$ ), ou seja, o percentual da massa da polpa acetosolv  $M_{PA}$  (base seca) que foi convertida em massa da polpa de celulose  $M_{PC}$  (base seca), foi calculado usando a Equação 3:

$$\%R_{BC} = \frac{m_{PC}}{m_{PA}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

$\%R_{BC}$  = rendimento do branqueamento da celulose;

$m_{PA}$  = a massa da polpa acetosolv

$m_{PC}$  = a massa da polpa de celulose.

#### 4.4.4 Rendimento da extração dos NCCs

O rendimento da extração dos NCCs (% $R_{NCC}$ ) foi calculado em relação à massa seca de FBr usada para a hidrólise. Inicialmente, foi determinado, em triplicata, o teor de sólidos da suspensão de NCC. Com este resultado e sabendo-se o volume total de suspensão, pôde-se calcular o teor de sólidos totais da suspensão ( $m_{NCC}$ ) e calcular o rendimento de NCC, conforme a Equação 4:

$$\%R_{NCC} = \frac{m_{NCC}}{m_{FBr}} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

$\%R_{NCC}$  = rendimento da obtenção dos nanocristais de celulose

$m_{NCC}$  = a massa de sólidos totais da suspensão de NCC

$m_{FBr}$  = a massa de fibra pós-branqueamento.

#### 4.5 Obtenção da celulose bacteriana nanofibrilada - CBNF

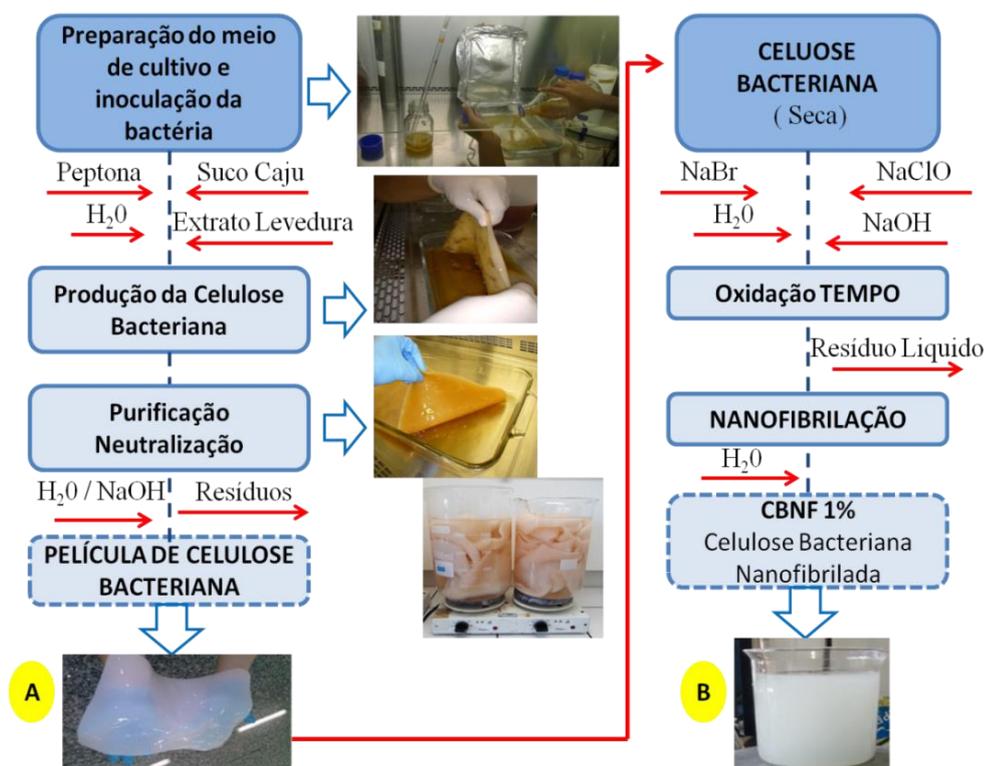
##### 4.5.1 Produção, purificação e oxidação da celulose bacteriana (CB)

A produção das películas de CB foi realizada no laboratório de microbiologia de alimentos, pertencente a Embrapa Agroindústria Tropical – CE. A cepa utilizada foi a *Komagataeibacter xylinus* ATCC 53582 e o inóculo (3%, v/v) foi obtido após transferência da bactéria previamente mantida em meio ágar-HS para o meio caldo HS com incubação estática em B.O.D a 30 °C por 48 horas. O meio de cultura utilizado para o crescimento das células foi elaborado com suco de caju suplementado com extrato de levedura 5g/l e peptona 5g/l, segundo a metodologia descrita por Carneiro (2015). A fermentação ocorreu em condições estáticas a 30°C, por dez dias.

Após o processo fermentativo, as películas de CB foram removidas da superfície do meio e purificadas com tratamento alcalino, baseado em metodologia sugerida por em Gea *et al.* (2011) com adaptações. Após serem lavadas com água corrente, as películas de CB foram imersas em solução de NaOH 2% por uma hora, a 80 °C em seguida foram lavadas com água até alcançarem a neutralidade (Figura 11 A) posteriormente as películas de CB foram secas em estufa de circulação de ar (50°C/ 48h).

Para a obtenção de celulose bacteriana nanofibrilada – CBNF utilizou-se as CBs (secas e previamente moídas) que foram dispersas em água destilada contendo os reagentes TEMPO (0,016 g por g de CB) e NaBr (0,1 g por g de CB), seguindo a metodologia descrita por Saito *et al.* (2007). A mistura foi então agitada por 15 min, à temperatura ambiente, de forma a assegurar uma boa dispersão dos componentes. Em seguida, foi adicionado NaClO (5 mmol/g de CB) em paralelo ao ajuste do pH para 10, com adição de NaOH 0.5M, até estabilização completa do pH (em torno de 2 h). As CBs oxidadas foram então filtradas e lavadas com água destilada, seguindo se a etapa de tratamento mecânico utilizando um homogenizador de alta rotação (Vitamix, modelo Vita-Prep 3). Suspensões de aproximadamente 1% em massa de polpa oxidada foram obtidas e identificadas como CBNF e utilizada como matriz na elaboração dos filmes como mostra a Figura 11B.

Figura 11 - Esquema representativo do processo para a produção da CB e obtenção da CBNF.



Fonte: Elaborada pela autora.

## 4.6 Obtenção dos filmes nanocompósitos

### 4.6.1 Delineamento Experimental

Com o objetivo de avaliar o efeito proporcionado pela incorporação de lignina (LIG) e NCC em filmes de CBNF, realizou-se um planejamento composto central com 11 tratamentos. As variáveis estudadas no planejamento foram o NCC e LIG, tendo como base a CBNF. Foi feito um tratamento controle (filme sem NCC e LIG) para comparação com os filmes com diferentes teores de NCC/LIG. Definiu-se como resposta ao delineamento, parâmetros de hidrofobicidade, ópticos e mecânicos. As condições experimentais do planejamento estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições experimentais do planejamento composto central para obtenção de nanocompósitos.

Tratamento	Variáveis do delineamento	
	LIG* (% , base CBNF)	NCC** (% , base CBNF)
F0	0	0
F1	2,20 (-1)	1,17 (-1)
F2	12,80 (+1)	1,17 (-1)
F3	2,20 (-1)	6,83 (+1)
F4	12,80 (+1)	6,83(+1)
F5	0 (- $\alpha$ )	4 (0)
F6	15 (+ $\alpha$ )	4 (0)
F7	7,50 (0)	0 (- $\alpha$ )
F8	7,50 (0)	8 (+ $\alpha$ )
F9	7,50 (0)	4 (0)
F10	7,50 (0)	4 (0)
F11	7,50 (0)	4 (0)

Fonte: Elaborada pela autora. \*Lignina, \*\* Nanocristais de celulose.

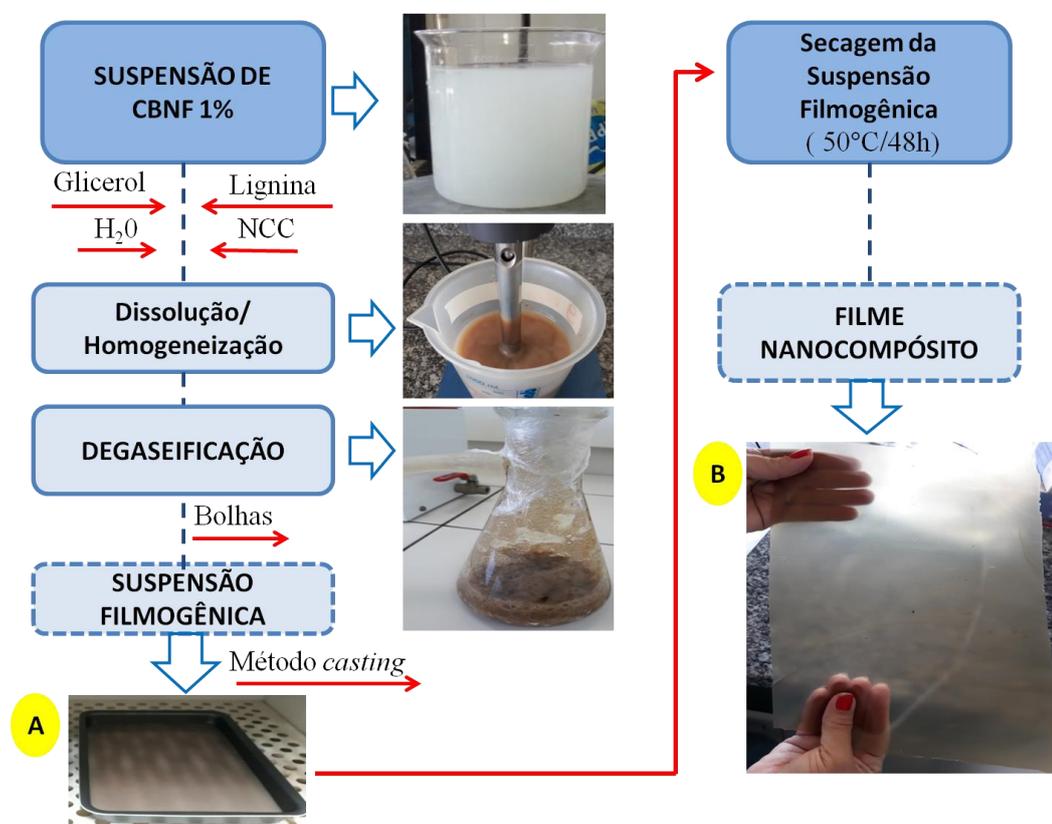
### 4.6.2 Preparação dos filmes

Os filmes foram produzidos pela técnica *casting*, utilizando uma solução filmogênica contendo uma mistura com diferentes concentrações de lignina (0;2,2; 7,5;12,8 e 15% em peso) e NCC (0; 1,1;4;6,8 e 8% em peso), ambos com base na massa de matriz (CBNF)

seca. O volume de água adicionada variou de acordo com o volume de suspensão de NCC necessária em cada nanocompósito e definidos no delineamento experimental.

Para cada formulação, adicionou-se 30% de glicerol como plastificante para, no final do processo, obter uma suspensão filmogênica de 750 mL. A suspensão formadora de filme foi homogeneizada em Ultra-Turrax T25 a 10000 rpm, durante 15 min. Após homogeneização e degaseificação, a suspensão foi adicionada a placas de teflon e estas foram levadas a estufa de circulação de ar por 48h a 50 °C para evaporação do solvente (Figura 12-A), em seguida os filmes foram obtidos para sua caracterização (Figura 12-B).

Figura 12 - Metodologia experimental para a produção dos nanocompósitos.



Fonte: Elaborada pela autora.

#### 4.7 Caracterização dos materiais obtidos para a formulação dos nanocompósitos

Para melhor avaliar as propriedades físico-químicas das nanofibras (NCC e CBNF) utilizadas neste trabalho, uma série de caracterizações foi realizada: termogravimetria (TGA), espectroscopia de infravermelho (FTIR), e difração de raios-X (DRX). Para a lignina extraída, além das citadas, foi realizada ressonância magnética nuclear (RMN) e (GPC). De forma

análoga à caracterização das fibras, foram utilizadas na caracterização dos filmes. Adicionalmente, foi realizada a medição de suas propriedades mecânicas, viscoelásticas e de hidrofobicidade. O efeito da incorporação dos NCC e da lignina nas propriedades mecânicas, térmicas e de capacidade de absorção de água dos filmes nanocompósitos também foi avaliado.

#### **4.7.1 Análise termogravimétrica (TGA)**

As fibras e os filmes foram analisados em equipamento Shimadzu modelo TGA-50, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 ml/min, a uma razão de aquecimento de 10 °C/ min, no intervalo de temperatura de 25°C a 800°C. A massa utilizada para cada amostra variou de 5 a 7 mg.

#### **4.7.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

Espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos para as fibras e os filmes. As amostras foram misturadas com KBr seco numa relação amostra:KBr de 1:10 para confecção de pastilhas, que foram analisadas em espectrofotômetro IR Prestige-21 da Shimadzu, na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **4.7.3 Difração de raios-X (DRX)**

As medidas de Difração de Raios X das fibras foram realizadas em um difratômetro modelo Xpert MPD, com tubo de Cobre (Cu), comprimento de onda 1,54 Å, (CB e CBNF) e tubo de Cobalto (Co), comprimento de onda 1,78 Å, (para as fibras e os filmes) em 40kV e 30mA, com ângulo  $2\theta$  de 10° a 45°. As análises foram realizadas no Laboratório de Raios-X da Universidade Federal do Ceará. O índice de cristalinidade (IC) foi calculado pela equação 5 (SEGAL *et al.*, 1959).

$$I_c = 1 - \frac{I_A}{I_c + I_A} \quad (5)$$

Tal que:

%IC = índice de cristalinidade da celulose;

$I_c$  = a área dos picos cristalinos e

$I_A$  = a área do halo amorfo.

$$I_c = 1 - (I_1 / I_2)$$

#### **4.7.4 Distribuição da massa molar**

A distribuição das massas molares das ligninas foi realizada através da técnica de cromatografia de permeação em gel (GPC). Nessa análise, utilizou-se um sistema de cromatografia por exclusão de tamanho, usando um cromatógrafo LC-20 AD (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com detector de índice de refração (Shimadzu RID-10A) e THF (grau HPLC) como fase móvel, a um fluxo de  $1 \text{ ml min}^{-1}$  em uma coluna Phenogel 100 Å (7,8 x 300 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA), com temperatura de análise foi a  $40^\circ\text{C}$ . O solvente utilizado na solubilização da lignina foi o THF. Os ensaios de GPC foram realizados no Laboratório de Polímeros (LabPol), localizado na Universidade Federal do Ceará (UFC).

#### **4.7.5 Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ )**

As ligninas obtidas da polpação organosolv e do fracionamento foram analisadas no equipamento de RMN de 600 MHz, Agilent DD2 equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”. As amostras foram preparadas dissolvendo-se 50 mg em uma solução de DMSO- $d_6$  e piridina- $d_5$ , com auxílio de um banho ultrassônico por 24 horas para garantir a completa dissolução.

Para auxiliar na atribuição dos constituintes de lignina, foi realizado experimento bidimensional heteronuclear de HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy*) e os dados foram obtidos utilizando gradiente de campo pulsado para a seleção de coerência quântica única. Foram adquiridos 96 transientes na dimensão  $^{13}\text{C}$  com 256 pontos complexos, um tempo de espera em cada aquisição de 0,5 s, e para a dimensão  $^1\text{H}$ , foi registrado 962 pontos complexos.

#### **4.7.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Para visualizar as estruturas e dimensões das fibras, estas foram metalizadas com ouro pelo metalizador da marca Emitech, modelo K550 e visualizadas no Microscópio Eletrônico de Transmissão marca Vega3 Tescan, operando a 15 kV. Já para visualização dos filmes, utilizou-se o Microscópio Eletrônico de Varredura - Quanta 450 FEG-FEI com uma tensão de aceleração de 20 kV. As amostras de filmes foram montadas em *stubs* e metalizadas

com uma fina camada de ouro no metalizador Quorum QT150ES. Os filmes também foram avaliados por corte transversal obtidos por fratura criogênica.

#### ***4.7.7 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)***

A caracterização das estruturas e dimensões dos NCCs foi realizada utilizando o Microscópio Eletrônico de Transmissão marca Vega3 Tescan, adaptado para MET, operando a 30kV, localizado na Embrapa Agroindústria Tropical. Para obtenção das imagens, uma gota da suspensão de nanocelulose (0,05%) foi depositada sobre um suporte (rede metálica de 300 mesh, ou *grid*) que foi deixado à temperatura ambiente para evaporação da água e formação de um filme extremamente fino. A gota permaneceu por 3 minutos, antes de ter o excesso drenado com o auxílio de papel de filtro. A seguir, o *grid* foi colocado sobre uma gota de Ácido Fosfotúngstico a 1%. Após 24 horas de secagem, as grades foram analisadas em Microscópio Eletrônico de Transmissão e então foram realizadas medições do comprimento e diâmetro utilizando o software Gimp 2.8.18 e calculado a razão L/D.

#### ***4.7.8 Potencial Zeta***

A presença de cargas superficiais foi estimada via análise do potencial Zeta a partir de alíquotas das suspensões aquosas das amostras de nanocelulose diluídas (1:10). Estas foram medidas com um equipamento Malverne 3000 Zetasizer NanoZS da Malverne instruments. Três medidas de cada suspensão foram realizadas.

#### ***4.7.9 Caracterização dos filmes nanocompósitos***

##### ***4.7.9.1 Espessura***

As espessuras dos filmes de CBNF foram medidas através de um micrômetro digital AKROM, KR1250 (margem de erro do equipamento:  $\pm 1 \mu\text{m}$ ). As medidas foram realizadas numa porção retangular dos filmes, sendo tomadas oito medidas em diferentes pontos do filme, sendo quatro no centro e as outras quatro nas extremidades. A espessura do filme é dada como a média das medidas.

#### 4.7.9.2 Opacidade

Os filmes foram caracterizados quanto à opacidade de acordo com a metodologia descrita por Gontard; Gontard e Cuq (1992) via espectrofotômetro (UV-VIS Shimadzu-módulo para amostras sólidas ISR-2200). A opacidade foi determinada como a área sob a curva (determinada por integração), pelo método trapezoidal e expressa como unidade de absorvância x nanômetros (A.nm) por unidade de espessura (mm). Amostras dos filmes foram cortadas em retângulos (2 x 4 cm) e cuidadosamente colocadas no compartimento para amostras sólidas do referido equipamento e realizada a varredura da absorvância de 400 a 800 nm para cada tratamento, em triplicata. A calibração do espectro foi realizada com pastilha de cloreto de bário como 100% de transmitância.

#### 4.7.9.3 Solubilidade

A solubilidade em água foi determinada com corpos de prova de 2 cm<sup>2</sup>. A massa seca inicial foi obtida em balança analítica, após secagem a 150°C por 2h. Os corpos de prova foram imersos em recipiente contendo 50 mL de água destilada e colocados sob agitação de 70 rpm, durante 24h, em temperatura ambiente. A suspensão resultante foi filtrada e o resíduo foi seco à temperatura de 105°C por 24h. Após pesagem, determinou-se a quantidade de matéria seca não solubilizada. A solubilidade da película foi expressa em porcentagem de massa solubilizada em relação à massa inicial, chamada de matéria insolúvel total (% MI), como mostra a Equação 5:

$$\%MI = \frac{\textit{pesoinicial} - \textit{pesofinal}}{\textit{pesoinicial}} \times 100 \quad (5)$$

#### 4.7.9.4 Ângulo de contato

Os ângulos de contato foram medidos de acordo com a norma ASTM D-5725-99 (ASTM, 2008), para avaliar a hidrofiliicidade dos filmes. Uma gota de água destilada foi depositada sobre a superfície do filme seco com auxílio de uma seringa de 0,713 de diâmetro interno (Hamilton, Suíça) acoplada ao sistema de medida, a 25 °C (OCA 20, Dataphysics, Alemanha). As imagens foram capturadas logo após a formação da gota pela câmera CCD (resolução de 752 x 582 pixels) e processadas pelo software C20. O ângulo obtido na superfície

do filme após depósito da gota de água foi calculado pelo software nos tempos 0, 30 e 120 segundos após o depósito da gota. Foram realizadas no mínimo 10 medidas (10 depósitos de gota) para cada amostra.

#### 4.7.9.5 Teste mecânico – Ensaio de tração

Os ensaios de tração foram conduzidos em uma máquina universal de ensaios EMIC DL 3000 Universal Testing Machine. A velocidade utilizada para o ensaio de tração foi de 12,5 mm/ min. com célula de carga de 100 N e separação inicial entre as garras de 100 mm. Os experimentos, realizados de acordo com o método D882-01 (ASTM, 2001), foram executados com 10 corpos de prova para cada formulação, na qual foi aplicada a média aritmética entre os resultados numéricos dos ensaios realizados nos compósitos.

#### 4.7.9.6 Ensaios de permeabilidade ao vapor de água – PVA

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada através do método E96-00 (ASTM, 2000) a 25°C, utilizando sílica gel como dessecante em dessecador vertical Arsec DCV040. A análise foi realizada com 8 repetições e dentro das células de permeação de acrílico com 2,4 cm de diâmetro e 5 cm de altura contendo em seu interior 1,5 ml de água destilada. Foram realizadas 8 pesagens por 24 h, com intervalo mínimo de 1 hora entre as pesagens.

#### 4.7.9.7 Atividade antimicrobiana de filmes

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes com lignina foi utilizada a metodologia descrita por Borges *et al.* (2016). O estudo foi realizado com cepas de referências (Microbiologics, Sant Cloud, EUA) de bactérias Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 10536), Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P) e levedura (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763). O efeito antimicrobiano dos filmes foi avaliado pelo método de difusão em ágar de acordo com a norma de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana, recomendada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2005).

Após a inoculação, o ágar foi perfurado para obter poços de 5 mm de diâmetro, aos quais foram adicionados 25 µL da suspensão dos filmes com diferentes concentrações de lignina (7,5% e 15%). Em outras placas foram utilizados discos de 1,5 cm de diâmetro colocados sobre a superfície de ágar Mueller-Hinton (bactérias) e ágar batata dextrose (levedura), inoculados

com suspensões de células ( $1$  a  $2 \times 10^6$  UFC/mL) de *S. aureus*, *E. coli*, *L.*, *S. cerevisiae*. O diâmetro dos halos de inibição (mm) foi determinado após incubação a  $35$  °C por 24 horas, para bactérias, e  $25$  °C por 48-72 horas para levedura.

#### 4.7.9.8 Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante nos filmes

Seguindo a metodologia descrita por Yang *et al* (2016), com algumas adaptações, os filmes foram cortados (0,8 g) e solubilizados em 16 ml de solução metanólica (80%), por 24 horas a temperatura ambiente. Em seguida, os filmes foram colocados sob agitação rotacional (Agitador magnético – TECNAL) na velocidade de 1.000 rpm durante um minuto. Os extratos resultantes foram estocados em frasco âmbar escuro, sob refrigeração, até o momento das análises.

O teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu (SWAIN; HILLIS, 1959), no qual adicionou-se 0,1 ml de extrato e 950  $\mu$ l de água destilada em um tubo de ensaio. Posteriormente, 2,5 ml de reagente de Folin-Ciocalteu 0,25N e 2,0 ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1N foram adicionados nos tubos. Após 30 min de incubação, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 725 nm. Os resultados do teor de compostos fenólicos totais foram expressos como equivalentes de ácido gálico (mg EAG/100g), calculados por meio de uma curva construída com concentrações que variaram de 10 a 60 mg/l. A atividade antioxidante foi determinada seguindo a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007), com modificações. Para cada método avaliado os extratos foram diluídos em triplicata em três diferentes concentrações.

Para análise da atividade antioxidante pelo método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), foram utilizados 0,1 ml de cada extrato em 3,9 ml de DPPH 0,06 mM. Neste experimento, a leitura foi realizada após 30 minutos de incubação a temperatura ambiente, utilizando-se o comprimento de onda de 515 nm e álcool metílico para calibrar o espectrofotômetro.

No método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiazolino-6-sulfônico), 30  $\mu$ l do extrato foi adicionado a 3ml da solução ABTS.+ e homogeneizados em agitador de tubos. Após 6 min no escuro, a leitura de absorbância da cor resultante foi realizada em espectrofotômetro a 734 nm e um padrão de Trolox utilizado para a curva de calibração.

Para avaliação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power) preparou-se o reagente FRAP, obtido a partir da combinação de 25 ml de tampão acetato 0,3 M; 2,5 ml de solução de cloreto férrico 20 mM; e 2,5 ml de solução de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) 10 mM. Alíquotas de 90  $\mu$ L de cada

diluição do extrato foram adicionados a 270  $\mu$ l de água e 2,7 ml de FRAP, que foram mantidos 30 min em banho-maria a 37°C. A leitura foi realizada em 595 nm e solução de sulfato ferroso foi utilizado como padrão para a curva de calibração.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O emprego da biomassa para obtenção de nanocelulose exige estudos prévios de caracterização que permitam indicar as condições do material, bem como dos produtos gerados (MORAES *et al.*, 2013). Assim, a fibra da madeira do cajueiro foi caracterizada, a fim de conhecer as características iniciais antes e depois do pré-tratamento até a obtenção dos nanocristais de celulose.

### 5.1 Caracterização da fibra da madeira do cajueiro

#### 5.1.1 Composição Lignocelulósica

Na Tabela 3 encontram-se os resultados obtidos para umidade,  $\alpha$  celulose, lignina, hemicelulose, extrativos e cinzas da fibra da madeira do cajueiro bruta e branqueada.

Tabela 3 - Caracterização química das fibras da madeira do cajueiro bruta e branqueada.

Fibras	Umidade %	$\alpha$ Celulose %	Hemicelulose %	Lignina %	Extrativos %	Cinzas %
<b>Fb*</b>	8,1 $\pm$ 0,7	21,5 $\pm$ 0,0	20,9 $\pm$ 0,9	25,6 $\pm$ 1,1	14,0 $\pm$ 0,8	2,7 $\pm$ 0,0
<b>FBr**</b>	5,2 $\pm$ 0,3	42,8 $\pm$ 1,5	29,2 $\pm$ 1,5	0,3 $\pm$ 0,2	-	0,8 $\pm$ 0,3

Fonte: Elaborada pela autora. \*Fibra da madeira do cajueiro bruta; \*\*Fibra da madeira do cajueiro branqueada.

Em estudos realizados por Mattos *et al.* (2018) para o mesmo material, fibra da madeira do cajueiro bruta, obtiveram um teor extrativo de 11,2%, de  $\alpha$  – celulose, 32,4%, holocelulose de 56,1% e 23,7%, para hemicelulose, valores próximos ao encontrado neste trabalho (Tabela 3). Segundo Balat (2011), as composições dos materiais lignocelulósicos podem variar de acordo com a natureza genética do material e das interações e influências ambientais.

O teor de umidade de uma fibra lignocelulósica está relacionado com o teor de água presente em sua constituição. No caso da Fb, o valor encontrado experimentalmente foi de 8,1%  $\pm$  0,7 e para FBr o valor foi de 5,2  $\pm$  0,3. Valores semelhantes ao encontrado para fibras do mesocarpo de palma utilizando o mesmo pré-tratamento organosolv (SOUZA *et al.*, 2016).

A composição dos constituintes químicos do material obtido antes e após o branqueamento demonstrou um aumento no teor de  $\alpha$  celulose de 21% para 42%, e de hemicelulose de 20% para 29%. Mattos *et al.* (2018) observaram que, durante o branqueamento,

ocorreram degradações parciais das fibras havendo um aumento na quantidade de polissacarídeos solúveis em meio básico, resultando em uma quantidade maior de hemicelulose, o mesmo foi observado neste trabalho.

De acordo com alguns estudos, a madeira contém de 40 a 50% de celulose, e cascas de árvores de 20 a 30% (FLAUZINO NETO *et al.*, 2013). Tal dados justificam o baixo teor de celulose, devido ao fato de o resíduo da madeira do cajueiro conter cascas, ramos e galhos secos (SERRANO; PESSOA, 2016). Observou-se também que as fibras da madeira do cajueiro apresentaram um teor de lignina de cerca de 25%, próximo a valores de outras fontes vegetais como fibras da casca de arroz (23%), fibras do bagaço da cana-de açúcar (23,3%) e casca de acácia (OLIVEIRA *et al.*, 2017; TAFLICK *et al.*, 2017).

O teor de lignina remanescente nas fibras foi reduzido após o branqueamento, de 25% para 0,3%, ou seja: 98% da lignina foi removida após pré-tratamento, eliminando assim a lignina residual precipitada nas fibras após a polpação. Isso se deve ao fato de as fibras estarem mais expostas dada a degradação da lignina durante a polpação acetosolv (SOUZA *et al.*, 2015). Quanto ao teor de holocelulose (42%), resultados similares na literatura foram encontrados para fibras de dendê brutas e fibras de acácia (TAFLICK *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2015).

Em estudos de Montenegro *et al.* (2010), os autores observaram um teor de holocelulose de 78% para a madeira e 70% para a casca do cajueiro, valor superior ao encontrado neste trabalho (42%). Em relação ao teor de lignina (20% a 29%) e cinzas (0,99% e 2,64%), os resultados dos autores foram semelhantes aos encontrados nesta pesquisa (Tabela 3).

O teor de lignina reportado nesta pesquisa mostrou-se elevado quando comparado a outras estruturas vegetais como o caso da bananeira (*M. Cavendishii*), que apresentou o teor no engaço igual a 8,7%; a fibra do sisal (*Agave sisalana*), que apresentou cerca de 10,7 %; e casca de soja com 5,7% (FLAUZINO NETO *et al.*, 2013). Portanto, as fibras da madeira do cajueiro se apresentam como uma excelente fonte de lignina quando comparada a outras fibras.

A porcentagem de cinzas presentes nas madeiras temperadas está entre 0,2 e 0,5%, porém essa faixa é maior em madeiras tropicais, chegando até cerca de 5% de resíduo mineral. O baixo teor de cinzas encontrado para a fibra da madeira do cajueiro neste estudo (2,7%) indica que este material apresenta baixas quantidades de sais inorgânicos (TAFLICK *et al.*, 2015).

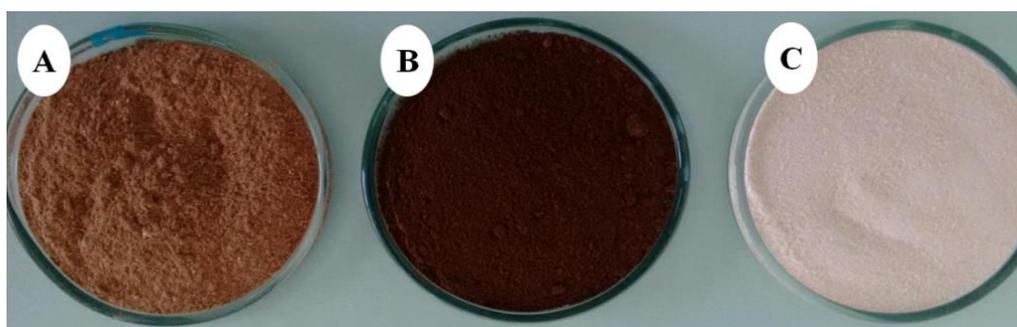
A morfologia e a composição química da casca e da madeira são bem diferentes (FLAUZINO NETO *et al.*, 2013). Segundo Taflick *et al.* (2017), as cascas de árvores são materiais sobre os quais não se encontram aplicações conhecidas como reforço em polímeros, uma vez que representam uma fração muito pequena em relação ao restante da planta, sendo

assim descartadas durante a maioria dos processos industriais. Portanto, resíduos da madeira do cajueiro podem se enquadrar nesse tipo de material.

Vale ressaltar que não se pode considerar estes valores como fixos para essa espécie vegetal, pois podem ser observadas variações devido a posição geográfica do local de plantio, época do ano, idade do vegetal investigado, clima, modo e local de armazenamento, entre outros. Entretanto, a relevância da caracterização química reside no fato de possibilitar o conhecimento acerca do material de estudo permitindo, assim, uma melhor compreensão dos resultados obtidos posteriormente para extração de nanocelulose (DITZEL *et al.*, 2017).

É possível observar na imagem da Figura 13, as diferentes colorações das fibras após cada etapa de tratamento químico. A fibra *in natura* apresenta uma coloração marrom e após o tratamento acetosolv seguido do branqueamento é possível notar que essas fibras apresentaram uma coloração branca.

Figura 13 - Aspectos das fibras após cada etapa de tratamento químico.



Elaborada pela autora. (A) Fibra bruta da madeira do cajueiro; (B) Fibra após acetosolv e (C) Fibra branqueada.

Observa-se que processo de branqueamento removeu a cor escura das fibras pós acetosolv. Essa coloração marrom está relacionada a grupos cromóforos da lignina residual, por exemplo, presentes nas fibras da madeira do cajueiro. Logo, conclui-se que o processo organosolv e o branqueamento foram eficientes para remoção da lignina e pouco eficiente para remoção de hemiceluloses. Estes resultados mostraram que, para avaliar essas nanoestruturas isoladamente, é de suma importância o branqueamento na purificação da celulose antes da hidrólise para obtenção dos NCC.

### ***5.1.2 Rendimentos obtidos do pré-tratamento químico da fibra da madeira do cajueiro***

O rendimento do processo de polpação acetosolv, com base no conteúdo de fibra

bruta da madeira foi de 54,6 %, ou seja: para cada 20g de fibra da madeira, aproximadamente 11g foram convertidos em fibras deslignificadas. Souza (2018), comparando os processos de extração, relatou melhor viabilidade econômica para polpação acetosolv frente à etanosolv para deslignificação das fibras de dendê, obtendo rendimento de 56%. Pinheiro *et al.* (2017) relataram um rendimento de 55% para deslignificação do bagaço da cana de açúcar, ambos os valores próximos ao obtido neste trabalho.

O rendimento para a lignina da fibra da poda do cajueiro foi de 64%. Souza *et al.* (2015) e Nogueira *et al.* (2019) relataram rendimentos de lignina de 63% e 48,5%, para polpação acetosolv de fibras do mesocarpo de dendê e mesocarpo de palma, respectivamente, em condições similares de extração utilizadas neste trabalho. Segundo Nogueira *et al.* (2019), a eficiência do processo de extração da lignina depende da temperatura, tempo de reação, do solvente e catalisadores utilizados.

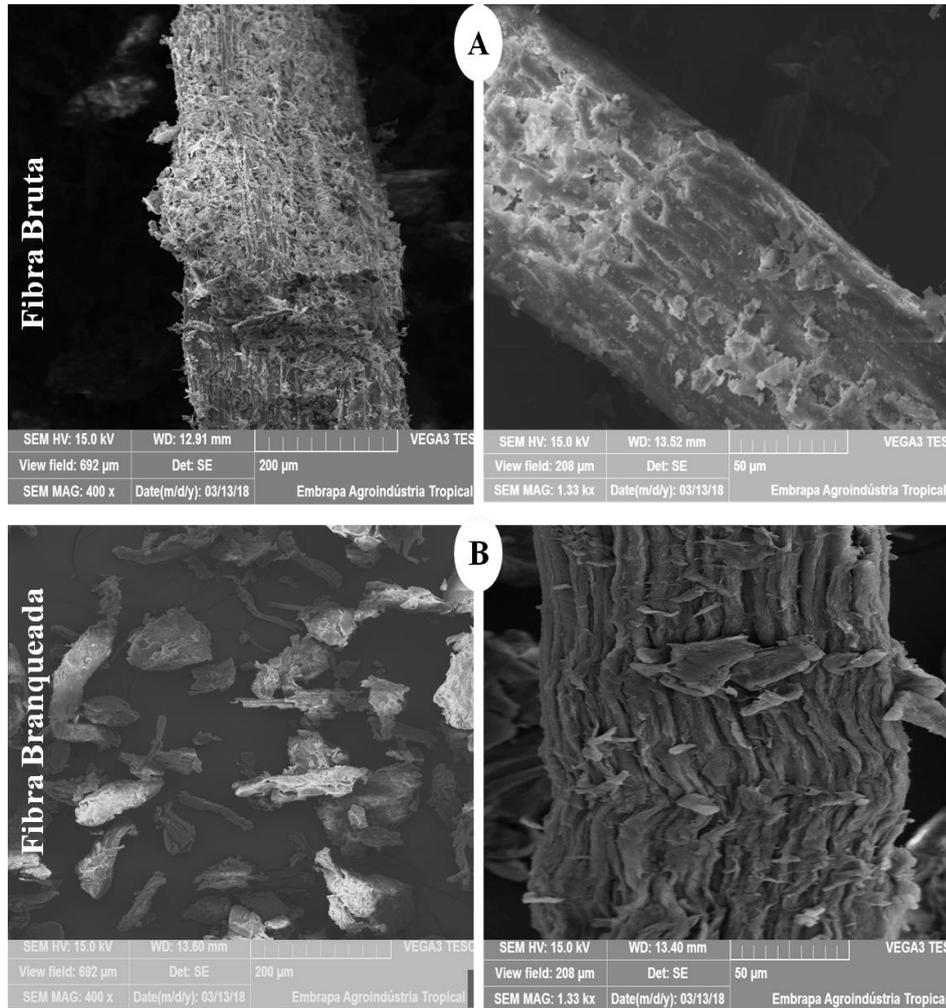
Nesta pesquisa, o rendimento da fibra branqueada, com base no conteúdo de fibra bruta, foi de 47,82 %, valor semelhante ao reportado por Pontes (2017), que obteve 43,25% de rendimento após a mercerização e branqueamento na fibra do tegumento da manga. O resultado também foi similar ao apresentado por Souza *et al.* (2018), que obtiveram rendimento de 41% para fibra de dendê utilizando o mesmo processo para fibra da madeira do cajueiro.

O rendimento de NCC após a hidrólise foi de 5,6%, considerando a massa de fibra branqueada utilizada em cada hidrólise e o teor de sólidos da suspensão final. Valor próximo ao encontrado por Ditzel *et al.* (2017) para NCC da madeira do pinho (2,3%) e fibras de espiga de milho (6%). No presente estudo, um melhor rendimento poderia ter sido alcançado se parâmetros específicos da hidrólise como a concentração de ácido, razão fibra/ácido, temperatura e tempo de reação tivessem sido avaliadas para efeito de comparação (SOUZA *et al.*, 2016).

### **5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV**

A variação morfológica das fibras antes e após o processo químico foi acompanhada por fotomicrografias obtidas por MEV. A Figura 14 (A) mostra as superfícies rugosas das fibras, antes do pré-tratamento, cobertas por partículas globulares e extrativos, além dos constituintes amorfos como lignina e hemicelulose. As fotomicrografias das fibras de celulose branqueadas estão apresentadas na Figura 14 (B), mostrando que o pré-tratamento removeu boa parte dos constituintes não celulósicos, que cobriam a superfície externa da parede celular das fibras (SOUZA *et al.*, 2016).

Figura 14 - Fotomicrografias obtidas pelo MEV.



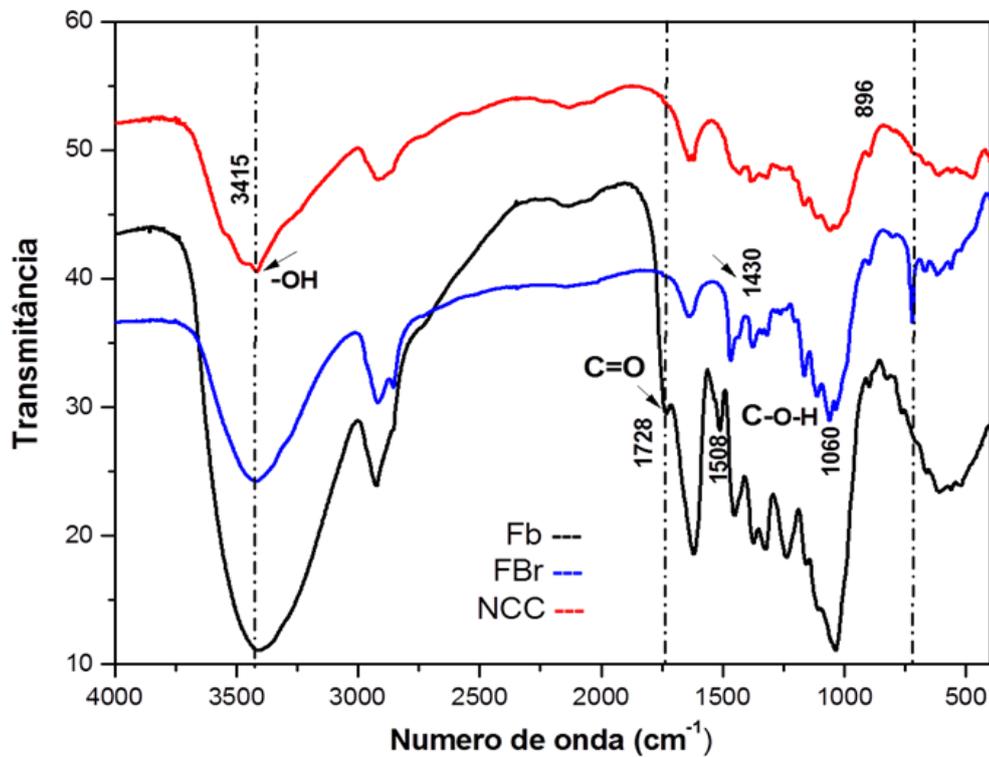
Fonte: Elaborada pela autora. A) fibra bruta da madeira do cajueiro e B) fibra branqueada da madeira do cajueiro.

Lavoratti *et al.* (2016) observaram uma diminuição no tamanho das fibras depois das fases de tratamento, em concordância ao observado neste estudo de tese. A remoção dos componentes que impregnam a celulose, bem como a desfibrilação das fibras são etapas importantes e eficientes no isolamento dos nanocristais de celulose por hidrólise ácida (ROSA *et al.*, 2010; DITZEL *et al.*, 2017). Na Figura 13-B é possível observar a desintegração parcial das fibras, provavelmente devido à remoção de uma parte da hemicelulose e lignina, que interliga as fibrilas de celulose. Logo, comparando as fibras Fb e FBr observa-se que houve mudança na morfologia devido branqueamento.

### 5.1.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises espectroscópicas no infravermelho (FTIR) foram realizadas para identificar os grupos funcionais químicos, característicos das fibras da madeira do cajueiro bruta e, após os pré-tratamentos (branqueamento e hidrólise), com a finalidade de verificar se a lignina e as hemiceluloses foram removidas, obtendo-se fibras branqueadas de celulose e consequentemente os nanocristais de celulose – NCC. Os espectros de FTIR estão apresentados na Figura 15.

Figura 15 - Gráfico FTIR das fibras



Fonte: Elaborada pela autora. Bruta (Fb), Branqueada (FBr) e nanocristais de celulose (NCC) da madeira do cajueiro.

Os grupos funcionais típicos e o número de onda com os possíveis compostos estão listados na Tabela 4. Pode-se observar que os três componentes da fibra foram constituídos por ésteres, aromáticos, cetonas e álcool, com diferentes grupos funcionais contendo oxigênio, por exemplo: OH (3415 cm<sup>-1</sup>), C=O (1728 cm<sup>-1</sup>), C-O-C (1238 cm<sup>-1</sup>), e C-O-H (1060 cm<sup>-1</sup>) (KO *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2018).

Tabela 4 - Principais frequências vibracionais ( $\text{cm}^{-1}$ ) observadas para a fibra da madeira do cajueiro bruta, branqueada e os nanocristais de celulose.

<b>Grupos Funcionais</b>	<b>Número de onda (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>Fibra da Madeira</b>
Estiramento das ligações de $\text{H}_2$ intramolecular da celulose I (O – H)	3421	3415*/**/**
Estiramento (C–H)	2920	2923*/2917**
Estiramento vibracional das ligações acetil e éster da lignina e hemicelulose	1730	1728*
Associado com o anel aromático presente na lignina e hemicelulose ou absorção de água	1638 1593	1614*/1628**
Vibrações C=C do anel aromático	1510	1508*
Ligação C– $\text{H}_2$	1458	1450*/1430**
Ligação C– H	1369	1372*
Estiramento assimétrico da ligação C–O–C da celulose, hemicelulose e lignina	1168	1158*
Banda C–O–C éter glicosídica	1111/1152	1110**
Associado com as ligações glicosídicas da $\beta$ -celulose	891	896*/**/**
Vibrações de O–H fora do plano	650-615	615**/**

Fonte: NETO *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2015; SMYTH *et al.*, 2017; TABARSA *et al.*, 2017. \*Fibra bruta da madeira do cajueiro; \*\*Fibra Branqueada; \*\*\* nanocristais de celulose.

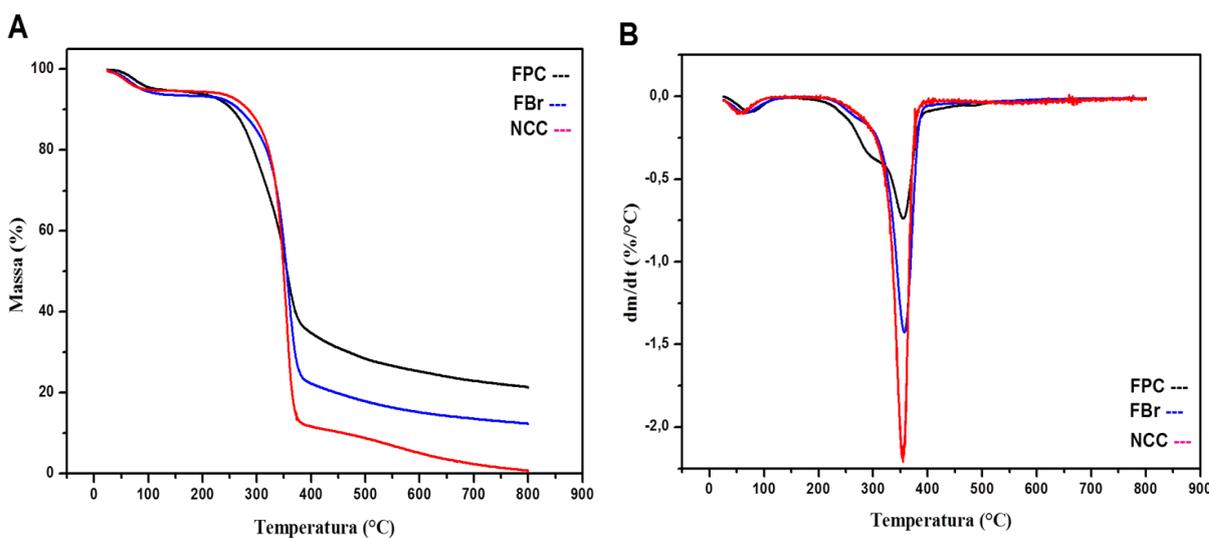
Ao realizar comparação do espectro após os tratamentos (branqueamento e hidrólise), observou-se que a banda em  $1728 \text{ cm}^{-1}$  atribuída ao grupo éster acetil e urônicos de hemiceluloses e/ou a ligações éster dos grupos carboxilas presentes nas hemiceluloses e lignina desapareceu, possivelmente devido à remoção de parte das hemiceluloses e lignina (NETO *et al.*, 2013). Adicionalmente, o desaparecimento das bandas em  $1508 \text{ cm}^{-1}$  (ligações C=C, incluindo os anéis aromáticos da lignina) e  $1375 \text{ cm}^{-1}$  (deformação axial de C-H) também indica a remoção dos componentes não celulósicos. Já a banda  $896 \text{ cm}^{-1}$  (FBr e NCC) é típica da estrutura da celulose. Essas bandas são características de materiais celulósicos e seus valores são consistentes com os encontrados na literatura (TABARSA *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

A banda  $1430 \text{ cm}^{-1}$  identifica estruturas amorfas e mostra que parte dos polissacarídeos hidrolisados como a hemicelulose permaneceu na FBr (SOUZA *et al.*, 2016; NOGUEIRA *et al.*, 2019) como mostrado na caracterização química (Tabela 3). No entanto, o FTIR mostrou a redução gradual na intensidade dessas bandas quando comparada as fibras (Fb, FBr e NCC). Logo, pode-se inferir que os tratamentos realizados foram eficientes para remoção da lignina e boa parte da hemicelulose.

### 5.1.5 Análise termogravimétrica (TGA)

A termogravimetria (TG/DTG) foi utilizada a fim de verificar a estabilidade térmica e temperatura de degradação das fibras antes e após pré-tratamentos (Fb, FBr e NCC). As curvas termogravimétricas (TG) obtidas e suas derivadas (DTG) encontram-se na Figura 16.

Figura 16 - Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) das fibras brutas da madeira do cajueiro (FMC); Fibra Branqueada (FBr) e nanocristais de celulose (NCC).



Fonte: Elaborada pela autora.

Analisando as curvas termogravimétricas, pode-se observar que a fibra *in natura* apresenta três estágios de degradação e uma perda de água. Enquanto que as fibras tratadas quimicamente apresentam dois estágios de degradação e uma perda de água, fato evidenciado nas curvas de DTG. O primeiro estágio, entre 25°C e 122°C, representa uma perda inicial de massa referente à evaporação de água e extrativos de baixa massa molar (MARIANO; CERCENÁ; SOLDI, 2016). O segundo estágio, evidenciado somente na fibra *in natura*, ocorre entre 230°C e 320 °C, devido à quebra das ligações glicosídicas da celulose (SOUZA *et al.*, 2015; MARIANO; CERCENÁ; SOLDI, 2016). A ausência desse estágio na FBr e NCC é uma evidência da remoção de grande parte do material amorfo (ROSA *et al.*, 2010).

O terceiro estágio, entre 335°C e 354°C, é refletido como um pico bastante definido representando a degradação da celulose através de reações de despolimerização, desidratação e decomposição das unidades glicosídicas da celulose (TEIXEIRA *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2015). A degradação térmica da lignina envolve um largo intervalo de temperatura, iniciando a temperatura ambiente e resistindo até aproximadamente 800 °C (EL

ACHABY *et al.*, 2018).

Ainda de acordo com a figura, a temperatura inicial de degradação do NCC foi de 261 °C provavelmente devido à estrutura cristalina. Comportamento parecido foi observado por El Achaby *et al.* (2018b) ao trabalharem nanoestruturas cristalinas de resíduos de vitivinicultura, onde a degradação do NCC começou em torno de 287 ° C, e atingiu seu pico máximo a 326 ° C. A estabilidade térmica é essencial para que os NCC sejam utilizados como material de reforço eficaz. A temperatura típica de processamento de materiais termoplásticos é próxima de 200°C, logo os NCC avaliados neste estudo apresentam grande potencial como agentes de reforço e devem ser avaliados quanto ao seu comportamento termomecânico (FLAUZINO NETO *et al.*, 2013).

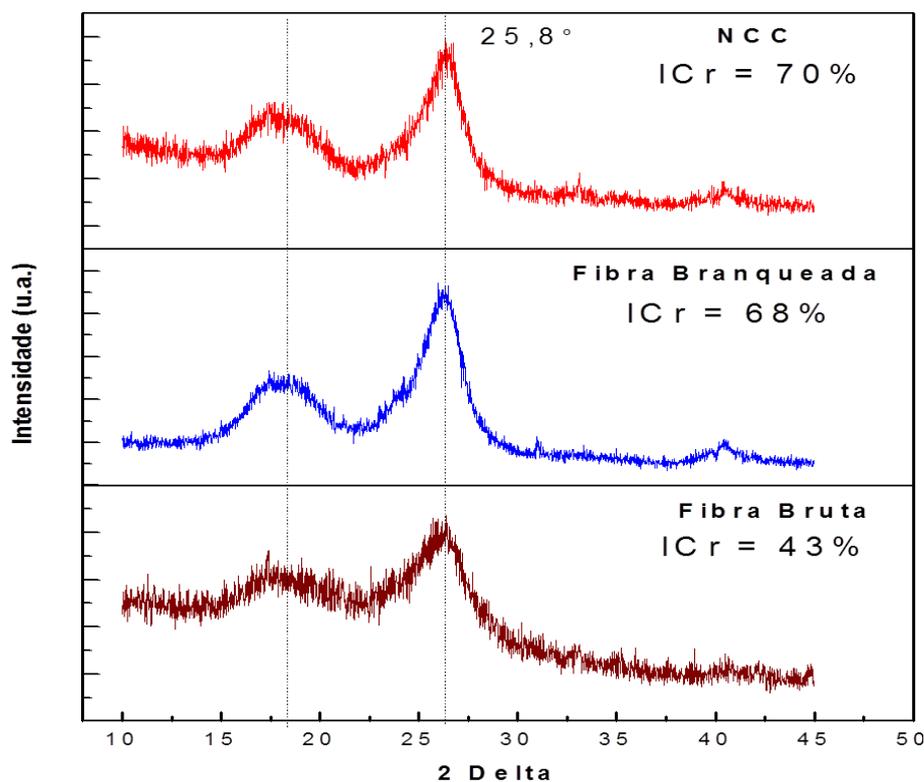
De acordo com os resultados encontrados, as fibras da madeira possuem comportamentos diferentes de pirólise, com faixas de temperaturas diferentes, e que o tratamento químico realizado aumentou a estabilidade térmica das fibras, embora essa influência não tenha sido tão significativa. Logo, os NCC desenvolvidos neste estudo possuem estabilidade térmica viável para diversas áreas, inclusive para serem aplicados em embalagens de alimentos.

#### **5.1.6 Difração de Raios-X (DRX)**

Observou-se, por meio dos difratogramas (Figura 17), registros de característica padrão de difração de celulose tipo I, como indicado pelo JCPDS-ICDD (Joint Comitê de Padrões de Difração de Pó Internacional Centro de Dados de Difração) e como esperado pelo cobalto fonte CoK, com o principal pico de difração da celulose em torno de 25,8 e a menor intensidade em uma difração ângulo em torno de 21°. O mesmo comportamento foi observando por Souza *et al.* (2015).

A partir dos valores determinados, constatou-se que, para o tipo de biomassa investigado (fibra da madeira do cajueiro), as fibras tratadas por branqueamento apresentaram o teor de material cristalino superior à fibra *in natura* (68 e 43 %, respectivamente), confirmando a remoção de componentes amorfos (SOUZA *et al.*, 2016). Valores próximos de cristalinidade foram encontrados na literatura para outras amostras de cascas, como 49,3% para *Eucalyptus grandis*, 43,4% para *Pinus elliottii* (POLETTO *et al.*, 2012) e 46% para *Prosopis Juliflora* (SARAVANAKUMAR *et al.*, 2013).

Figura 17 - Difratoogramas de DRX das fibras – bruta, branqueada e NCC.



Fonte: Elaborada pela autora.

O grau de cristalinidade da celulose refere-se à quantidade relativa de celulose na região cristalina, onde a fibra apresenta maior resistência à tração e ao alongamento. Tal dado é relevante, pois influencia diretamente nas propriedades mecânicas dos filmes (EL ACHABY *et al.*, 2018b). A determinação do índice de cristalinidade (ICr) permite analisar a possível degradação sofrida pela celulose na fibra resultante dos pré-tratamentos. Observa-se, então, um aumento contínuo do ICr após cada tratamento, confirmando a remoção progressiva de materiais não celulósicos amorfos como a lignina e outras impurezas.

Os resultados apresentados nesta pesquisa estão de acordo com El Achaby *et al.*, (2018), que apresentaram valores de 51 e 82% (ICr), respectivamente, para fibra bruta e NCC obtidos de resíduos de uva. Já Souza *et al.* (2015), ao avaliarem a fração cristalina da celulose em fibras da prensagem do mesocarpo do dendê, obtiveram valor de 70% para NCC, semelhante ao encontrado no presente estudo de tese. Esse resultado sugere que os NCC da fibra da madeira do cajueiro podem ser utilizados como reforço em compósitos poliméricos, uma vez que é esperada maior cristalinidade para melhorar as propriedades mecânicas. Logo, foram confirmadas mudanças significativas entre as fibras (Fb, FBr e NCC) pelos espectros de infravermelho, MEV, análise térmica e também difração de raios-X.

## 5.2 Caracterização e fracionamento da lignina

Os valores para o teor de umidade, cinzas, lignina insolúvel e lignina solúvel para a amostra de lignina organosolv da fibra da madeira do cajueiro encontram-se na Tabela 5. Os valores obtidos se aproximam daqueles encontrados na literatura para ligninas obtidas da madeira de quatro espécies (*Eucalyptus paniculata* Sm, *Eucalyptus botryoides* Sm, *Eucalyptus tereticornis* Smith e *Corymbia citriodora* Hook) por meio de processo Organosolv (SANTOS *et al.*, 2015).

Tabela 5 - Caracterização química da lignina organosolv extraída da fibra da madeira do cajueiro.

Umidade %	Cinzas %	Lignina Solúvel %	Lignina Insolúvel %
6,5 ± 0,4	2,9 ± 0,2	2,1 ± 0,2	75,7 ± 5,0

Fonte: Elaborada pela autora.

Devido à sua natureza insolúvel na maioria das matrizes poliméricas, ou seja, não se solubilizam deixando aglomerados ou partículas nos filmes como mostra a Figura 18A, a lignina foi fracionada (LF) utilizando etanol para obtenção das frações solúveis de lignina. Segundo Avelino *et al.* (2019) o fracionamento é uma abordagem muito mais sustentável e econômica, permitindo uma incorporação mais bem-sucedida de frações insolúveis em diferentes matrizes poliméricas. Neste estudo, a LF foi utilizada para produção dos nanocompósitos devido uma melhor solubilização na matriz de CBNF (Figura 18 B).

A despolimerização da lignina de alto peso molecular via etanol pode melhorar tanto sua solubilidade como a atividade antioxidante (AN *et al.*, 2019) e o uso do fracionamento com solvente orgânico é uma metodologia alternativa que seleciona frações de lignina com distribuição estreita de peso molecular e quantidade diferente de grupos funcionais alterando a polaridade e melhorando as propriedades de filmes (AVELINO *et al.*, 2019).

Figura 18 - Filmes nanocompósitos incorporados com lignina.



Fonte: Elaborada pela autora. A) Lignina organosolv e B) Lignina fracionada.

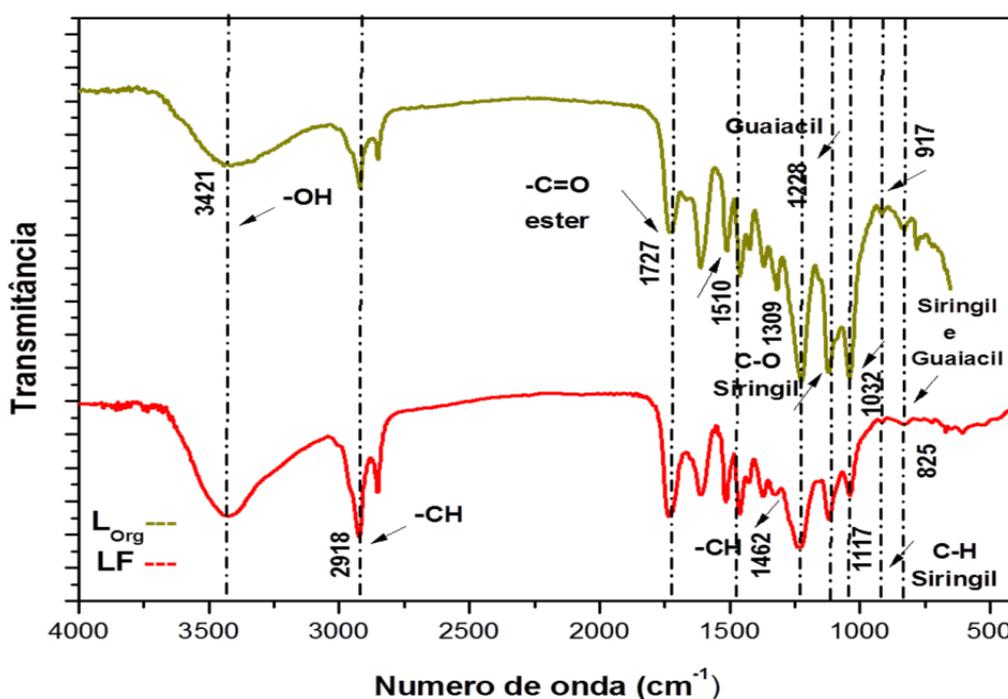
### 5.2.1 Análises de Infravermelho (FTIR) das ligninas

Os espectros de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) das ligninas (organosolv e fracionada) estão apresentados na Figura 19. Os números das bandas e regiões assinaladas se referem à Tabela 6, com formulação baseada em trabalhos desenvolvidos por Rangan *et al.* (2017) e Avelino *et al.* (2019), nos quais foram analisadas e determinadas as principais regiões de absorção no espectro de infravermelho de ligninas do tipo G, GS e HGS.

Identificou-se uma banda larga em  $3421\text{ cm}^{-1}$  corresponde às ligações de hidrogênio (estiramento ou deformação axial O-H). De acordo com a Figura 19, observa-se que o espectro da LF apresenta banda mais intensa do que a  $L_{\text{Org}}$  no comprimento de onda relacionado a ligações hidroxilas. Geralmente, essas bandas são amplas devido às extensas interações de ligação de hidrogênio intra e intermoleculares (RANGAN *et al.*, 2017).

Em  $1727\text{ cm}^{-1}$  aparece uma banda bem definida, referente a estiramento C=O em cetonas não conjugadas, carbonilas e grupos éster. Em  $1462\text{ cm}^{-1}$ , observa-se bandas referentes a deformações das ligações C-H em grupos metila, ambas são características das ligninas. As bandas obtidas em  $1608$  e  $1510\text{ cm}^{-1}$  podem ser relacionadas às estruturas esqueléticas de anel aromático da lignina.

Figura 19 - Espectros no infravermelho das ligninas (região de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ ).



Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 6 - Principais frequências vibracionais ( $\text{cm}^{-1}$ ) observadas para a lignina organosolv e lignina fracionada.

<b>Tipo de vibração</b>	<b>Número de onda (<math>\text{cm}^{-1}</math>) Lignina</b>
O – H (deformação axial)	3429*/3421**
C–H dos grupos metílicos e metilênicos (deformação axial)	2919/2917
C=O em cetonas não conjugadas, carbonilas e ácidos carboxílicos (deformação axial)	1727*/**
Vibração C=C do esqueleto aromático da lignina –CH <sub>3</sub> e –CH <sub>2</sub> - (deformação angular assimétrica)	1508-1614*/1608**
C-H e CH <sub>3</sub> alifático (deformação axial)	1429-1462*/1426-1462**
C-O e C-C ligado ao anel aromático guaiacílico (G) (deformação axial)	1316-1370*/1323-1373**
C-H de anel aromático siringílico (deformação angular no plano)	1228*/1235**
C-H de anel aromático guaiacílico (G) combinado com deformação angular de C-O em álcool primário e éter (deformação angular no plano)	1112*/1117**
C-H aromático (deformação angular fora do plano)	1032*/ 1035
C-H dos H do C-2, C-5 e C-6 do anel aromático guaiacílico(G) (deformação angular fora do plano)	917*
	825*

Fonte: RANGAN *et al.*, 2017. \*Lignina organosolv; \*\* Lignina fracionada.

Em  $1370 \text{ cm}^{-1}$  observa-se a banda referente ao estiramento C-H alifático em CH<sub>3</sub>, estiramento O-H fenólico. Em  $1228 \text{ cm}^{-1}$ , ocorre vibrações de anel guaiacila (G) com estiramentos C-O para a amostra lignina. Em  $917 \text{ cm}^{-1}$  aparece uma banda característica de ligninas referente à deformação -HC=CH- fora do plano. Portanto, esta análise confirmou que as amostras possuem as características químicas de lignina, conforme os referenciais bibliográficos citados.

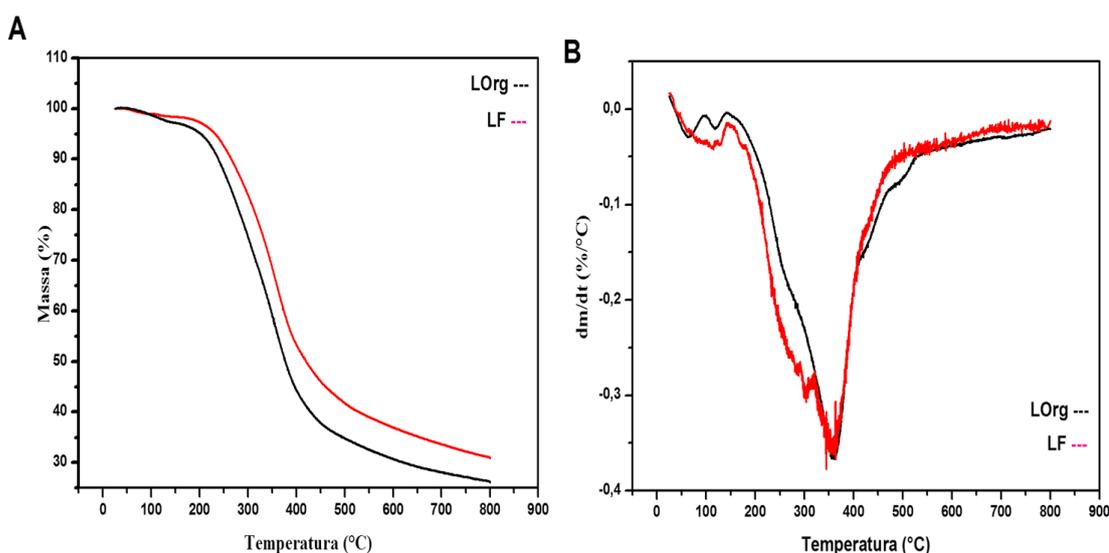
Os espectros para lignina organosolv e fracionada são muito similares. O fracionamento é bastante interessante tendo em vista a sua aplicação como compatibilizante em compósitos (RANGAN *et al.*, 2017), visto que ao se realizar a solubilização da lignina (fracionamento) é gerado uma lignina solúvel a matriz de CBNF e conseqüentemente maior hidrofobicidade aos filmes, ou seja, uma maior possibilidade de aumentar a adesão CBNF/NCC/lignina. Embora a técnica utilizada apresente somente um aspecto qualitativo, esses resultados mostram as diferenças na estrutura orgânica da lignina, o que influencia fortemente nas propriedades finais dos filmes de CBNF como a homogeneidade.

### 5.2.2 Análise termogravimétrica (TGA)

Os termogramas (TGA/DTG) das ligninas estão apresentados na Figura 20. No termograma da amostra de lignina organosolv são observados 3 eventos principais de perda de massa: um primeiro que começa em torno de 30°C e termina por volta de 95°C (com aproximadamente uma perda de 1,28% em massa); um segundo evento muito pequeno por volta de 100-145°C (não quantificado) e um grande evento que tem início por volta de 195°C e termina por volta de 588°C (com uma perda de massa de aproximadamente 68,59%).

Tais dados corroboram com a literatura específica, uma vez que, para a lignina, são descritos normalmente três eventos de perda de massa em análises TGA. O primeiro evento, que ocorre normalmente entre 30-120 °C é atribuído à perda de umidade e compostos voláteis. O segundo evento, que ocorre normalmente entre 180-350°C, ocorre a degradação dos carboidratos associados às amostras de lignina, os quais são convertidos em gases voláteis como CO, CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>. E, por fim, no terceiro evento geralmente observa-se que, entre 350-700°C, é atribuído à degradação da própria lignina, com a liberação de compostos fenólicos, aldeídos, alcoóis e ácidos carboxílicos (RANGAN *et al.*, 2017).

Figura 20 - Curvas termogravimétricas (A) e DTG (B) da lignina organosolv e fracionada da madeira do cajueiro.



Fonte: Elaborada pela autora.

### 5.2.3 Cromatografia de permeação em Gel (GPC)

O resultado do GPC (Tabela 7) indica a distribuição de massa molar da lignina. Este composto, na natureza, possui massa molar infinita, uma vez que está reticulada na estrutura da madeira (TRIBOT *et al.*, 2019). Após o processamento da celulose, a lignina é quebrada em fragmentos com menor massa molar.

A média mássica da massa molar ( $M_w$ ) apresentada foi de 3981 g/mol para lignina organosolv e 1000 g/mol para lignina fracionada. Já a média numérica da massa molar ( $M_n$ ) observada foi 1.048 g/mol para a lignina organosolv e 603 g/mol para a lignina fracionada, o que resulta o valor de polidispersão ( $M_w/M_n$ ) de aproximadamente 3,8 e 1,6 respectivamente. Tal resultado revela que o valor de  $M_n$  foi muito menor em relação ao valor de  $M_w$ , evidenciando uma elevada polidispersividade, indicando que a lignina organosolv extraída da FMC possui uma larga distribuição de massa molar (TAGAMI; SHAIK, 2019). Domínguez-Robles *et al.* (2017) apresentaram valor próximo ao encontrado para a lignina fracionada da madeira, no qual os autores obtiveram polidispersidade de 1,7 para ligninas organosolv de palha de trigo.

Os resultados obtidos nesta pesquisa também são consistentes com os descritos por Tagami e Shaik (2019), que obtiveram polidispersidade de 1,6 para ligninas organosolv da madeira utilizando etanol no fracionamento. De acordo com os autores, ligninas organosolv geralmente têm baixo peso molecular e polidispersidade em comparação com outros tipos de lignina.

Tabela 7 - Propriedades de Peso molecular da lignina obtida da fibra da madeira do cajueiro.

Parâmetro	Lignina Organosolv	Lignina Fracionada
<b><math>M_w</math></b>	3981 g.mol <sup>-1</sup>	1000 g.mol <sup>-1</sup>
<b><math>M_n</math></b>	1048 g.mol <sup>-1</sup>	603 g.mol <sup>-1</sup>
<b>Polidispersividade (PD = <math>M_w/M_n</math>)</b>	3,811	1,659

Fonte: Elaborada pela autora.

O uso do fracionamento produz ligninas com diferentes valores de  $M_w$  e PD, assim como o observado por Avelino *et al.* (2019) para ligninas organosolv fracionadas da fibra de coco. Segundo os autores, esse fato está diretamente ligado à capacidade do etanol de interagir

com fragmentos que têm tamanhos diferentes, bem como tipo e quantidade de grupos funcionais presentes na lignina.

Tagami e Shaik (2019) avaliaram o impacto do fracionamento na estrutura química e atividade antioxidante de ligninas kraft industriais de abeto e eucalipto. Segundo os autores, o peso molecular e a composição fornecem informações essenciais para seu uso como antioxidantes, pois frações com Mw baixo são mais propensas a serem oxidadas. Dessa forma, o fracionamento pode ser utilizado no desenvolvimento de filmes baseados em frações de uma determinada lignina assim como na homogeneização de ligninas de diferentes fontes de biomassa.

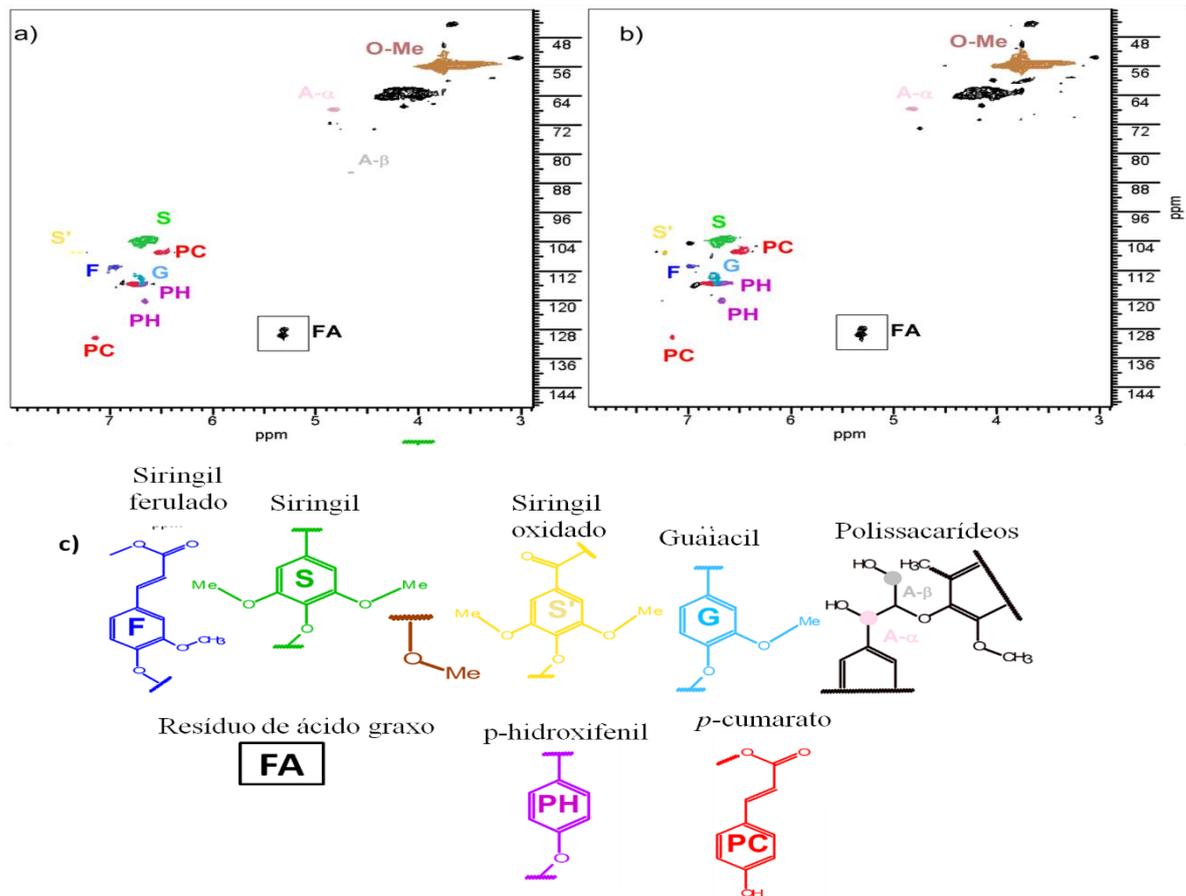
#### **5.2.4 Ressonância Magnética Nuclear**

A ressonância magnética nuclear é uma ferramenta apropriada para a elucidação estrutural da lignina, refletindo alta precisão na determinação de estruturas químicas, funcionalidades, na natureza das ligações químicas e no ambiente da macromolécula (OLIVEIRA, 2015). Com a finalidade de caracterizar a lignina da madeira do cajueiro obtida pelo processo organossolv e o material fracionado, utilizou-se a ressonância magnética bidimensional através da técnica HSQC  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  conforme apresentado na Figura 21. Os picos dos componentes da lignina foram atribuídos de acordo com dados previamente relatados por Constant *et al.* (2016) e Wen *et al.* (2013).

Analisando os espectros de RMN para a lignina da madeira antes e após o fracionamento, observa-se praticamente o mesmo perfil como pode ser observado na Figura 20. No espectro de HSQC, as correlações  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  na região aromática ( $\delta\text{H}/\delta\text{C}$  3,0-8,0/100-160 ppm) forneceram informações sobre os tipos de monômeros presentes na estrutura da lignina. Observa-se que a lignina apresentou sinais característicos referentes aos anéis aromáticos das unidades monoméricas (H, G e S) e do fragmento de *p*-cumarato (PC) ligados à lignina. Também são observados resíduos de siringila oxidada e ferulada (Figura a e b).

Ligações como as do tipo  $\beta$ -O-4 e  $\alpha$ -O-4 (fenílicas-propanóides) são ligações responsáveis pela complexidade estrutural da lignina, estando estas relacionada a diferença de solubilidade e rigidez da estrutura (JARRELL *et al.*, 2014; PU *et al.*, 2013). Para a lignina da madeira do cajueiro foram observados resíduos de ácido graxo e polissacarídeos, como a ligação éter arílico ( $\beta$ -O-4,  $\alpha$ -O-4) em ambos os materiais (cor rosa e cinza nas Figuras a e b).

Figura 21 - Espectro HSQC das regiões alifáticas e aromáticas da lignina com as principais subestruturas identificadas no espectro.



Fonte: Elaborada pela autora. a) Lignina organosolv, b) Lignina fracionada e c) fórmulas estruturais.

No entanto, os sinais para as ligações A-β desaparecem no espectro da lignina fracionada, o que pode sugerir uma quebra parcial dos polissacarídeos. Os ácidos graxos na lignina foram previamente observados em ligninas técnicas cobrindo três principais métodos industriais de polpação e lignina bruta de grama perene (ABDELKAFI *et al.*, 2011; JARRELL *et al.*, 2014).

Portanto, os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C estão de acordo com FTIR, no qual a lignina se apresentou composta principalmente de unidades siringil e guaiacil. O conhecimento das características químicas e dos grupos funcionais proporciona informações para possíveis aplicações da lignina em diversos processos inclusive para obtenção de polímeros, viabilizando assim sua inserção no mercado como produto de alto valor agregado (TRIBOT *et al.*, 2019).

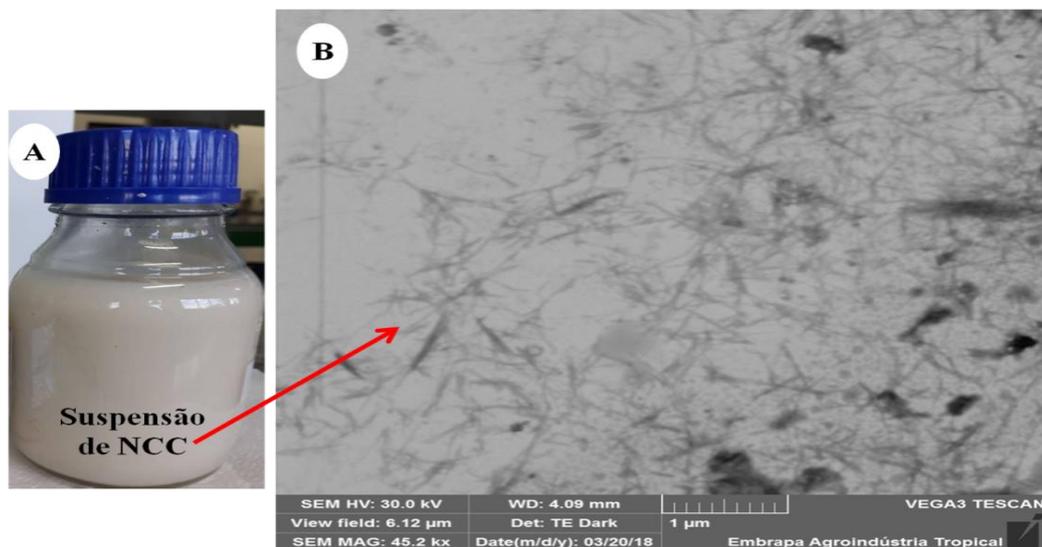
### 5.3 Caracterização dos nanocristais de celulose da fibra da poda do cajueiro

#### 5.3.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET e Potencial Zeta

A fim de determinar o comprimento e diâmetro dos NCC, ou razão de aspecto (L/D), amostras diluídas foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET). É possível observar, na Figura 22, regiões que apresentam a morfologia típica NCC. Todavia, as fibras apresentaram aglomerações, o que dificulta a avaliação do comprimento e o diâmetro dos NCC (LEITE, 2015; WEI *et al.*, 2018). As micrografias de MET apresentaram NCC com formato de agulha, confirmando que a extração foi bem sucedida.

A razão de aspecto média encontrada nessas fibras foi em torno de 17 apresentando uma largura média de 17,4 nm e comprimento médio de 276,7 nm. Os valores de razão de aspecto obtidos para os NCC da fibra da madeira foram similares aos obtidos para casca de arroz, palha de milho e fibras de algodão (NASCIMENTO, *et al.*, 2015). No entanto, os valores foram menores do que os obtidos para madeira (em torno de 25) e para celulose bacteriana (em torno de 94) (TABARSA *et al.*, 2017).

Figura 22 - Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das amostras



Fonte: Autor. A) Suspensão de nanocristais de celulose e B) Fotomicrografia de MET dos NCC.

Uma das características importantes para aplicações dos NCC como reforço de matrizes poliméricas é a razão de aspecto (DUFRESNE, 2017), ou seja, quanto maior seu valor, maior a capacidade de reforço do material. Em trabalho de extração de NCC de fibras da

madeira do álamo, Wei *et al.* (2018) avaliaram o desempenho do material extraído em poli (ácido láctico). Os NCC com alto teor de lignina obtiveram razão de aspecto (L/D=13) maior que a do NCC sem lignina (L/D=8). Logo, observa-se que a razão de aspecto vai depender do tipo da fibra, o pré-tratamento e a hidrólise utilizada na extração (GONÇALVES *et al.*, 2018; GUTIERREZ; ALVAREZ, 2017).

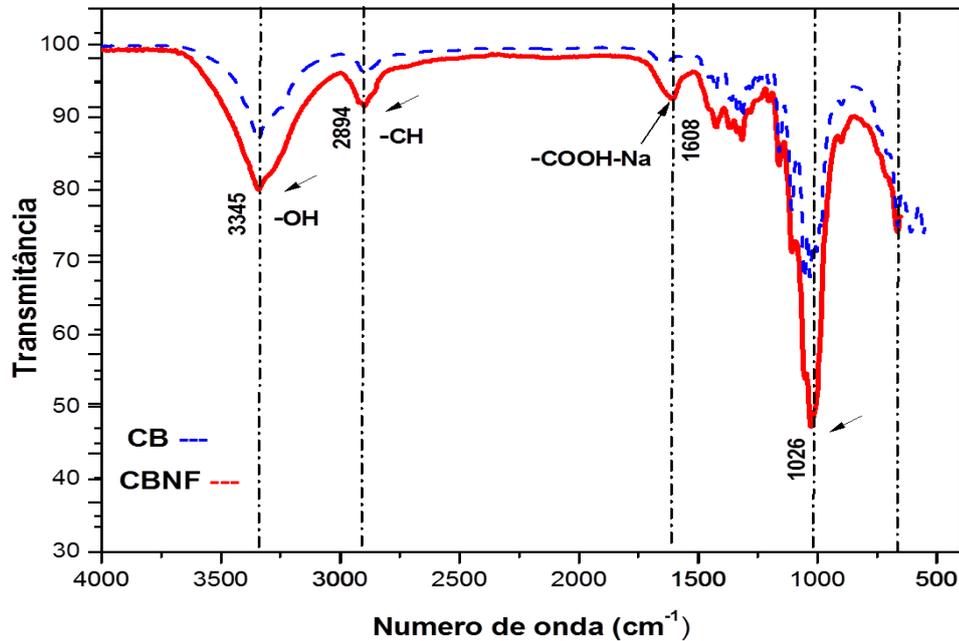
O valor de potencial Zeta obtido para a suspensão de NCC da fibra da madeira do cajueiro foi de  $-26,1 \pm 2,4$  mV, indicando a presença de cargas negativas derivadas dos grupamentos sulfatos oriundos da hidrólise com ácido sulfúrico (DITZEL *et al.*, 2017). Valor próximo foi encontrado na literatura para fibra de algodão ( $25,35 \pm 1.5$  mV) (NASCIMENTO *et al.*, 2014), celulose microcristalina ( $-26.1 \pm 1.1$  mV) e fibras extraída de madeira de pinho ( $-24,7 \pm 0,8$  mV) (DITZEL *et al.*, 2017). Como o valor em módulo é maior que 25 mV, a suspensão é considerada estável (VASCONCELOS *et al.*, 2017). Portanto, foi possível obter NCC provenientes das fibras da madeira do cajueiro, que são fibras sem valor agregado e até então sem muitos estudos que viabilizam sua utilização comercial para serem utilizados como reforço em nanocompósitos. Os resultados também demonstraram que as metodologias utilizadas na obtenção de ligninas e NCC foram eficientes, visto que todas as análises de caracterização apresentaram as características químicas, térmicas, morfológicas e estruturais de lignina e NCC conforme a literatura.

## **5.4 Caracterização da celulose bacteriana (CB) e nanofibrilada (CBNF)**

### ***5.4.1 Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier***

Observa-se através da Figura 23 bandas típicas da celulose, muitas relacionadas às ligações O-H e C-H, como as bandas encontradas nas regiões entre  $3400 - 3300$   $\text{cm}^{-1}$ , que correspondem à ligação de hidrogênio intermolecular (CERQUEIRA *et al.*, 2011; SALARI *et al.*, 2018).

Figura 23 - Espectro de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR) da celulose bacteriana CB e da celulose bacteriana nanofibrilada CBNF.



Fonte: Elaborada pela autora

A banda  $2894\text{ cm}^{-1}$  e  $2914\text{ cm}^{-1}$  correspondem a ligações C-H de hidrocarbonetos saturados (CERQUEIRA *et al.*, 2011); bandas encontradas na região de  $1625\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas a água absorvida (GEA *et al.*, 2011); bandas entre  $1425 - 1435\text{ cm}^{-1}$  correspondem as ligações H-C-H e O-C-H; vibrações em  $1160\text{ cm}^{-1}$  corresponde a ligação C-O-C (MACHADO *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2011) e bandas próximas a  $1060\text{ cm}^{-1}$  correspondem à ligação C-O-H, típicas de carboidratos (GEA *et al.*, 2011; LIMA, 2018). Além das bandas típicas de celulose, evidencia-se no espectro da CBNF a banda  $1608\text{ cm}^{-1}$ , referente ao grupamento C=O, confirmando a presença do grupo carboxilato e a oxidação da celulose, resultado similar ao relatado por Viana *et al.* (2018) e Nascimento (2018).

#### 5.4.2 Análise Termogravimétrica – TGA

O perfil de degradação da CB mostra a ocorrência de três eventos de perda de massa (Figura 24-A). O primeiro evento térmico está associado à perda de água superficial, que ocorre, de acordo com Machado *et al.* (2016), em torno de  $100^{\circ}\text{C}$  ou temperatura ambiente ( $\sim 30^{\circ}\text{C}$ ) até cerca de  $150^{\circ}\text{C}$ , com  $\sim 5\%$  de perda de massa (LIMA *et al.*, 2018). O segundo evento, que causa acentuada perda de massa, é atribuído à degradação da celulose, que inclui

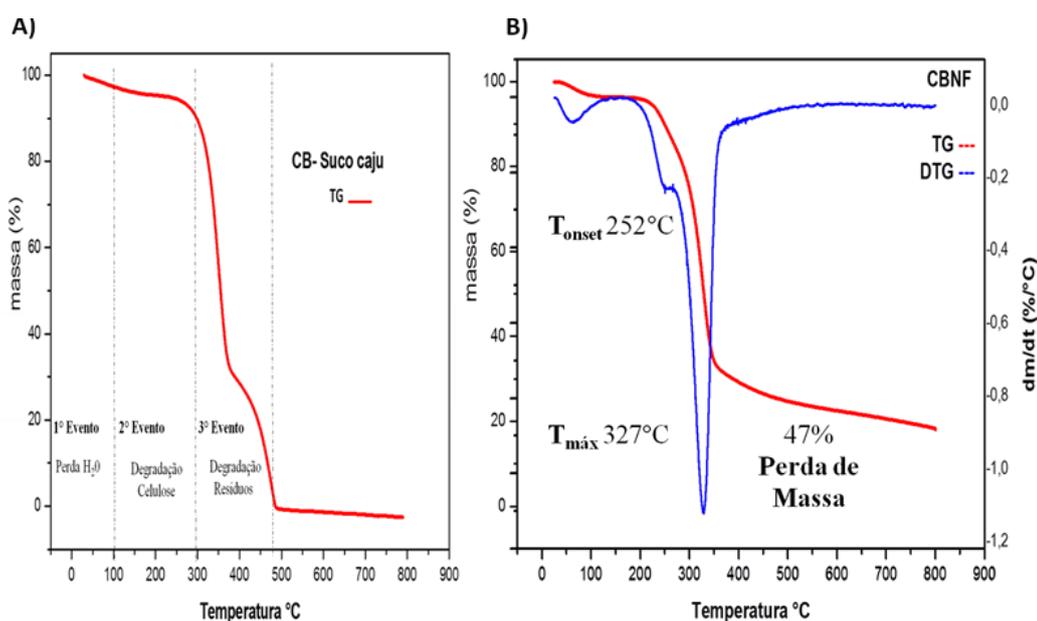
despolimerização, decomposição das unidades de glicose e desidratação (VASCONCELOS *et al.*, 2017).

A temperatura de início de degradação ( $T_i$ ) foi de 306,9 °C e a temperatura na qual a taxa de degradação apresentou-se máxima ( $T_{max}$ ) foi igual a 337,5 °C, com uma perda de massa de 63 %. Estes resultados estão de acordo com os citados na literatura (NASCIMENTO, 2018; LIMA, 2018). O terceiro e último evento representa a degradação de resíduos carbonáceos, que se estende até cerca de 490 °C, com perda de massa de 31 %, dados que também confirmam o que a literatura reporta (COSTA *et al.*, 2016).

A Figura 24-B mostra a curva termogravimétrica e sua respectiva derivada (DTG) da CBNF. O pico de degradação térmica inicial ( $T_{onset}$ ) foi de 252°C e degradação máxima ocorreu a 327°C, valores próximos ao relatado por Silva (2018) (247 e 301°C), Nascimento (2018) (218 e 330°C) e Lima *et al.* (2018) (245 e 363°C) para CBNF.

Segundo Lima (2018), a maior quantidade de cinzas na CBNF pode estar relacionada a um maior grau de oxidação deste material evidenciando a inserção de carboxilato de sódio na estrutura da celulose durante a reação de oxidação mediada a TEMPO. Lichtenstein e Lavoine (2017) relatam que a presença de grupos carboxílicos na superfície das microfibrilas é comprovadamente responsável pela menor estabilidade térmica de produtos oxidados de celulose e nanocelulose. Logo, os valores referentes à temperatura inicial e final de degradação da CB e CBNF estão de acordo com a literatura.

Figura 24 - Curva termogravimétrica



Fonte: Elaborada pela autora. A) TG da CB e B) TG/DTG da CBNF.

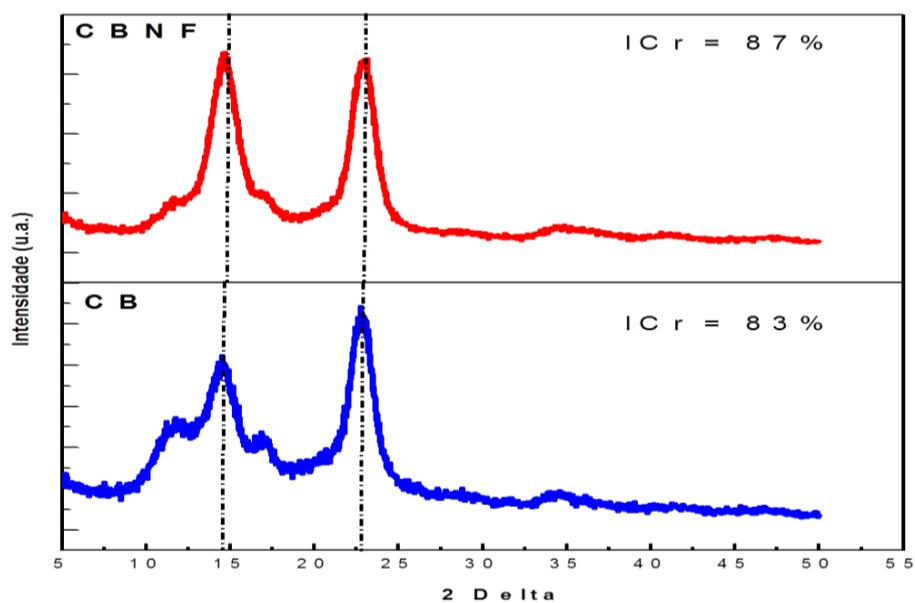
### 5.4.3 Difração de Raios-X da CB e CBNF

Os difratogramas de raios X da CB e da CBNF (Figura 24) apresentaram padrões típicos de celulose do tipo I e II, com ombros e picos nos ângulos de difração  $2\theta$  em  $11,8^\circ$ ,  $14,6^\circ$ ,  $16,9^\circ$  e  $22,8^\circ$  para CB e  $14,6^\circ$  e  $22,8^\circ$  para CBNF. Os picos de cristalinidade próximos de  $14^\circ$ ,  $16^\circ$  e  $22^\circ$  indicam a presença de celulose tipo I, predominantes em celulose secretada por bactérias, e correspondem aos planos cristalográficos (101), (10 $\bar{1}$ ) e (002) (SALARI *et al.*, 2018; TABARSA *et al.*, 2017).

Devido à despolimerização das cadeias celulósicas por reações de eliminação, o índice de cristalinidade foi aumentado após a oxidação, como observado na Figura 24. A oxidação, combinada com o tratamento mecânico, resultou em maior conteúdo de regiões cristalinas e esses valores são semelhantes aos relatados na literatura utilizando outros meios alternativos para a produção de CB (MACHADO *et al.*, 2016; NASCIMENTO, 2018; TABARSA *et al.*, 2017).

Segundo Lima (2018), a fração cristalina da celulose é pouco afetada pela oxidação mediada a TEMPO, o que explica essas pequenas diferenças quando comparam-se as celuloses não tratadas com as celuloses nanofibriladas de ambos os meios (LICHTENSTEIN; LAVOINE, 2017).

Figura 25 - Difratogramas de DRX da Celulose Bacteriana (CB) e Celulose Bacteriana Nanofibrilada (CBNF).



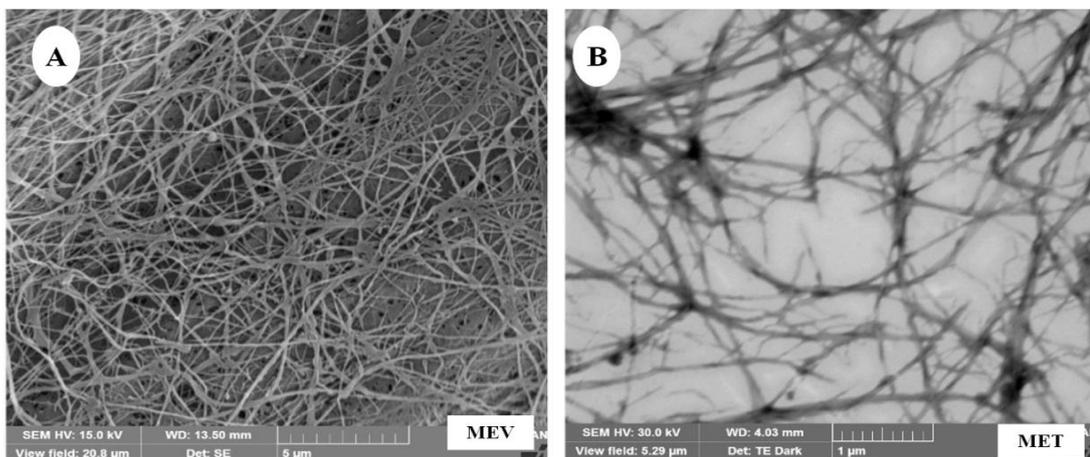
#### 5.4.4. Microscopia Eletrônica de varredura (MEV) e Microscopia eletrônica de transmissão (MET) para celulose bacteriana

A micrografia da película de CB oriunda do meio alternativo (suco de caju), e da respectiva suspensão de CBNF obtidas por oxidação a TEMPO foi avaliada em estudos anteriores pelo mesmo grupo de pesquisa, como mostra a Figura 26.

De acordo com Lima (2018), que utilizou o mesmo material e processo utilizado neste estudo de tese, observou-se que as fibras estavam menos aglomeradas (CBNF) quando comparadas com as fibras do material não tratado (Figura 26-A) evidenciando a quebra ou separação das estruturas promovida pela combinação do tratamento oxidativo/mecânico (Figura 25-B). Segundo o mesmo autor, a desconstrução mecânica apresenta a vantagem de gerar um material fluido de maior versatilidade para aplicações em alimentos do que a membrana de CB.

Logo, conclui-se que a CBNF utilizada como matriz polimérica tem a capacidade de formar uma rede com fibrilas devido ao tratamento mecânico, formando uma estrutura heterogênea no qual serão incorporados novos componentes (glicerol, NCC e lignina) para torná-los mais homogêneas. Assim, a oxidação da CB (resultantes da reação com TEMPO) torna-se bastante promissora, pois resulta em nanofibrilas de celulose que potenciam o aumento das resistências à tração e propriedades de barreira dos compósitos (LICHTENSTEIN; LAVOINE, 2017).

Figura 26 - Micrografias das celulosas



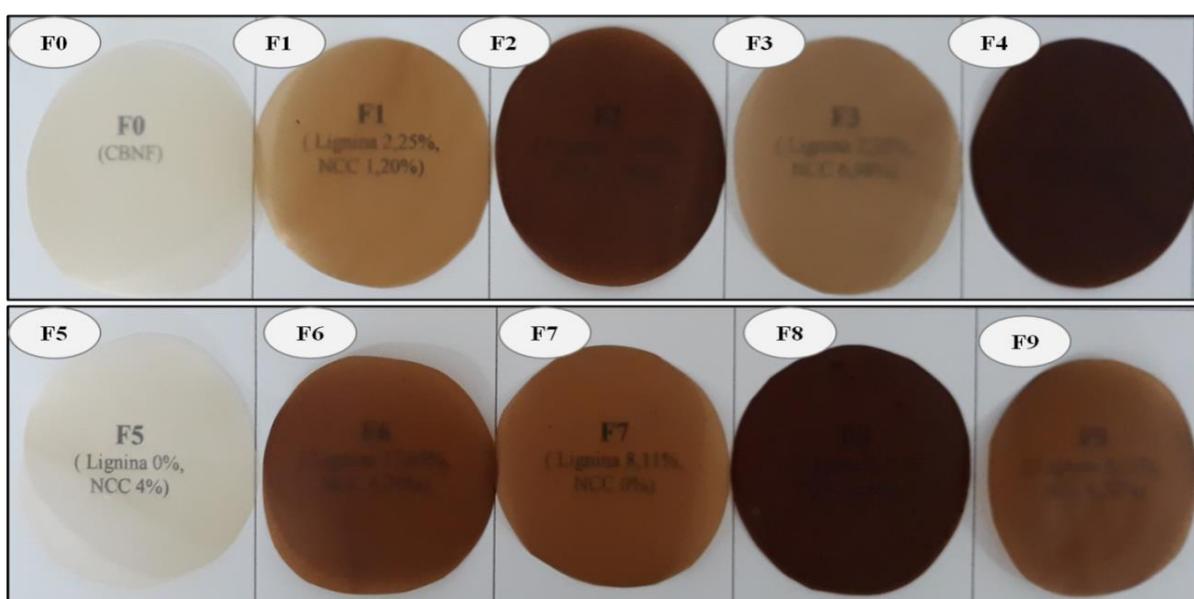
Fonte: Lima (2018). (A) MEV da Celulose Bacteriana – CB, (B) MET da Suspensão de Celulose bacteriana nanofibrilada oxidada – CBNF.

## 5.5 Caracterização dos filmes nanocompósitos

### 5.5.1 Aspecto visual e espessura dos filmes nanocompósitos

Na Figura 27 estão apresentados os respectivos filmes de cada tratamento definido pelo delineamento experimental. Os filmes obtidos apresentaram boa aparência, facilidade de remoção dos substratos das formas, ausência de bolhas ou rachaduras, características que foram indicativas de que a composição e condições de processamento das dispersões filmogênicas foram adequadas.

Figura 27 - Filmes nanocompósitos de celulose e lignina.



Fonte: Elaborada pela autora. F0 (Controle); F1 (2,20% Lignina/1,17% NCC); F2 (12,80% Lignina/1,17% NCC); F3 (2,20% Lignina/6,83% NCC); F4 (12,80% Lignina/6,83% NCC); F5 (0% Lignina/4% NCC); F6 (15% Lignina/4% NCC); F7 (7,50% Lignina/0% NCC); F8 (7,50% Lignina/8% NCC); F9 (7,50% Lignina/4% NCC).

Os filmes com aspecto marrom opaco foram obtidos em função da concentração de lignina variando de 2,20 a 15%. Os filmes dos tratamentos F0 e F5 apresentaram-se translúcidos e praticamente incolores. Com o aumento do teor de lignina (F2, F4, F6 e F8) os filmes se tornaram mais escuros e rígidos. O mesmo foi observado em compósitos de resinas epóxi/CNF com lignina residual e em filmes de alginato/lignina cuja maior concentração de lignina resultou em filmes mais escuros (NAIR *et al.*, 2017; AADIL; PRAJAPATI; JHA, 2016). De acordo com Bideau *et al.* (2017) além de reduzir os resíduos de embalagens gerados por plásticos sintéticos, os filmes biodegradáveis com cor escura podem proteger os alimentos da degradação da luz.

A espessura dos filmes obtidos variou entre  $0,075 \pm 0,002$  (F0 e F5),  $0,082 \pm 0,009$  (F7) e  $0,094 \pm 0,003$  mm (F9), aumentando com a concentração de lignina (comparando formulações F0 e F7). Todavia, não houve influência pela concentração de NCC. Isso indica que a espessura dos filmes esteve associada à quantidade de sólidos presentes na solução formadora do filme, ou seja, quanto maior a quantidade de NCC e lignina, maior espessura resultante (F9). Variações na espessura de um material implicam em problemas no seu desempenho mecânico e perda de barreira que irão, conseqüentemente, comprometer o desempenho da embalagem.

A partir dos dados obtidos no delineamento experimental foram selecionados os seguintes tratamentos: F0 (controle), F5 (somente NCC), F7 (somente lignina) e F9 (com ambos) para serem submetidos a análises mais específicas: Microscopia Eletrônica de varredura (MEV), Análise Termogravimétrica (TGA), Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), Difração de raios X (DRX), Atividade antioxidante e antimicrobiana.

### **5.5.2 A microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Na Figura 28 (A) e (B) estão apresentadas as fotomicrografias dos filmes: F0, F5, F7 e F9. As análises realizadas nas superfícies dos filmes (Figura 28A) mostrou uma matriz coesa, porém, irregular no tratamento F7, com presença de partículas dispersas, provavelmente causada pela presença da lignina. O mesmo foi observado em filmes de PLA incorporados com nanopartículas de prata e lignina (SHANKAR; RHIM; WON, 2018) e em nanocompósitos de resina vegetal urushi/lignina (NARITA *et al.*, 2019).

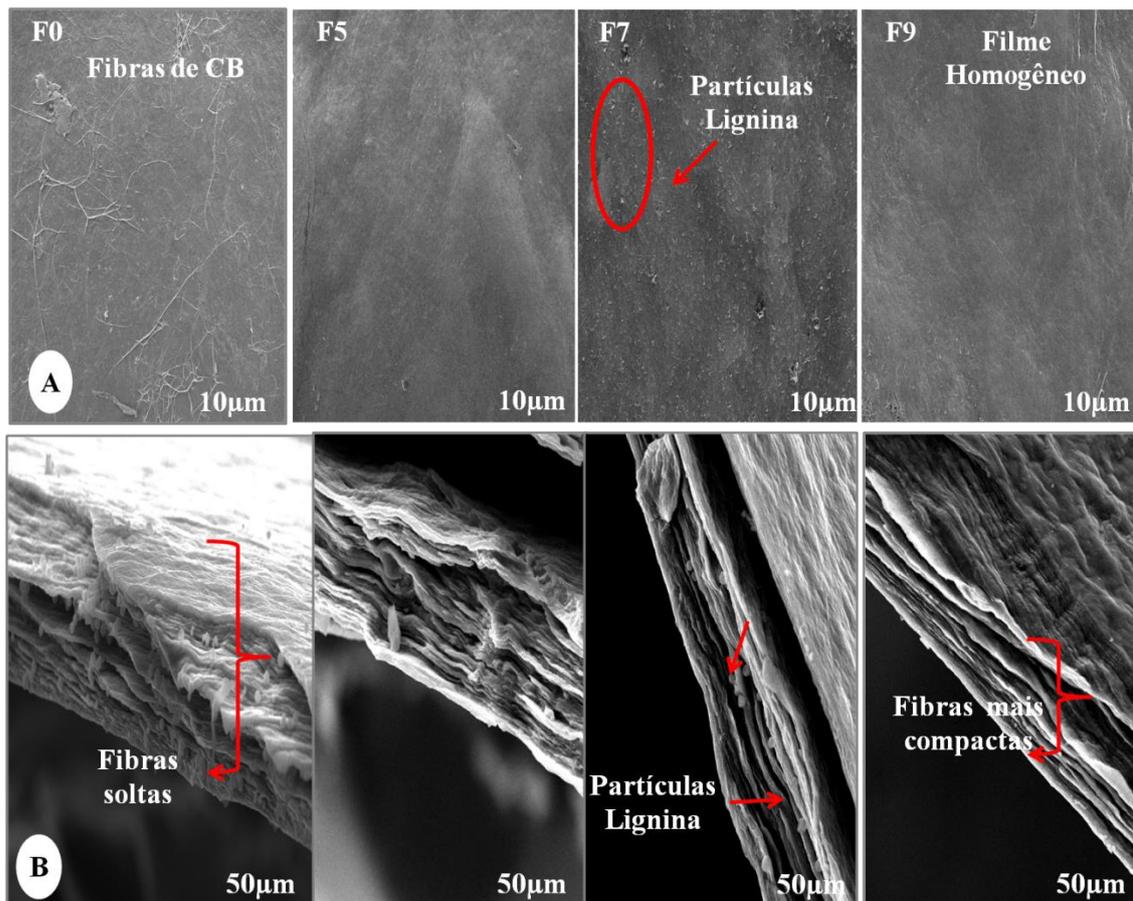
Os filmes apresentaram aspecto homogêneo a uma escala macroscópica, mas as observações microscópicas revelaram estruturas heterogêneas que consistem em uma matriz rica em celulose e lignina dispersa. Agregados similares também foram observados por Crouvisier-Urien *et al.* (2017), em biopolímeros de quitosana e lignina.

Nos tratamentos F5 e F9 (Figura 28A) foram observados filme lisos, com pouca rugosidade e algumas partículas que provavelmente podem ser grânulos insolúveis de NCCs ou lignina, que não foram totalmente solubilizados ficando dispersos nos filmes. Lima (2018) em seu estudo com CBNF/suco caju, obteve filmes com aspecto denso e estrutura compacta de modo que não foi possível a visualização nítida das nanofibras de celulose, similar ao observado neste trabalho. Segundo o autor, a secagem a  $50^{\circ}\text{C}$  promoveu a compactação da estrutura, conduzindo a formação de um filme menos poroso em virtude da sobreposição das fibras durante a evaporação da água contida na suspensão.

Para este estudo foi possível à visualização das fibras somente no filme controle. Superfícies mais rugosas (F7) indicaram uma pobre interação entre as partículas de lignina e a matriz de celulose (CBNF), que com a adição de NCC melhorou a dispersão da lignina tornando a superfície do filme mais homogênea (Figura 28A/F9). Para Jayaramudu *et al.* (2019), a lignina age melhorando a interação interfacial através da formação de ligações de hidrogênio com a CNF. Neste estudo, de acordo com as imagens obtidas, houve uma melhor interação entre as fases quando se adicionou NCC. Portanto, essa adição mostrou-se efetiva para tornar o material mais homogêneo.

Somente na fratura criogênica do plano transversal ao processo foi possível observar uma orientação do conjunto dessas nanofibrilas unidas. Essa união foi governada pelo emaranhamento mecânico que ocorreu na etapa de nanofibrilação. Além disso, notou-se a formação nítida de uma estrutura mais compacta conforme a lignina adicionada (Figura 28B).

Figura 28 - Micrografias de MEV-FEG



Fonte: Elaborada pela autora. A) superfícies dos filmes e B) fratura criogênica no sentido transversal ao processamento da superfície do filme de CBNF. F0 (Controle), F5 (0% Lignina e 4% NCC), F7 (7,5% Lignina e 0% NCC) e F9 (7,5% Lignina e 8% NCC).

As análises morfológicas são importantes para sustentar os resultados mecânicos obtidos. Neste estudo observou-se que, conforme se aumentava o conteúdo de lignina, o material se tornou aparentemente mais instável, com superfície menos homogênea, podendo estar diretamente relacionada com o aumento de aglomerados e a heterogeneidade do compósito. Para Crouvisier-Urion *et al.* (2017), os agregados enfraqueceram ligeiramente a rede, conforme refletido pelas propriedades mecânicas. Portanto, é importante avaliar a relação entre a morfologia das fases e as suas propriedades, incluindo as características mecânicas.

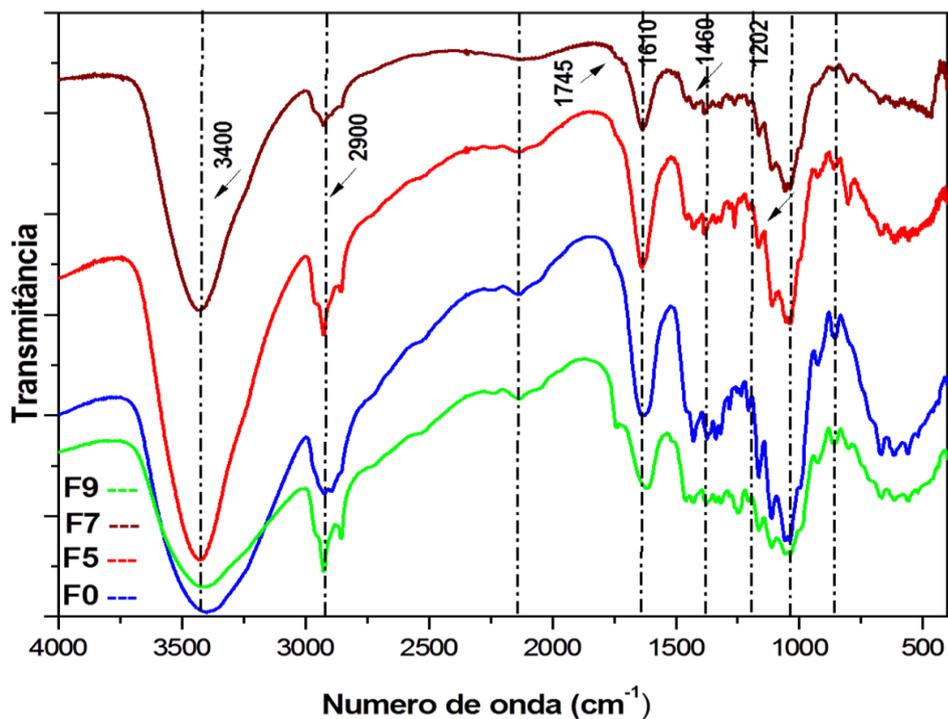
### 5.5.3 FTIR dos nanocompósitos

Os espectros de FTIR (Figura 29) dos filmes apresentaram bandas características da celulose. A banda larga localizada em  $3343\text{ cm}^{-1}$  refere-se ao modo vibracional do grupo hidroxila (SALARI *et al.*, 2018). As bandas situadas em  $1425\text{ cm}^{-1}$  e  $1110\text{ cm}^{-1}$  relaciona-se às vibrações simétricas de  $\text{CH}_2$ , C-O-C e alongamentos assimétricos de C-H (BOUKIR, FELLAK & DOUMENQ, 2019). A banda em  $1740\text{ cm}^{-1}$  (deslocada para  $1745\text{ cm}^{-1}$  nos filmes) refere-se ao alongamento C = O dos grupos acetil na lignina (LIU *et al.*, 2014).

Em aproximadamente  $1370\text{ cm}^{-1}$  e  $1315\text{ cm}^{-1}$  as bandas referem-se às deformações nas ligações CH e  $\text{CH}_2$  respectivamente. Bandas entre  $1162$  e  $1110\text{ cm}^{-1}$  presentes nos filmes com NCC são referentes à deformação das ligações C-O, C-C, C-OH e C-O-C. Em  $895\text{ cm}^{-1}$  a banda refere-se à vibração da ligação  $\text{CH}_2$  (LIU *et al.*, 2017; TABARSA *et al.*, 2017).

A FTIR dos filmes permitiu avaliar as diferenças na estrutura orgânica do polímero com a introdução dos NCC e da lignina. Comparando-se as curvas dos compósitos e da matriz (CBNF), observou-se que as mesmas são muito parecidas, porém as maiores diferenças se referem ao importante aumento nas bandas a  $3400\text{ cm}^{-1}$  correspondentes aos grupos hidroxila presentes nas fibras. Além disso, verificou-se um aumento de intensidade no espectro comparativo, que apresentou bandas na região próxima de  $1500\text{ cm}^{-1}$  correspondentes aos anéis aromáticos da estrutura da lignina, indicando a presença deste composto nos filmes. A banda  $1516\text{ cm}^{-1}$  praticamente desaparece nos filmes com lignina provavelmente atribuída a efeitos ou interações de diluição com outros componentes do filme. O mesmo comportamento é observado por Shankar e Rhim, (2017) em compósitos de Agar/ lignina.

Figura 29 - Espectros FTIR dos nanocompósitos.



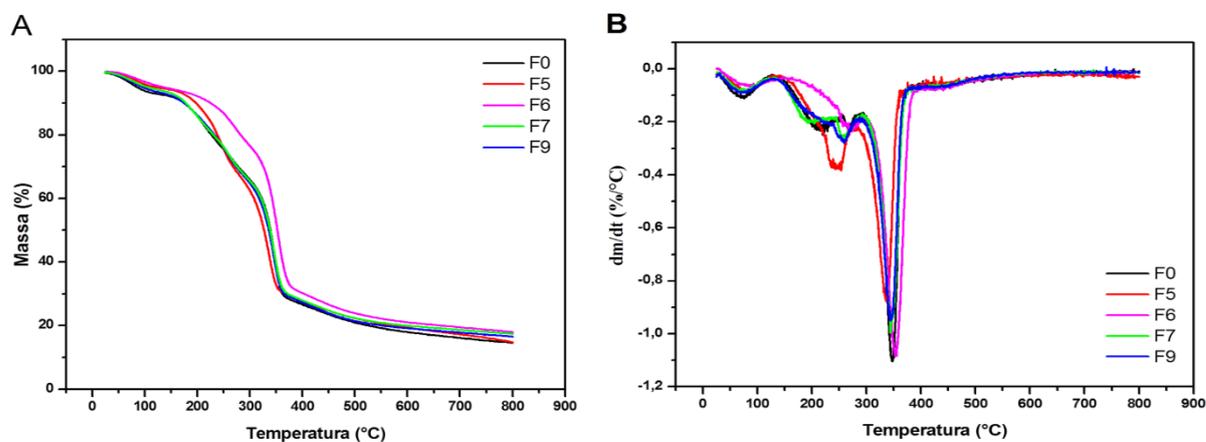
Fonte: Elaborada pela autora. F0 (Controle); F5 (0% Lignina/4% NCC); F7 (7,50% Lignina/0% NCC) e F9 (7,50% Lignina/4% NCC).

#### 5.5.4 Análise Termogravimétrica

O perfil termogravimétrico dos filmes de CBNF (Figura 30) mostrou similaridades entre si e características típicas de perfis de CB relatados na literatura (LIMA *et al.*, 2018; TYAGI; SURESH, 2016). As temperaturas  $T_i$ ,  $T_{máx}$  e  $T_f$  dos filmes apresentaram-se inferiores, quando comparadas com as celuloses controle não oxidadas (CB). Tal perda de estabilidade foi observada em trabalhos anteriores e relaciona-se com o tratamento de oxidação mediada a TEMPO (NASCIMENTO, 2018; LIMA, 2018).

Fukuzumi *et al.* (2010) observaram que filmes puros de CNF oxidadas a TEMPO apresentaram  $T_i$  na faixa de 200 a 222 °C. Lima (2018) obteve valores de  $T_i=216^\circ\text{C}$  para filmes de CBNF. Este trabalho apresenta valores dentro dessa faixa ( $T_i=214^\circ\text{C}$  e  $T_f= 348^\circ\text{C}$ ) para filmes de CBNF e lignina.

Figura 30 - Curvas termogravimétricas (TG) e curvas derivadas (DTG) para filmes dos nanocompósitos.



Fonte: Elaborada pela autora. F0 (Controle); F5 (0%Lignina/4%NCC); F7(7,50%Lignina/0%NCC) e F9 (7,50%Lignina/4%NCC).

As curvas de TGA/DTG dos nanocompósitos baseados em celulose e lignina mostraram diferentes etapas de decomposição. A estabilidade térmica dos filmes é uma característica muito importante a ser avaliada, pois o uso da lignina e dos NCC como reforço em nanocompósitos depende muito destas variáveis. No presente estudo, quando compósitos foram comparados, observou-se maior estabilidade térmica dos materiais que continham lignina (Figura 30). Em estudo realizado por Hu *et al.* (2016), os resultados mostraram que compósitos de lignina têm menor temperatura inicial de degradação térmica se comparados ao controle, porém a estrutura química aromática de compósitos de lignina produz compósitos com maior estabilidade térmica (MIRANDA *et al.*, 2015).

Os tratamentos F7 e F9 apresentaram menor temperatura inicial de degradação térmica se comparados com o controle. De maneira geral, a temperatura de decomposição máxima dos compósitos aumentou quando o conteúdo de lignina aumentou (F7). A partir desses resultados, foi possível concluir que a lignina melhorou a estabilidade térmica dos compósitos (SHANKAR; RHIM; WON, 2018). Isso ocorreu, possivelmente, devido às características estruturais de lignina, que possuem uma elevada densidade de anéis aromáticos, o que confere uma maior resistência a altas temperaturas (WANG; SHANKAR; RHIM, 2017).

Portanto, essa alta estabilidade térmica permitiu uma maior faixa de temperatura de aplicação em filmes de CBNF baseadas em lignina. Dörrstein *et al.* (2018) mostraram que a estabilidade térmica da lignina aumentou em compósitos de polietileno-co-vinil/EVA. Segundo

o mesmo autor, os resultados aumentaram a atratividade da lignina obtida a partir de várias matérias-primas para aplicação industrial.

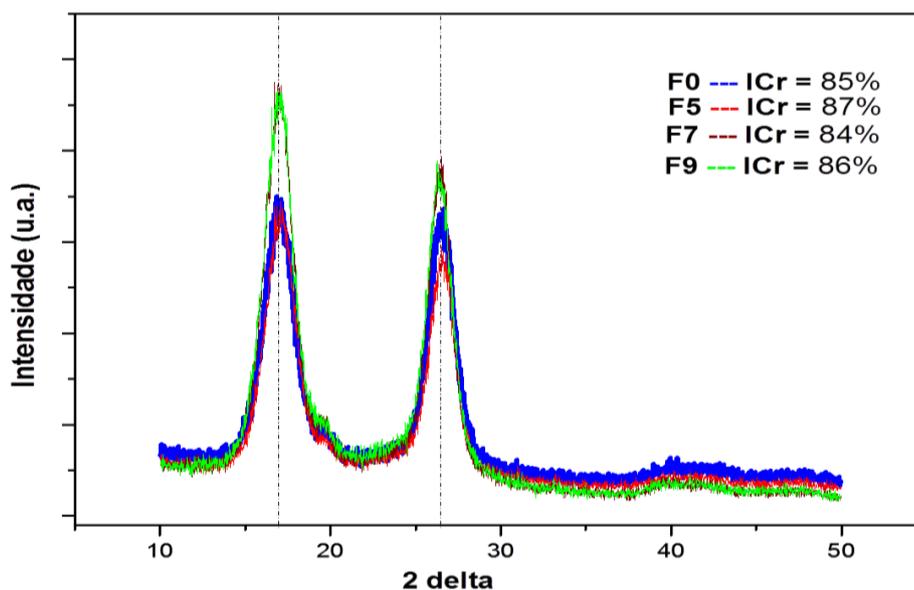
### 5.5.5 Difração de raios X

A Figura 31 apresenta os difratogramas de raios-X para o filme controle e os seus nanocompósitos. Esses padrões apresentados foram típicos de materiais semicristalinos com uma região amorfa e picos cristalinos. Os valores de  $2\theta$  dos picos de difração podem apresentar uma sutil variação, devido a fatores como a qualidade da instrumentação e montagens experimentais.

Devido ao uso de tubo de cobalto, os difratogramas de DRX mostraram que o pico de maior intensidade está localizado em cerca de  $25^\circ$ , o qual está relacionado à estrutura cristalina de celulose I em todos os filmes. Já a região amorfa foi caracterizada pela baixa intensidade difratada em um valor  $2\theta$  de cerca de  $17^\circ$  (SOUZA *et al.*, 2015).

Os filmes apresentaram difratogramas muito semelhantes ao controle, e consequentemente, os índices de cristalinidade (ICr) também foram próximos e tão elevado quanto o controle. Isso evidencia que os teores de lignina (material amorfo) utilizados nos tratamentos F7 e F9 não reduziram significativamente o ICr dos filmes, como mostrado na análise de FTIR.

Figura 31 - Difratogramas de raios X obtidos para os filmes de CBNF e lignina.



Fonte: Elaborada pela autora. F0 (Controle); F5 (0% Lignina/4% NCC); F7(7,50% Lignina/0% NCC) e F9 (7,50% Lignina/4% NCC).

Outros grupos de pesquisa também relataram dados similares ao apresentado nesta pesquisa. Jayaramudu *et al.* (2019) avaliaram padrões de DRX em poli (etileno óxido de ferro) com diferentes teores de lignina. Segundo os autores, os picos obtidos nos compósitos foram semelhantes ao controle, demonstrando que a lignina interagiu com PEO através da formação de ligações de hidrogênio intermolecular, o mesmo pode ter ocorrido em filmes de CBNF e lignina. Embora o MEV tenha mostrado filmes com estruturas heterogêneas devido à presença da lignina (F7) a adição de NCC melhorou a dispersão ocorrendo à interação da lignina com a matriz de CBNF como mostrado também no FTIR dos filmes.

### **5.5.6 Parâmetro de Hidrofobicidade - Respostas experimentais, coeficientes de regressão e curvas de contorno.**

Para avaliar o efeito dos NCC e da lignina sobre os filmes, parâmetros de hidrofobicidade como a permeabilidade ao vapor de água ( $P_{VA}$ ), percentual de matéria insolúvel (%MI) e ângulo de contato ( $AC^\circ$ ) foram utilizados. Nestas propriedades, os filmes foram produzidos sempre com a mesma quantidade, tipo de plastificante e condicionados sob a mesma umidade relativa. As respostas aos tratamentos, cujas condições foram definidas por planejamento fatorial  $2^2$ , encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8 - Respostas obtidas para os tratamentos definidos pelo delineamento experimental para os parâmetros de hidrofobicidade.

<b>Tratamentos</b>	<b><math>P_{VA}</math> *</b> <b>(g.mm.kPa<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>)</b>	<b>MI**</b> <b>(%)</b>	<b>AC***</b> <b>(°) /t=0s</b>
F0	2,73	86,12	47,80
F1	2,29	84,06	68,80
F2	1,98	87,31	72,00
F3	2,11	87,16	58,35
F4	1,90	88,59	70,70
F5	2,37	86,99	63,03
F6	1,93	92,40	74,88
F7	2,50	88,30	52,60
F8	1,89	90,29	62,55
F9	2,32	90,81	58,38
F10	2,45	90,10	55,13
F11	2,31	89,93	59,10

Fonte: Elaborada pela autora. \*Permeabilidade ao vapor de água; \*\*Percentual de matéria insolúvel; \*\*\* ângulo de contato.

Como pode ser visto na Tabela 8, a menor  $P_{VA}$  foi observada para F8, representando uma melhoria de 30,8% em relação ao filme controle. Os filmes que apresentaram somente NCC (F5) ou somente lignina (F7), obtiveram valores próximos ao controle com melhoria de 13,2 e 8,4% respectivamente.

Os valores de matéria insolúvel (% MI) variaram de 84,06 a 92,40%. Para o filme controle (MI = 86,12%) o valor foi menor que o encontrado em filmes de CBNF-HS (MI = 93%) (NASCIMENTO, 2018), no entanto esse valor foi próximo ao obtido no filme com maior percentual de lignina (MI = 92,40%).

Na Tabela 9, estão apresentados os coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos matemáticos gerados. Como pode ser visto somente o modelo para  $P_{VA}$  foi estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ).

Tabela 9 - Coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.

<b>Termos</b>	<b><math>P_{VA}</math>*</b>	<b>MI ** (%)</b>	<b>Ângulo de contato</b>
Constante	<b>2,360</b>	<b>90,280</b>	<b>57,536</b>
$X_1$ ***	<b>-0,142</b>	1,541	4,215
$X_2$ ***	<b>-0,140</b>	0,899	0,290
$X_1^2$	-0,130	-0,971	<b>6,571</b>
$X_2^2$	-0,108	-1,171	1,131
$X_1 * X_2$ *****	0,025	-0,455	2,287
<b>F<sub>reg</sub>*****</b>	<b>5,62</b>	2,20	3,10
<b>p</b>	0,041	0,204	0,120
<b>R<sup>2</sup> (%)*****</b>	84,91	68,74	75,62

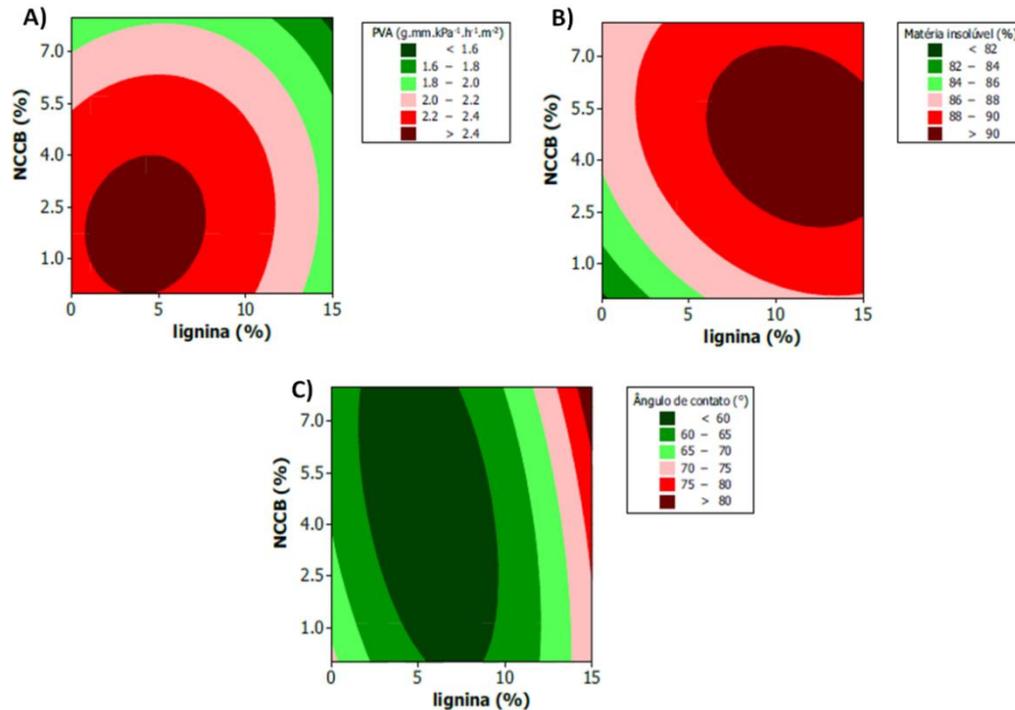
Fonte: Elaborada pela autora. \*Permeabilidade a vapor de água; \*\*Matéria insolúvel; Ângulo de contato (Graus); \*\*\*Lignina; \*\*\*\*Nanocristais de celulose; \*\*\*\*\* em valores codificados segundo o delineamento; \*\*\*\*\* valores de F das regressões, com os respectivos valores de p; \*\*\*\*\*coeficiente de determinação. Valores dos coeficientes e de F em negrito: significativos ( $p < 0,05$ ).

As curvas de contorno para as respostas permeabilidade ao vapor de água ( $P_{VA}$ ), percentual de matéria insolúvel (MI%) e ângulo de contato ( $AC^\circ$ ) encontram-se na Figura 32.

A  $P_{VA}$  é um dos parâmetros de maior interesse, uma vez que, através da avaliação deste parâmetro, pode-se delimitar a utilização dos filmes como embalagens quando se pensa na umidade dos alimentos armazenados e umidade relativa. Filmes com baixa  $P_{VA}$  podem ser indicados para embalagem de alimentos com alta umidade, para evitar a desidratação da

superfície, perda de peso, alterações físicas, químicas e organolépticas como em vegetais, carnes entre outros alimentos.

Figura 32 - Curvas de contorno para a resposta: A)  $P_{VA}$ , B) Matéria Insolúvel e C) ângulo de contato.



Fonte: Elaborada pela autora.

De acordo com a Figura 32-A, a  $P_{VA}$  diminuiu com o aumento do percentual de lignina provocando um decréscimo que variou de 2,73 a 1,89 (g.mm.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.kPa<sup>-1</sup>). Shankar, Rhim e Won, (2018) reportaram redução de 2,45 ( $\times 10^{-11}$  g m/m<sup>2</sup> Pa.s) após a incorporação de lignina e nanopartículas de prata em filmes de PLA. Segundo os autores a diminuição do  $P_{VA}$  foi provavelmente devido a uma forte interação intermolecular entre as cadeias do biopolímero e a lignina formando um caminho tortuoso para a difusão de moléculas de vapor de água através da matriz polimérica. Já de acordo com Nair *et al.* (2017), a lignina combinada com uma densa rede formada por nanofibrilas de celulose parcialmente cristalinas aumentaram o caminho de difusão dentro do composto contribuindo para melhores propriedades de barreira ao vapor de água.

A  $P_{VA}$  depende da relação de componentes hidrofílicos-hidrofóbicos dos filmes, uma vez que a transferência de vapor de água geralmente ocorre através da porção hidrofílica. Isso explica a alta  $P_{VA}$  dos filmes a base de pectina/ CBNF/ polpas de goiaba e manga (6,236 e

8,309 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa respectivamente) (VIANA *et al.*, 2018). Diferente do constatado por Dou *et al.*, (2019), que elaboraram filmes CNF com lignina da casca de salgueiro que se mostraram hidrofóbicos e resistentes ao vapor de água.

Nascimento (2018) elaborou filmes de CBNF/NCC e obteve valores variando de 2,2 a 3,5 (g.mm.kPa<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>), próximos ao encontrado neste trabalho quando utilizou-se somente NCC em sua formulação, no entanto a incorporação de lignina (7,5%) juntamente com NCC (4%) obtiveram a menor P<sub>VA</sub>. Os melhores resultados para P<sub>VA</sub> estão representados pela região de coloração verde escuro, que compreende os filmes com maiores percentuais de lignina (12,80 e 15%), no entanto, para essa resposta foi à combinação LIG/NCC que melhorou as propriedades de barreira.

Quanto à solubilidade dos filmes, todas as formulações estudadas, depois de ficarem imersos em água por 24 horas sob constante agitação, apresentaram-se inteiras e aparentemente íntegras quanto à forma, e ainda permaneceram com boa flexibilidade durante o manuseio. Todos os filmes apresentaram baixa solubilidade, com percentuais de matéria insolúvel maior que 85% e AC (°) > 50 exceto o controle (47,80°) (Tabela 8) devido à celulose ter um número de grupos hidroxilas que é a origem da natureza hidrofílica de materiais à base de celulose (KWAK *et al.*, 2018).

Nair *et al.* (2017) avaliaram compósitos de resinas epóxi/ CNF com lignina residual e mostraram, a partir do aumento do ângulo de contato em água, que a redução na quantidade de grupos hidroxilas pode aumentar substancialmente a hidrofobicidade do material. O mesmo foi observado por Hambarzumyan *et al.* (2015) em filmes de celulose onde a concentração de lignina aumentou o AC (°).

No entanto, para este trabalho o modelo não foi estatisticamente significativo ( $p > 0,05$ ) para essas repostas (MI% e AC°), porém filmes de CBNF e lignina confirmam a tendência para boas propriedades de barreira uma vez que a lignina apresenta comportamento hidrofóbico (AADIL; PRAJAPATI; JHA, 2016; FIGUEIREDO *et al.*, 2018; WEI *et al.*, 2018; SHANKAR; RHIM; WON, 2018). Logo, o uso de lignina como aditivo pode diminuir a P<sub>VA</sub> em filmes de CBNF, bem como a cor escura, torna-se interessante para evitar o efeito da oxidação sobre determinados alimentos.

### 5.5.7 Parâmetro de ópticas - Respostas experimentais, coeficientes de regressão e curvas de contorno

Dentre as propriedades óticas de filmes para aplicação em embalagem, destacam-se a cor e a transparência (opacidade). As respostas aos tratamentos cujas condições foram definidas por planejamento fatorial  $2^2$  para o parâmetro óptica encontram-se na Tabela 10.

A Tabela 10 mostra os valores para os parâmetros óticos dos filmes com diferentes concentrações de NCC e lignina. As maiores absorvâncias devem-se aos filmes com maiores concentração de lignina (12,80 e 15%). Este aumento pode ser atribuído às regiões cristalinas presentes na matriz CBNF/NCC e também ao tamanho das partículas (lignina) da fase dispersa.

Tabela 10 - Respostas obtidas para os tratamentos definidos pelo delineamento experimental.

<b>Tratamentos</b>	<b>Absorvância-UV (A.nm.mm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Opacidade (A.nm.mm<sup>-1</sup>)</b>
F0	2744,24	546,30
F1	7101,91	1502,16
F2	11335,74	2883,92
F3	7824,38	1615,48
F4	10673,96	3175,71
F5	3145,49	741,53
F6	10150,05	2395,23
F7	11146,35	1737,11
F8	7574,62	2383,64
F9	8749,22	2184,37
F10	8244,96	2080,01
F11	9647,15	2156,13

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 11, estão apresentados os coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.

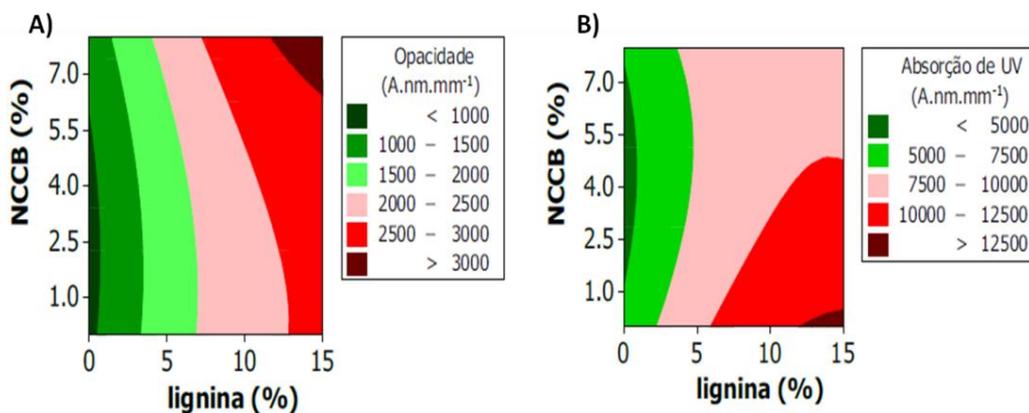
Tabela 11 - Coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.

Termos	Absorbâncias-UV (A.nm.mm <sup>-1</sup> )	Opacidade (A.nm.mm <sup>-1</sup> )
Constante	<b>8880,4</b>	<b>2140,17</b>
X <sub>1</sub> *	<b>2123,7</b>	<b>660,08</b>
X <sub>2</sub> **	-623,8	164,93
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-808,9	-165,91
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	547,5	80,09
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> ***	-346,1	44,62
<b>F<sub>reg</sub>***</b>	<b>5,69</b>	<b>7,29</b>
<b>p</b>	0,040	0,024
<b>R<sup>2</sup> (%)</b>	85,05	87,94

\*Lignina; \*\*Nanocristais de celulose; \*\*\* em valores codificados segundo o delineamento; \*\*\*\*valores de F das regressões, com os respectivos valores de p; \*\*\*\*\*coeficiente de determinação. Valores dos coeficientes e de F em negrito: significativos (p<0,05).

Como pode ser visto nessa tabela, os modelos foram significativos (p < 0,05). A região, que compreende os maiores valores para propriedades óticas, está representada pela coloração marrom (Figura 33).

Figura 33 - Curvas de contorno para a resposta propriedades óticas.



Fonte: Elaborada pela autora. A) opacidade e B) AbsUV.

A curva de contorno mostra que o valor da opacidade aumentou à medida que os tratamentos se aproximaram das maiores concentrações de lignina, atingindo nesta região valores superiores a 3000 A.nm. Quanto mais opaco, menor é a quantidade de luz que atravessa o filme, sendo assim uma importante barreira no controle da incidência da luz em alimentos (PINHEIRO *et al.*, 2010; SHANKAR; RHIM; WON, 2018). Os tratamentos F0 e F5 apresentaram-se mais translúcidos e quanto mais próximos ao ponto zero, menores são os valores para opacidade (< 1000 A.nm).

As características dos filmes também podem ser influenciadas pela morfologia e massa molar dos componentes utilizados nas formulações. Logo, regiões cristalinas (CBNF /NCC) refletem ou desviam o feixe de luz incidente, comprometendo a transmissão da luz, o que propicia maior opacidade em relação a outros filmes com cristalinidade reduzida. No entanto, os tratamentos que continham lignina foram os que apresentaram maiores valores de opacidade indicando que a lignina foi o componente que determinou a opacidade dos filmes de CBNF. Segundo Nair *et al.* (2017) a lignina absorve mais luz do que a celulose e seu aumento diminuem a transmissão de luz. Devido essas propriedades, a lignina tem sido usada como um material absorvedor de UV de base biológica muito atraente (WU *et al.*, 2019).

A maior propriedade de barreira UV foi atribuída principalmente à absorção de luz UV por grupos aromáticos e grupos carbonil conjugados na lignina (GONÇALVES *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2017). Embora os materiais de embalagem de alimentos sejam em sua maioria transparentes e incolores, filmes opacos também pode ser uma vantagem para evitar a exposição de raios ultravioletas e visíveis que podem afetar a deterioração dos alimentos (ADILAH *et al.*, 2018).

Conforme Nemazifard *et al.* (2017), as propriedades de barreira à luz em filmes poliméricos podem ser interessante em certas aplicações como a prevenção da peroxidação lipídica induzida por UV, já que essa radiação possui energia suficiente para quebrar as ligações químicas na cadeia principal do polímero, levando a mecanismos de iniciação responsáveis pela degradação. Logo, estes resultados sugerem que, devido à sua alta propriedade de absorção de luz UV, filmes de celulose-lignina poderiam ser potencialmente aplicados como material de embalagem (AADIL; PRAJAPATI; JHA, 2016; CROUVISIER-URION *et al.*, 2017; SHANKAR; RHIM; WON, 2018).

### 5.5.8 Parâmetros mecânicos - Respostas experimentais, coeficientes de regressão e curvas de contorno

As respostas aos tratamentos cujas condições foram definidas por planejamento composto central para os parâmetros de resistência à tração, alongação na ruptura e módulo elástico encontram-se na Tabela 12.

Os ensaios de tração permitiram analisar as propriedades mecânicas dos filmes estudados. Essas propriedades são altamente influenciadas pela boa dispersão do material na matriz polimérica, pela natureza da matriz, pela distribuição e orientação das fibras (EL ACHABY *et al.*, 2018a). A resistência à tração é uma das mais importantes propriedades avaliadas em bioplásticos, e expressa a força máxima suportada pelo filme durante um teste de resistência.

Tabela 12 – Respostas obtidas para os tratamentos definidos pelo delineamento experimental.

<b>Tratamentos</b>	<b><math>\sigma</math> *</b> <b>(MPa)</b>	<b><math>\epsilon</math> **</b> <b>(%)</b>	<b>E***</b> <b>(MPa)</b>
F0	50,97	3,81	1237,87
F1	51,70	3,77	1317,18
F2	57,18	3,64	1929,65
F3	58,33	3,84	1546,52
F4	65,22	3,95	2367,08
F5	55,73	3,82	1858,42
F6	68,95	3,06	2334,05
F7	48,49	5,21	1210,36
F8	71,95	4,43	2284,86
F9	61,97	3,82	1757,44
F10	65,23	4,02	1736,49
F11	64,56	3,87	1822,76

Fonte: Elaborada pela autora. \*resistência à tração (MPa); \*\*alongação na ruptura (%); \*\*\*módulo elástico (MPa).

Na Tabela 13, estão apresentados os coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos. Como pode ser visto nessa tabela, somente a resistência à tração e módulo elástico foram significativos ( $p < 0,05$ ).

De acordo com a curva de contorno para o parâmetro resistência tração (Figura 34-A), os maiores valores para esta resposta estão compreendidos na região de coloração vermelho vinho, limitada pelo percentual de 7,5 e 15% de lignina / 4 e 8% de NCC. Para essa resposta a combinação (7,5% LIG e 8%NCC) obteve os melhores valores, todavia, observa-se que de fato foi o aumento na concentração de lignina que influenciou nos resultados e o mesmo também foi observado para o P<sub>V</sub>A.

Nascimento (2018) avaliou o efeito dos NCC (0 e 7,5 %) nas propriedades físico-químicas de filmes a base de CBNF mostrando um aumento na resistência à tração de 53 para 64 MPa, respectivamente. A boa distribuição dos NCC pela matriz, aliada às fortes interações entre os materiais, resultaram em significativas melhorias nas propriedades mecânicas dos filmes. Em outro estudo, a mistura de poli (óxido de etileno) e lignina em filmes a base de CNF melhoraram a miscibilidade e as propriedades mecânicas dos compósitos. De acordo com Jayaramudu *et al.* (2019) esta melhoria está associada com as fortes ligações de hidrogênio entre CNF e os grupos funcionais da lignina.

Tabela 13 - Coeficientes de regressão e índices estatísticos dos modelos.

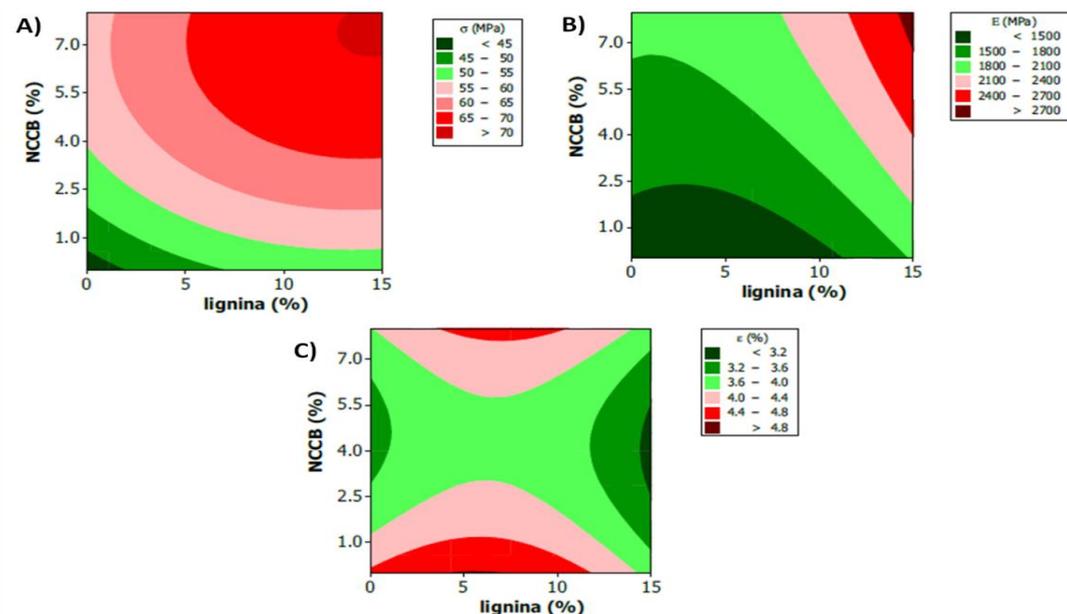
<b>Termos</b>	<b><math>\sigma^*</math> (MPa)</b>	<b><math>\epsilon^{**}</math> (%)</b>	<b>E<sup>***</sup> (MPa)</b>
Constante	<b>63,920</b>	<b>3,903</b>	<b>1772,23</b>
X <sub>1</sub> <sup>****</sup>	3,883	-0,136	<b>263,21</b>
X <sub>2</sub> <sup>*****</sup>	<b>5,980</b>	-0,090	<b>273,29</b>
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-1,583	-0,314	129,05
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-2,643	0,375	-45,26
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub> <sup>*****</sup>	0,352	0,060	52,02
<b>F<sub>reg</sub></b>	<b>6,10</b>	3,28	<b>6,43</b>
<b>p</b>	0,034	0,109	0,031
<b>R<sup>2</sup> (%)</b>	85,92	76,63	86,55

Fonte: Elaborada pela autora. \*resistência à tração; \*\*elongação na ruptura; \*\*\*módulo elástico; \*\*\*\*Lignina; \*\*\*\*\*Nanocristais de celulose. \*\*\*\*\* em valores codificados, segundo o delimitamento; \*\*\*\*\*valores de F das regressões, com os respectivos valores de p; \*\*\*\*\*coeficiente de determinação. Valores dos coeficientes e de F em negrito: significativos (p<0,05).

Comparando-se a resposta módulo elástico, observa-se maiores valores para os filmes com maiores percentuais de lignina (Figura 34-B), porém, é a combinação (NCC/LIG) que resulta em melhores módulos. O aumento nos valores do módulo elástico em relação ao filme controle mostra que a interação aditivos-polímero foi positiva para este parâmetro. Hambardzumyan *et al.* (2015) estudaram as propriedades mecânicas de filmes de celulose com lignina extraídas de talos de milho e madeira de abeto. Os autores relataram valores de  $45,6 \pm 3,7$  MPa para resistência à tração e  $2989 \pm 515$  MPa para módulo elástico. Os estudos realizados nesta tese obtiveram valores superiores para a resistência à tração. No entanto, para o módulo elástico, os valores foram próximos, com uma diminuição de 70% em relação ao filme controle. É válido ressaltar que foi o efeito conjunto (NCC/LIG) que aumentou significativamente a resistência à tração (141%) e o módulo elástico (191%) em relação ao filme controle.

Para Shankar, Rhim e Won (2018), as propriedades mecânicas foram muito influenciadas pela adição de lignina e nano partículas de prata e o aumento da resistência pode ser devido a uma alta compatibilidade entre o biopolímeros PLA/lignina. O mesmo pode ter ocorrido para CBNF/lignina. De maneira geral, a introdução de lignina à matriz de CBNF pode ser um interessante aditivo em alguns bioplásticos, levando em conta a resistência e a rigidez dos filmes.

Figura 34 - Curvas de contorno para A) resistência à tração, B) módulo elástico e C) alongação na ruptura.



Fonte: Elaborada pela autora.

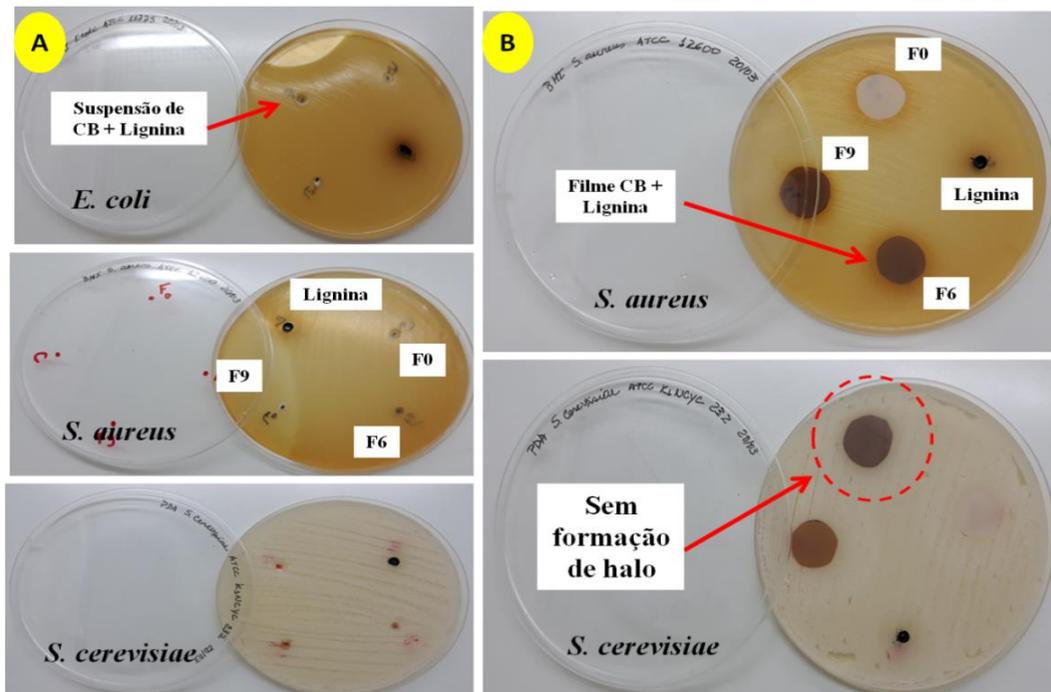
Logo, conclui-se que foi possível aproveitar resíduos da cajucultura para produção de filmes de CB com uma resistência a tração máxima de 71,95MPa e com boa coloração, próxima a biopolímeros usuais, utilizando 0,56g de lignina extraída da madeira do cajueiro.

### 5.5.9 Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante nos filmes

A análise microbiológica teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana da inserção da lignina como um agente antibacteriano natural. Considera-se que os filmes em estudo apresentam atividade antimicrobiana caso haja a formação de uma zona isenta de crescimento microbiano à sua volta, traduzindo-se na formação de um halo de inibição do crescimento.

Nos ensaios realizados, nenhum efeito antimicrobiano detectável da lignina em meio a matriz de celulose foi observado. Apesar da atividade antimicrobiana da lignina ser amplamente descrita na literatura (GUTIERREZ; ALVAREZ, 2017; RAI; DUTTA; MEHROTRA, 2017), os mecanismos exatos pelos quais ocorre ainda não estão plenamente elucidados. Na Figura 35 são apresentados os resultados dos ensaios antimicrobianos obtidos para cada microrganismo.

Figura 35 - Efeito antimicrobiano dos filmes.



Fonte: Elaborada pela autora. F0 (controle), F6 e F9 (incorporados com 15 e 7,5% de lignina respectivamente) sobre o crescimento de microrganismos *E. coli*.; *S. aureus*; *S. cerevisiae*. (A) em poços perfurados no Agar e (B) em discos.

Em relação aos filmes estudados, verificou-se que a incorporação de lignina (extraída da madeira do cajueiro) em filmes de CB não foi o suficiente para prevenir o crescimento dos microrganismos testados, uma vez que não se verifica a formação de halos de inibição (Figura 34B).

No entanto, há estudos sobre a atividade antimicrobiana de lignina incorporada em outros polímeros em que relatam atividades microbianas restritas. Yang *et al.* (2016) relataram os efeitos da atividade antimicrobiana e antioxidantes, em filmes à base de poli (ácido láctico) incorporados com nanocristais de celulose (NCC) e nanopartículas de lignina. Os resultados revelaram uma capacidade de inibir o crescimento bacteriano somente para Gram-negativo. Já Dong *et al.*, (2011) avaliaram o efeito antimicrobiano de duas ligninas e observaram que a lignina comercial (pH 10,5, 3% em peso, Sigma) apresentou efeito antimicrobiano enquanto o extrato de lignina (pH 7) obtido de palha de milho não exibiu atividade antimicrobiana. Os valores do pH podem justificar os resultados obtidos nesta pesquisa, uma vez que a lignina extraída da madeira do cajueiro também é neutra. No estudo desenvolvido por Rai *et al.* (2017) os autores relataram que filme de quitosana incorporado com lignina teve uma ação inibidora contra *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Aadil; Prajapati e Jha (2016) desenvolveram filmes a base de alginato com lignina extraída da madeira da acácia pelo método alcalino. Os resultados mostraram efetiva ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* enquanto nenhuma atividade antimicrobiana foi observada contra *E. coli* após 24 horas de incubação.

Estudos mostram que o fator determinante para o efeito antimicrobiano da lignina está nos componentes fenólicos, especificamente na estrutura das cadeias laterais e na natureza dos grupos funcionais (MAHMOOD *et al.*, 2018). A presença de uma ligação dupla nas posições  $\alpha$  e  $\beta$  da cadeia lateral e de um grupo metila na cadeia  $\gamma$  conferem os fragmentos fenólicos uma a maior potência contra microrganismos (YANG *et al.*, 2016).

Logo, a ausência de efeito antimicrobiano pode ter ocorrido na etapa de extração da lignina onde sua estrutura foi alterada ocorrendo perda de grupos hidroxilas responsáveis por este parâmetro. A despolimerização foi confirmada nos resultados das análises de GPC, FTIR e RMN resultando em uma diminuição no peso molecular e aumento da solubilidade da lignina na matriz polimérica de CBNF. Deste modo, diversos fatores podem afetar os resultados como método de extração e pH da lignina, volume do inóculo, fase de crescimento do microrganismo, meio de cultura, tempo de incubação, temperatura, entre outros (DONG *et al.*, 2011).

Estudos futuros para a forma de extração dos componentes da lignina, e diferentes concentrações dos solventes podem ser aprofundados, de modo que a fixação dos compostos

(fenólicos e estruturais) de resíduos lignocelulósicos sejam mais aproveitados. Neste trabalho, a lignina presente nos resíduos designados como fibra da madeira do cajueiro apresentou características interessantes para diferentes usos industriais, no entanto não inibiu o crescimento de microrganismos, mas apresentou atividade antioxidante.

A atividade antioxidante dos filmes foi avaliada com as análises de DPPH, ABTS, FRAP e fenólicos totais e os resultados são apresentados na Tabela 14. Neste estudo, foram testadas quatro formulações de filmes a base de CBNF variando as concentrações de lignina. O mesmo ensaio resultou em diferentes valores para a atividade antioxidante, dependendo do método utilizado, o que pode ser atribuído aos mecanismos de ação dos antioxidantes de cada método (AMINZADEH *et al.*, 2018; CRIZEL *et al.*, 2018). A incorporação da lignina nos filmes a base de CBNF, proporcionou um aumento da capacidade antioxidante pelo método ABTS e FRAP. Wu *et al.* (2019) elaboraram filmes baseados em nanocelulose oxidada a TEMPO, extrato de semente de uva e nanopartículas de prata e mostraram forte atividade antioxidante pelo método FRAP (82,67  $\mu\text{g}$  Trolox /mg). Dentre os extratos analisados, o filme F6 (15% de lignina), foi o que apresentou a maior capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e FRAP, com uma concentração igual a (98,81  $\mu\text{M}$  Trolox/g) e (143,88  $\mu\text{M}$  sulfato ferroso/g de filme) respectivamente.

Tabela 14 - Capacidade antioxidante dos filmes a base de CBNF com adição de 7,5% e 15% de lignina.

Extratos	Fenólicos Totais*	<sup>2</sup> DPPH	<sup>3</sup> ABTS	<sup>4</sup> FRAP
<b>Lignina</b>	838,3 $\pm$ 1,0	-	-	-
<b>F0</b>	nd	nd	nd	nd
<b>F6</b>	607,3 $\pm$ 0,4	80,24 $\pm$ 0,3	98,81 $\pm$ 0,1	143,88 $\pm$ 0,4
<b>F7</b>	339,7 $\pm$ 0,7	80,90 $\pm$ 0,6	43,92 $\pm$ 0,0	94,42 $\pm$ 0,3
<b>F9</b>	433,56 $\pm$ 0,2	81,86 $\pm$ 1,9	69,01 $\pm$ 0,1	117,51 $\pm$ 0,4

Médias de três repetições  $\pm$  erro padrão. \*Compostos fenólicos totais expressos em mg equivalente de ácido gálico por 100g (mg EAG/100g); \*\*Atividade antioxidante expressa percentual de inibição; \*\*\*Atividade antioxidante expressa em  $\mu\text{M}$  equivalente trolox/g. \*\*\*\*Atividade antioxidante expressa em  $\mu\text{M}$  sulfato ferroso/g.nd não detectado.Extratos em mg/l.

O teor de fenólicos totais dos extratos de lignina e dos filmes variaram de 339,70 a 838,30 mg EAG /100g, respectivamente. O teor de compostos fenólicos totais está geralmente correlacionado com a capacidade antioxidante, sendo diretamente proporcionais (VADIVEL *et al.*, 2017). No estudo desenvolvido por Dong *et al.* (2011), os autores relataram que a lignina extraída de resíduos da palha de milho mostraram alto teor de compostos fenólicos

(175,76±37,91 a 200,40±42,99 mg EAG/g), comparado a 165,5±13,4 mg EAG / g para lignina comercial. A lignina extraída da madeira do cajueiro apresentou uma concentração de fenólicos de 838,30 mg EAG /100g (Tabela 14) valor superior ao encontrado por An *et al.* (2019) cujo o teor de fenólicos totais para o extrato de lignina despolimerizada com etanol foi de 145,9 ± 4,5 a 167,0 ± 3,6 mg EAG /g.

Faustino *et al.* (2010) avaliaram o teor de fenólicos totais da lignina *Eucalyptus* por dois métodos obtendo valores de até 181,6 para lignina (Kraft /pH básico) e 1.099,6 para lignina (sulfito/ pH ácido) mg EAG/g, respectivamente. Já Jiang *et al.*, (2018) mostrou que o cozimento alcalino da lignina de palha de arroz aumentou a atividade antioxidante devido a mudanças estruturais e bioatividade da molécula. De acordo com Ponomarenko *et al.*, (2015) o peso molecular da lignina não é o fator determinante na atividade antioxidante e sim a estrutura.

A presença de grupos hidroxilos fenólicos livres na estrutura atuam como sequestradores de radicais conferindo atividade antioxidante à lignina (CROUVISIER-URION *et al.*, 2017). A extração da lignina consiste na quebra de ligações covalentes para dissolver o polímero mudando assim sua estrutura (MAHMOOD *et al.*, 2018). Para este trabalho utilizou-se o pré-tratamento organosolv como método de extração com obtenção da lignina neutra ao final do processo e com boa resposta a atividade antioxidante. A origem da biomassa também influencia sobre ação antioxidante da lignina (DONG *et al.*, 2011).

Nemazifard *et al.* (2017) mostraram que a celulose apresenta um baixo teor de capacidade antioxidantes e atividade antimicrobiana, o que limita sua aplicação como filmes bioativos. Bideau *et al.* (2017) avaliaram as propriedades antioxidantes de CNF oxidada a TEMPO em filmes de PVA/PPy (polipirrol) pelo método DPPH e após uma hora de reação a inibição máxima foi próxima de 10% para CNF. Para este trabalho o filme controle (F0) não apresentou atividade antioxidante, somente as formulações contendo 7,5 e 15% de lignina. He *et al.* (2019) estudaram filmes a base de PVA com adição de lignina modificada que apresentaram percentual de inibição de 83,8% e 89,2%, respectivamente. No estudo desenvolvido por Yang *et al.* (2016) os autores relataram que filmes de PLA/NCC e nanolignina podem ser usados como um filme antioxidante competitivo na indústria de alimentos. Segundo os autores, aumentando o tempo de incubação e as concentrações de nanolignina a atividade sequestradora de DPPH aumentou, até 81,5% após 1 h de incubação para 25 mg/l, valores próximos aos obtidos neste trabalho usando a mesma metodologia (50 mg/l). Meliana *et al.* (2016) observou que o percentual de inibição por DPPH foi de 71,8% (200 ppm) para a lignina com pH 2 e a purificada em meio alcalino (pH 12) não obteve valor de atividade antioxidante.

Os resultados demonstraram que a lignina extraída da madeira do cajueiro pode atribuir atividade antioxidante em materiais de embalagem biodegradáveis e que o seu uso simultâneo como aditivos teria um efeito positivo em proteger o produto embalado contra a oxidação. Observou-se também que o aumento da atividade antioxidante está diretamente relacionado com a quantidade de aditivos adicionado na formulação dos filmes. Logo, pode-se concluir que filmes a base de CB com a adição de lignina podem ser uma alternativa para utilização de embalagens bioativas, no entanto, devem ser testadas concentrações maiores ou outras fontes de ligninas.

## 6 CONCLUSÃO

Foram produzidos filmes de celulose bacteriana nanofibrilada (CBNF) com a adição de lignina e nanocristais de celulose (NCC) extraídos de resíduos da cajucultura (poda do cajueiro). De acordo com os resultados, os pré-tratamentos realizados na fibra da madeira do cajueiro foram eficientes para extração dos NCC, removendo quantidade significativa de componentes amorfos, promovendo uma maior exposição da celulose e um consequente aumento do índice de cristalinidade.

O fracionamento da lignina mostrou-se um bom processo para a obtenção de lignina com melhor solubilidade na matriz de CBNF. Os filmes se mostraram flexíveis e apresentaram boa aparência e homogeneidade. Propriedades de permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, ângulo de contato, opacidade e barreira à luz UV obtiveram melhores valores em filmes formulados com lignina.

Verificou-se também que nas formulações dos filmes de lignina juntamente com NCC ocorreu uma melhora significativa das propriedades de resistência à tração e no módulo de elasticidade. Nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura observou-se que à medida que aumentava a concentração de lignina ao filme, a superfície apresentava-se mais heterogênea.

Devido à adição de lignina, os filmes apresentaram atividade antioxidante, porém não exibiram ação antimicrobiana. Os resultados apresentados neste estudo evidenciam que nanocompósitos a base de CBNF incorporados com lignina da madeira do cajueiro é uma alternativa interessante para a produção e aplicação de embalagens ativas antioxidantes e que devido à sua alta absorção de luz UV podem proteger alimentos suscetíveis a oxidação.

## REFERÊNCIAS

- AADIL, K. R.; PRAJAPATI, D.; JHA, H. Improvement of physico-chemical and functional properties of alginate film by Acacia lignin. **Food Packaging and Shelf Life**, [S.l.], v. 10, p. 25-33, 2016.
- ABDELWAHAB, M. A.; MISRA, M.; MOHANTY, A.K. Injection molded biocomposites from polypropylene and lignin: Effect of compatibilizers on interfacial adhesion and performance. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 132, p. 497-510, 2019.
- ADILAH, A. N. *et al.* Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food packaging and shelf life**, [S.l.], v. 16, p. 1-7, 2018.
- AHMED, I. *et al.* A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. **Food Control**, [S.l.], v. 82, p. 163-178, 2017.
- AHUJA, D.; KAUSHIK, A.; SINGH, M. Simultaneous extraction of lignin and cellulose nanofibrils from waste jute bags using one pot pre-treatment. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 107, p. 1294-1301, 2018.
- AN, L. *et al.* Enhancing the solubility and antioxidant activity of high-molecular-weight lignin by moderate depolymerization via in situ ethanol/acid catalysis. **Industrial crops and products**, [S.l.], v. 128, p. 177-185, 2019.
- ANDRADE, R. A. M. S. *et al.* Optimization of the extraction process of polyphenols from cashew apple agro-industrial residues. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 35, n. 2, p. 354-360, 2015.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-09. *In*: ASTM. **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2009.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D-5725-99. *In*: ASTM. **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2008.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-01. *In*: ASTM. **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2001.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. E96-00. *In*: ASTM. **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 2000.
- AVELINO, F. *et al.* Poly (methyl methacrylate) films reinforced with coconut shell lignin fractions to enhance their UV-blocking, antioxidant and thermo-mechanical properties. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 125, p. 171-180, 2019.
- AZEREDO, H. M. C. *et al.* Bacterial cellulose as a raw material for food and food packaging applications. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, [S.l.], v. 3, p. 1-14, 2019.

AZEREDO, H. M. C.; ROSA, M. F.; MATTOSO, L. H. C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 97, p. 664-671, 2017.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, [S.l.], v. 52, p. 858-875, 2011.

BARUD, H. S.; REGIANI, T.; MARQUES, R. F.; LUSTRI, W. R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. Antimicrobial bacterial cellulose-silver nanoparticles composite membranes. **Journal of Nanomaterials**, Nova York, v. 2011, p. 1-8, 2011.

BENINI, K. C. C. C. **Compósitos de nanocelulose / PHBV: manta microfibrilica por eletrofição**. 2015. 166 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, Guaratinguetá 2015.

BIDEAU, B. *et al.* Polypyrrole/nanocellulose composite for food preservation: Barrier and antioxidant characterization. **Food packaging and shelf life**, [S.l.], v. 12, p. 1-8, 2017.

BIOPLASTICS. **Bioplastics Market Worldwide 2016-2025**. 2018. Disponível em: <http://www.hkc22.com/bioplastics.html>. Acesso em: 20 abril 2018.

BORGES, M. de F. *et al.* **Filmes de acetato de celulose incorporados de óleos essenciais com atividade contra microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos**. Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/145739/1/BPD16008.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2018.

BOUKIR, A.; FELLAK, S.; DOUMENQ, P. Structural characterization of *Argania spinosa* Moroccan wooden artifacts during natural degradation progress using infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and X-Ray diffraction (XRD). **Heliyon**, v. 5, n. 9, e02477, 2009.

CACICEDO, M. L. *et al.* Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 213, p. 172-180, 2016.

CAMPOS, A. *et al.* Production of cellulose nanowhiskers from oil palm mesocarp fibers by acid hydrolysis and microfluidization. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, [S.l.], v. 17, n. 7, p. 4970-4976, 2017a.

CAMPOS, A. *et al.* Bionanocomposites produced from cassava starch and oil palm mesocarp cellulose nanowhiskers. **Carbohydrate polymers**, v. 175, p. 330-336, 2017b.

CARNEIRO, M. J. M. **Produção e caracterização de celulose bacteriana obtida a partir do suco de caju**. 2015. 51 f. Monografia (Bacharelado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

COLLAZO-BIGLIARDI, S.; ORTEGA-TORO, R.; BOIX, A. C. Isolation and characterisation of microcrystalline cellulose and cellulose nanocrystals from coffee husk and comparative study with rice husk. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 191, p. 205-215, 2018.

- CONSTANT, S. *et al.* New insights into the structure and composition of technical lignins: a comparative characterization study. **Green Chemistry**, [S.l.], v. 18, n. 9, p. 2651-2665, 2016.
- COSTA, S. S. *et al.* Estudo Prospectivo sobre a Obtenção e Incorporação de Nanocristais de Celulose em Filmes Biodegradáveis. **Revista Virtual de Química**, [S.l.], v. 8, n. 4, p. 1104-1114, 2016.
- CRIZEL, T. M. *et al.* Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. **Food hydrocolloids**, [S.l.], v. 74, p. 139-150, 2018.
- CROUVISIER-URION, K. *et al.* Impact of the homogenization process on the structure and antioxidant properties of chitosan-lignin composite films. **Food chemistry**, [S.l.], v. 236, p. 120-126, 2017.
- DAS, I.; ARORA, A. Post-harvest processing technology for cashew apple—A review. **Journal of Food Engineering**, [S.l.], v. 194, p. 87-98, 2017.
- DEDEHOU, E. *et al.* A review of cashew (*Anacardium occidentale* L.) apple: Effects of processing techniques, properties and quality of juice. **African Journal of Biotechnology**, [S.l.], v. 15, n. 47, p. 2637-2648, 2016.
- DESMAISONS, J. *et al.* A new quality index for benchmarking of different cellulose nanofibrils. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 174, p. 318-329, 2017.
- DICASTILLO, C. L. *et al.* Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 136, p. 1052-1060, 2016.
- DING, Q. *et al.* Effect of retention rate of fluorescent cellulose nanofibrils on paper properties and structure. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 186, p. 73-81, 2018.
- DIONÍSIO, A. P. *et al.* Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) functional beverage improve the diabetic state in rats. **Food Research International**, [S.l.], v. 77, p. 171-176, 2015.
- DITZEL, F. I. *et al.* Nanocrystalline cellulose extracted from pine wood and corncob. **Carbohydrate polymers**, v. 157, p. 1577-1585, 2017.
- DOMÍNGUEZ-ROBLES, J. *et al.* Isolation and characterization of lignins from wheat straw: Application as binder in lithium batteries. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 104, p. 909-918, 2017.
- DONG, X. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of lignin from residue of corn stover to ethanol production. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 34, n. 3, p. 1629-1634, 2011.
- DÖRRSTEIN, J. *et al.* Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites. **Composite Structures**, [S.l.], v. 189, p. 349-356, 2018.
- DOU, J. *et al.* Lignin containing cellulose nanofibril production from willow bark at 80 C

using a highly recyclable acid hydrotrope. **Industrial crops and products**, [S.l.], v. 129, p. 15-23, 2019.

DUARTE, E. B. *et al.* **Celulose bacteriana**: propriedades, meios fermentativos e aplicações. Embrapa Agroindústria Tropical- Documentos 186. 2019. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/197530/1/DOC19001.pdf>. Acesso: 20 fev. 2019.

DUFRESNE, A. Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, [S.l.], v. 29, p. 1-8, 2017.

DUFRESNE, A. Nanocellulose: A new ageless bionanomaterial. **Materials Today**, [S.l.], v. 16, n. 6, p. 220–227, 2013.

EL ACHABY, M. *et al.* Alfa fibers as viable sustainable source for cellulose nanocrystals extraction: Application for improving the tensile properties of biopolymer nanocomposite films. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 112, p. 499-510, 2018a.

EL ACHABY, M. *et al.* Production of cellulose nanocrystals from vine shoots and their use for the development of nanocomposite materials. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 117, p. 592-600, 2018b.

ESPINOZA-ACOSTA, J. L. *et al.* Lignin in storage and renewable energy applications: A review. **Journal of Energy Chemistry**, [S.l.], v. 27, n. 5, p. 1422-1438, 2018.

FAUSTINO, H. *et al.* Antioxidant activity of lignin phenolic compounds extracted from kraft and sulphite black liquors. **Molecules**, [S.l.], v. 15, n. 12, p. 9308-9322, 2010.

FELFEL, R. M. *et al.* Flexible and transparent films produced from cellulose nanowhisker reinforced agarose. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 194, p. 328-338, 2018.

FENG, Y.-H. *et al.* Characteristics and environmentally friendly extraction of cellulose nanofibrils from sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 111, p. 285-291, 2018.

FIGUEIREDO, M. C. B. *et al.* Environmental assessment of tropical perennial crops: the case of the Brazilian cashew. **Journal of cleaner production**, [S.l.], v. 112, p. 131-140, 2016.

FIGUEIREDO, P. *et al.* Properties and chemical modifications of lignin: Towards lignin-based nanomaterials for biomedical applications. **Progress in Materials Science**, [S.l.], v. 93, p. 233-269, 2018.

FLAUZINO NETO, W. P. *et al.* Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue–Soy hulls. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 42, p. 480-488, 2013.

FONTELES, T. V. *et al.* Ultrasound processing to enhance drying of cashew apple bagasse puree: Influence on antioxidant properties and in vitro bioaccessibility of bioactive compounds. **Ultrasonics sonochemistry**, [S.l.], v. 31, p. 237-249, 2016.

FUKUZUMI, H. *et al.* Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, [S.l.], v. 95, n. 9, p. 1502-1508, 2010.

GARCÍA, A. *et al.* Industrial and crop wastes: A new source for nanocellulose biorefinery. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 93, p. 26-38, 2016.

GEA, S.; REYNOLDS, C. T.; ROOHPUR, N. *et al.* Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purification process. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 102, p. 9105-9110, 2011.

GONÇALVES, A. P. *et al.* Separation of cellulose nanowhiskers from microcrystalline cellulose with an aqueous protic ionic liquid based on ammonium and hydrogensulphate. **Separation and Purification Technology**, [S.l.], v. 196, p. 200-207, 2018.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, [S.l.], v. 57, n.1, p.190-195, 1992.

GONZALO, G. *et al.* Bacterial enzymes involved in lignin degradation. **Journal of biotechnology**, [S.l.], v. 236, p. 110-119, 2016.

GRZESIK, M. *et al.* Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. **Food chemistry**, [S.l.], v. 241, p. 480-492, 2018.

GUTIÉRREZ, T. J.; ALVAREZ, V. A. Cellulosic materials as natural fillers in starch-containing matrix-based films: a review. **Polymer Bulletin**, [S.l.], v. 74, n. 6, p. 2401-2430, 2017.

HAMBARDZUMYAN, A. *et al.* Organosolv lignin as natural grafting additive to improve the water resistance of films using cellulose nanocrystals. **Chemical Engineering Journal**, [S.l.], v. 264, p. 780-788, 2015.

HONORATO, T. L.; RODRIGUES, S. Dextranucrase stability in cashew apple juice. **Food and Bioprocess Technology**, [S.l.], v. 3, p. 105-110, 2010.

HUANG, Y. *et al.* Recent Developments in Food Packaging Based on Nanomaterials. **Nanomaterials**, [S.l.], v. 8, n. 10, p. 830, 2018.

JARRELL, T. M. *et al.* Characterization of organosolv switchgrass lignin by using high performance liquid chromatography/high resolution tandem mass spectrometry using hydroxide-doped negative-ion mode electrospray ionization. **Green Chemistry**, [S.l.], v. 16, n. 5, p. 2713-2727, 2014.

JAYARAMUDU, T. *et al.* Adhesion properties of poly (ethylene oxide)-lignin blend for nanocellulose composites. **Composites Part B: Engineering**, [S.l.], v. 156, p. 43-50, 2019.

JONES, A. *et al.* Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. **Analytica chimica acta**, [S.l.], v. 967, p. 93-101, 2017.

KHALIL, H. P. S. *et al.* Biodegradable polymer films from seaweed polysaccharides: A

review on cellulose as a reinforcement material. **Express Polymer Letters**, [S.l.], v. 11, n. 4, 2017.

KIM, S. S. *et al.* *Gluconacetobacter* sp. gel\_SEA623-2, bacterial cellulose producing bacterium isolated from citrus fruit juice. **Saudi journal of biological sciences**, [S.l.], v. 24, n. 2, p. 314-319, 2017.

KO, S. W. *et al.* Development of bioactive cellulose nanocrystals derived from dominant cellulose polymorphs I and II from *Capsosiphon Fulvescens* for biomedical applications. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 110, p. 531-539 2017.

KUN, D.; PUKÁNSZKY, B. Polymer/lignin blends: Interactions, properties, applications. **European Polymer Journal**, [S.l.], v. 93, p. 618-641, 2017.

KUO, C.-H. *et al.* Utilization of acetate buffer to improve bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 53, p. 98-103, 2016.

KWAK, H. W. *et al.* Facile and green fabrication of silk sericin films reinforced with bamboo-derived cellulose nanofibrils. **Journal of Cleaner Production**, [S.l.], v. 200, p. 1034-1042, 2018.

LABIDI, K. *et al.* All-cellulose composites from alfa and wood fibers. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 127, p. 135-141, 2019.

LAVORATTI, A.; SCIENZA, L. C.; ZATTERA, A. J. Dynamic-mechanical and thermomechanical properties of cellulose nanofiber/polyester resin composites. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 136, p. 955-963, 2016.

LEITE, A. J. *et al.* The potential of cashew gum functionalization as building blocks for layer-by-layer films. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 174, p. 849-857, 2017.

LEITE, L. S. F. **Preparação e caracterização de compósitos de acetato de celulose e nanocristais de celulose**. 2015. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2015.

LESZCZYŃSKA, A. *et al.* Thermal stability of cellulose nanocrystals prepared by succinic anhydride assisted hydrolysis. **Thermochimica Acta**, [S.l.], v. 663, p. 145-156, 2018.

LICHTENSTEIN, K.; LAVOINE, N. Toward a deeper understanding of the thermal degradation mechanism of nanocellulose. **Polymer Degradation and Stability**, [S.l.], v. 146, p. 53-60, 2017.

LIMA, H. L. S. *et al.* Bacterial cellulose nanofiber-based films incorporating gelatin hydrolysate from tilapia skin: production, characterization and cytotoxicity assessment. **Cellulose**, [S.l.], v. 25, n. 10, p. 6011-6029, 2018.

LIMA, H. L. S. **Filmes antioxidantes comestíveis de celulose bacteriana e hidrolisado de gelatina de pele de peixe**. 2018. 166 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

LIU, D. *et al.* Novel sandwiched structures in starch/cellulose nanowhiskers (CNWs) composite films. **Composites Communications**, [S.l.], v. 4, p. 5-9, 2017.

LUZI, F. *et al.* Cellulose nanocrystals from *Actinidia deliciosa* pruning residues combined with carvacrol in PVA-CH films with antioxidant/antimicrobial properties for packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 104, p. 43-55, 2017.

MA, X. *et al.* A perspective on lignin effects on hemicelluloses dissolution for bamboo pretreatment. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 94, p. 117-121, 2016.

MAACHE, M. *et al.* Characterization of a novel natural cellulosic fiber from *Juncus effusus* L. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 171, p. 163-172, 2017.

MACHADO, R. T. A. *et al.* *Komagataeibacter rhaeticus* as an alternative bacteria for cellulose production. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 152, p. 841-849, 2016.

MAGALHÃES, W. L. E.; ZANONI, P. R. S.; CLARO, F. C.; MACIEL, G. M. **Imobilização de lacase em nanofibrilas de celulose para aplicação em biorrefinaria de lignina.** Embrapa Florestas - Comunicado Técnico. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1104133/imobilizacao-de-lacase-em-nanofibrilas-de-celulose-para-aplicacao-em-biorrefinaria-de-lignina>. Acesso em: 10 fev. 2018.

MAHMOOD, Z. *et al.* Lignin as natural antioxidant capacity. *In*: POLLETO, M. **Lignin-Trends and Applications**. [S.l.]: InTech, 2018.

MARIANO, M.; CERCENÁ, R.; SOLDI, V. Thermal characterization of cellulose nanocrystals isolated from sisal fibers using acid hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 94, p. 454-462, 2016.

MATTOS, A. L. A. *et al.* Cashew tree wood flour activated with cashew nut shell liquid for the production of functionalized composites. **Composite Interfaces**, [S.l.], v. 25, n. 2, p. 93-107, 2018.

MELIANA, Y.; SETIAWAN, A. H. Antioxidant activity of lignin phenolic compounds as by-product of pretreatment process of bioethanol production from empty fruits palm bunch. **AIP Proceedings**, [S.l.], v. 172, n. 1, p. 1-5, 2016.

MIRANDA, C. S. *et al.* Mechanical, thermal and barrier properties of starch-based films plasticized with glycerol and lignin and reinforced with cellulose nanocrystals. **Materials Today: Proceedings**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 63-69, 2015.

MOHAMMADKAZEMI, F.; AZIN, M.; ASHORI, A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 117, p. 518-523, 2015.

MONDAL, S. Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 163, p. 301-316, 2017.

MONTENEGRO, A. A. T. Caracterização química da madeira de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO INTERNACIONAL DE CELULOSE E PAPEL, 43., 2010, São Paulo. **Anais [...]**. São Paulo: Associação Brasileira Técnica de Celulose e Papel, 2010.

MORAIS, J. P. S. *et al.* Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 91, n. 1, p. 229-235, 2013.

NAIR, S. S. *et al.* Investigating the effect of lignin on the mechanical, thermal, and barrier properties of cellulose nanofibril reinforced epoxy composite. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 100, p. 208-217, 2017.

NARITA, C.; OKAHISA, Y.; YAMADA, K. Plasticizing effect of lignin on urushi in bio-composite films. **Polymer**, [S.l.], v. 161, p. 49-54, 2019.

NASCIMENTO, E. S. *et al.* Extrato de algaroba como fonte alternativa para produção de celulose bacteriana. In: ENCONTRO NORDESTE DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE POLÍMEROS, 2., 2014, Salvador. **Anais [...]**. Salvador: ABPol-NE, 2014.

NASCIMENTO, E. S. *et al.* TEMPO oxidation and high-speed blending as a combined approach to disassemble bacterial cellulose. **Cellulose**, [S.l.], v. 26, n. 4, p. 2291-2302, 2019.

NASCIMENTO, E. S. **Filmes nanocompósitos à base de celulose bacteriana e nanocristais de celulose**. 2018. 94 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

NASCIMENTO, S. A.; REZENDE, C. A. Combined approaches to obtain cellulose nanocrystals, nanofibrils and fermentable sugars from elephant grass. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 180, p. 38-45, 2018.

NASCIMENTO, J. H. O. *et al.* Extraction and characterization of cellulosic nanowhisker obtained from discarded cotton fibers. **Materials Today: Proceedings**, [S.l.], v. 2, n. 1, p., 1-7, 2015.

NECHYPORCHUK, O.; BELGACEM, M. N.; BRAS, J. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 93, p. 2-25, 2016.

NEMAZIFARD, M. *et al.* Physical, mechanical, water binding, and antioxidant properties of cellulose dispersions and cellulose film incorporated with pomegranate seed extract. **International journal of food properties**, [S.l.], v. 20, n. sup 2, p. 1501-1514, 2017.

NOGUEIRA, I. *et al.* Organic solvent fractionation of acetosolv palm oil lignin: The role of its structure on the antioxidant activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 122, p. 1163-1172, 2019.

OIRAM FILHO, F. *et al.* Development and validation of a reversed phase HPLC method for determination of anacardic acids in cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell liquid. **Journal of Chromatographic Science**, [S.l.], v. 56, n. 4, p. 300-306, 2017.

OLIVEIRA, J. P. *et al.* Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 221, p. 153-160, 2017.

OLIVEIRA, F. C. **Oxidação de lignina proveniente de resíduos lignocelulósicos agroindustriais para obtenção de compostos químicos aromáticos de maior valor agregado**. 2015. 199 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

PACHECO, G. *et al.* Development and characterization of bacterial cellulose produced by cashew tree residues as alternative carbon source. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 107, p. 13-19, 2017.

PADRÃO, J. *et al.* Bacterial cellulose-lactoferrin as an antimicrobial edible packaging. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 58, p. 126-140, 2016.

PEREIRA, P. H. F. *et al.* Vegetal fibers in polymeric composites: a review. **Polímeros**, [S.l.], v. 25, n. 1, p. 9-22, 2015.

PINHEIRO, F. G. C. *et al.* Optimization of the acetosolv extraction of lignin from sugarcane bagasse for phenolic resin production. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 96, p. 80-90, 2017.

PINHEIRO, A. C. *et al.* **Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares**. Boletim de Biotecnologia. 2010. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/55618039.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2019.

PINHEIRO, F. G. C. *et al.* Optimization of the acetosolv extraction of lignin from sugarcane bagasse for phenolic resin production. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 96, p. 80-90, 2017.

POLETTO, M. *et al.* Thermal decomposition of wood: Influence of wood components and cellulose crystallite size. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 109, p. 148-153, 2012.

PONOMARENKO, J. *et al.* Antioxidant activity of various lignins and lignin-related phenylpropanoid units with high and low molecular weight. **Holzforschung**, [S.l.], v. 69, n. 6, p. 795-805, 2015.

PONNUSAMY, V. K. *et al.* A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 271, p. 462-472, 2019.

PONTES, S. M. A. **Otimização do processo de obtenção de nanocristais de celulose a partir do caroço de manga**. 2017. 56 f. Monografia (Graduação em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

RAI, S.; DUTTA, P. K.; MEHROTRA, G. K. Lignin incorporated antimicrobial chitosan film for food packaging application. **Journal of Polymer Materials**, [S.l.], v. 34, n. 1, p. 171, 2017.

RANGAN, A. *et al.* Novel method for the preparation of lignin-rich nanoparticles from lignocellulosic fibers. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 103, p. 152-160, 2017.

RHIM, J-W.; PARK, H-M.; HÁ, C-S. Bio-nanocomposites for food packaging applications, **Progress in Polymer Science**, [S.l.], v. 38, p.1629-1652, 2013.

RONG, S. Y.; MUBARAK, N. M.; TANJUNG, F. A. Structure-property relationship of cellulose nanowhiskers reinforced chitosan biocomposite films. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [S.l.], v. 5, n. 6, p. 6132-6136, 2017.

ROSA, M. F. *et al.* Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 81, n. 1, p. 83-92, 2010.

SAITO, T. *et al.* Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. **Biomacromolecules**, [S.l.], v. 8, n. 8, p. 2485–2491, ago. 2007.

SALAMA, A. Dicarboxylic cellulose decorated with silver nanoparticles as sustainable antibacterial nanocomposite material. **Environmental nanotechnology, monitoring & management**, [S.l.], v. 8, p. 228-232, 2017.

SALARI, M. *et al.* Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from bacterial cellulose produced in sugar beet molasses and cheese whey media. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 122, p. 280-288, 2018.

SÁNCHEZ-SAFONT, E. L. *et al.* Biocomposites of different lignocellulosic wastes for sustainable food packaging applications. **Composites Part B: Engineering**, [S.l.], v. 145, p. 215-225, 2018.

SANJAY, M. R. *et al.* Characterization and properties of natural fiber polymer composites: A comprehensive review. **Journal of Cleaner Production**, [S.l.], v. 172, p. 566-581, 2018.

SANTOS, P. S. B. *et al.* Caracterização da lignina obtida da madeira de diferentes espécies por meio do processo organosolv. **Revista Ciência da Madeira**, Pelotas, v. 6, n. 3, 237-243, 2015.

SARAVANAKUMAR, S. S. *et al.* Characterization of a novel natural cellulosic fiber from *Prosopis juliflora* bark. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 92, n. 2, p. 1928-1933, 2013.

SBIAI, A. *et al.* TEMPO-mediated oxidation of lignocellulosic fibers from date palm leaves. **Carbohydrate polymers**, [S.l.], v. 86, n. 4, p. 1445-1450, 2011.

SEPE, R. *et al.* Influence of chemical treatments on mechanical properties of hemp fiber reinforced composites. **Composites Part B: Engineering**, [S.l.], v. 133, p. 210-217, 2018.

SERRANO, L. A. L.; PESSOA, P. F. A. P. **Aspectos econômicos da cultura do cajueiro. Sistema de produção da Embrapa**. 2016. Disponível em: [https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistemasdeproducao16\\_1galceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-2&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_-76293187\\_sistemaProducaoId=7705&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicoId=10308](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao16_1galceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7705&p_r_p_-996514994_topicoId=10308). Acesso em 10 ago. 2018.

SHANKAR, S.; RHIM, J.W.; WON, K. Preparation of poly (lactide)/lignin/silver

nanoparticles composite films with UV light barrier and antibacterial properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 107, p. 1724-1731, 2018.

SHEIKHI, A. *et al.* Recent advances in nanoengineering cellulose for cargo delivery. **Journal of Controlled Release**, [S.l.], v. 294, p. 53-76, 2019.

SILVA, S. M. F. **Filmes compósitos de celulose bacteriana e goma de cajueiro para aplicação em alimentos**. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. **Polymers**, [S.l.], v. 2, n. 4, p. 728-765, 2010.

SMYTH, M. *et al.* Extraction and process analysis of high aspect ratio cellulose nanocrystals from corn (*Zea mays*) agricultural residue. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 108, p. 257-266, 2017.

SOUSA, A. D.; BRITO, E. S. Optimization of condensed tannin aqueous extraction from cashew tree pruning residue using response surface methodology and its drying. **Waste and Biomass Valorization**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 569-577, 2015.

SOUZA, N. F. *et al.* Development of chlorine-free pulping method to extract cellulose nanocrystals from pressed oil palm mesocarp fibers. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 372-379, 2015.

SOUZA, N. F. *et al.* Fibrous residues of palm oil as a source of green chemical building blocks. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 94, p. 480-489, 2016.

SOUZA, N. F. **Aplicação conjunta de processos para melhoria técnica e ambiental da obtenção de nanoceluloses a partir das fibras de dendê**. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

STUMPF, T. R. *et al.* In situ and ex situ modifications of bacterial cellulose for applications in tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, [S.l.], v. 82, p. 372-383, 2018.

SUKYAI, P. *et al.* Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films. **Food Research International**, [S.l.], v. 107, p. 528-535, 2018.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. **Journal Science Food Agriculture**, London, v. 10, p. 135-144, 1959.

TABARSA, T. *et al.* Preparation and characterization of reinforced papers using nano bacterial cellulose. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 101, p. 334-340, 2017.

TAFLICK, T. *et al.* Acacia bark residues as filler in polypropylene composites. **Polímeros**, [S.l.], v. 25, n. 3, p. 289-295, 2015.

- TAFLLICK, T. *et al.* Cellulose nanocrystals from acacia bark—Influence of solvent extraction. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 101, p. 553-561, 2017.
- TAGAMI, A. *et al.* Solvent fractionation of softwood and hardwood kraft lignins for more efficient uses: Compositional, structural, thermal, antioxidant and adsorption properties. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 129, p. 123-134, 2019.
- TANG, J. *et al.* Functionalization of cellulose nanocrystals for advanced applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S.l.], v. 494, p. 397-409, 2017.
- TAPPI. **Technical Association for the worldwide pulp, paper and converting industry.** Standard Test Methods WI 3021. Atlanta: TAPPI Press, 2014.
- TAPPI. Technical Association of the Pulp and Paper Industry. **T 203 cm-99.** Alpha - , beta - , and gamma in pulp. Atlanta: TAPPI Press, 2009.
- TAPPI. Technical Association of the Pulp and Paper Industry. **T 211 om-02.** Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C. Atlanta: TAPPI Press, 1997.
- TAPPI. Technical Association of the Pulp and Paper Industry. **T 264 cm-97.** Preparation of wood for chemical analysis. Atlanta: TAPPI Press, 1997.
- TAPPI. Technical Association of the Pulp and Paper Industry. **T 413 om-93.** Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 900°C. Atlanta: TAPPI Press, 1993.
- TARRÉS, Q. *et al.* Lignocellulosic micro/nanofibers from wood sawdust applied to recycled fibers for the production of paper bags. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 105, p. 664-670, 2017.
- TEIXEIRA, E. M. *et al.* Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida. **Polímeros**, [S.l.], v. 20, n.4, p.264-268, 2010.
- TEODORO, K. B. R. *et al.* Whiskers de fibra de sisal obtidos sob diferentes condições de hidrólise ácida: efeito do tempo e da temperatura de extração. **Polímeros**, [S.l.], v. 2, n.4, p. 280-285, 2011.
- TRIBOT, A. *et al.* Wood-lignin: Supply, extraction processes and use as bio-based material. **European Polymer Journal**, [S.l.], v. 122, p. 228-240, 2019.
- TSAI, Y.-H. *et al.* Drug release and antioxidant/antibacterial activities of silymarin-zein nanoparticle/bacterial cellulose nanofiber composite films. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 180, p. 286-296, 2018.
- TYAGI, N.; SURESH, S. Production of cellulose from sugarcane molasses using *Gluconacetobacter intermedius* SNT-1: optimization & characterization. **Journal of Cleaner Production**, [S.l.], v. 112, p. 71-80, 2016.
- VADIVEL, V. *et al.* Effects of an acid/alkaline treatment on the release of antioxidants and cellulose from different agro-food wastes. **Waste Management**, [S.l.], v. 64, p. 305-314, 2017.

VASCONCELOS, N. F. *et al.* Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: properties and morphological features. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 155, p. 425-431, 2017.

VIANA, R. M. *et al.* Nanofibrillated bacterial cellulose and pectin edible films added with fruit purees. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 196, p. 27-32, 2018.

WANG, H. *et al.* From lignin to valuable products—strategies, challenges, and prospects. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 271, p. 449-461, 2019.

WANG, L.F.; SHANKAR, S.; RHIM, J.W. Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 63, p. 201-208, 2017.

WANG, W. *et al.* All cellulose composites based on cellulose diacetate and nanofibrillated cellulose prepared by alkali treatment. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 179, p. 297-304, 2018.

WANG, X. *et al.* Physical properties and antioxidant capacity of chitosan/epigallocatechin-3-gallate films reinforced with nano-bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 179, p. 207-220, 2018.

WEI, L. *et al.* Performance of high lignin content cellulose nanocrystals in poly (lactic acid). **Polymer**, [S.l.], v. 135, p. 305-313, 2018.

WEN, J.-L. *et al.* Recent advances in characterization of lignin polymer by solution-state nuclear magnetic resonance (NMR) methodology. **Materials**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 359-391, 2013.

WILLBERG-KEYRILÄINEN, P. *et al.* Hydrophobization and smoothing of cellulose nanofibril films by cellulose ester coatings. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 170, p. 160-165, 2017.

WU, W. *et al.* Ecofriendly UV-protective films based on poly (propylene carbonate) biocomposites filled with TiO<sub>2</sub> decorated lignin. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 126, p. 1030-1036, 2019.

WU, Y.; WANG, F.; HUANG, Y. Facile and simple fabrication of strong, transparent and flexible aramid nanofibers/bacterial cellulose nanocomposite membranes. **Composites Science and Technology**, [S.l.], v. 159, p. 70-76, 2018.

XING, L. *et al.* Cellulose I and II nanocrystals produced by sulfuric acid hydrolysis of Tetra pak cellulose I. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 192, p. 184-192, 2018.

XU, J. *et al.* Production and characterization of cellulose nanofibril (CNF) from agricultural waste corn stover. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 192, p. 202-207, 2018.

YANG, H. *et al.* Preparation of cellulose nanofibers from *Miscanthus x. Giganteus* by ammonium persulfate oxidation. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 212, p. 30-39, 2019.

YANG, W. *et al.* Effect of cellulose and lignin on disintegration, antimicrobial and antioxidant properties of PLA active films. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 89, p. 360-368, 2016.

YOKOYAMA, T.; KADLA, J. F.; CHANG, H. M. Microanalytical method for the characterization of fiber components and morphology of woody plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 50, p.1040-1044, 2002.