



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

LAYANNE GUEDES SILVA DE ARAÚJO

PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE NANOCELULOSE DO
BAGAÇO DE CAJU

FORTALEZA

2022

LAYANNE GUEDES SILVA DE ARAÚJO

PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE NANOCELULOSE DO
BAGAÇO DE CAJU

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: Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Valderez Ponte Rocha.

Coorientadora: Profa. Dra. Tigressa Helena Soares Rodrigues.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- A69p Araújo, Layanne Guedes Silva de.
Produção, caracterização e aplicação de nanocelulose do bagaço de caju / Layanne Guedes Silva de Araújo. –
2022.
123 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Química, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Maria Valderez Ponte Rocha.
Coorientação: Profa. Dra. Tigressa Helena Soares Rodrigues.
1. Celulose. 2. Nanocelulose. 3. Hidrólise ácida. 4. Hidrólise enzimática . 5. Biofilmes. I. Título.
CDD 660
-

LAYANNE GUEDES SILVA DE ARAÚJO

PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE NANOCELULOSE DO
BAGAÇO DE CAJU

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: Processos Químicos e Bioquímicos.

Aprovada em: 16/08/2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Valdevez Ponte Rocha (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Enrique Vilarrasa García
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Luciana Magalhães Rebelo Alencar
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Profa. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof. Dr. Elton Patrick Barbano
Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA)

A Deus.

Aos meus pais, Francisca e Luís.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, pelas oportunidades que me fizeram chegar até aqui e por nunca me desamparar.

Aos meus pais Luís Carlos e Francisca de Assis, por todo amor e compreensão, pelo apoio e incentivo de sempre, por terem me edificado em valores que carrego comigo por onde for. Vocês são meu exemplo de vida. Amo vocês!

Às minhas irmãs Rozeane e Leysa, por me acompanharem ao longo da vida e pela torcida de sempre.

Ao meu marido Felipe, por todo carinho, amor, compreensão e paciência, por ser calmaria em meio as minhas perturbações e pelo incentivo de sempre, a caminhada ao seu lado tem sido de muito crescimento, agradeço a Deus por ter me enviado você.

Aos parentes e amigos que sempre torceram e vibraram por cada conquista minha, o apoio de vocês foi fundamental.

Aos amigos que o GPBio me presenteou: Carla, Carlos, Eddie, Juliana, Paulinha, Ravena e Ticiane, meu muito obrigada por todo o companheirismo, pelo apoio, pelas risadas na copa e por toda a ajuda ao longo desses anos, a caminhada tornou-se mais leve ao lado de vocês, obrigada por tanto.

Ao Sr. Luis, por ser esse exemplo de humildade e generosidade e pelo excelente trabalho desempenhado no DEQ.

Meu muito obrigada à minha orientadora Dr^a Maria Valderez Ponte Rocha, pela orientação, por toda paciência e dedicação ao longo desses anos, por ser esse exemplo de profissional competente que és, por sua preocupação que vai além da vida acadêmica.

À minha coorientadora, a professora Dr^a Tigressa Helena Soares Rodrigues, por toda a ajuda disponibilizada ao longo desses anos, por se mostrar sempre disponível para o que precisasse, por ser esse poço de calmaria mesmo quando o momento não estava propício a isso.

Aos laboratórios parceiros que viabilizaram as análises complementares como: Laboratório de Raios-X; ao CNPq (Processo: 402561/2007-4) Edital MCT/CNPq nº 10/2007, à Central Analítica – UFC (financiada pelos programas Finep-CT-INFRA, Pró-equipamentos CAPES, e MCTI-CNPQ-SisNano2.0), ao Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN) que faz parte da EMBRAPA, ao Laboratório de Física da UFMA.

Aos professores participantes da banca examinadora da qualificação, pelas valiosas colaborações e sugestões, professora Morsyleide de Freitas e professor Elton Patrick.

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPQ, em especial a FUNCAP pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de doutorado.

Aos colegas da turma de doutorado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

A todos que direta e indiretamente me ajudaram a chegar até aqui. Meu muito obrigada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”
(Madre Teresa de Calcutá).

RESUMO

A nanocelulose vem ganhando grande destaque no setor econômico e industrial pois exhibe excelentes propriedades como alta resistência mecânica, alta área de superfície e biodegradabilidade. No entanto, ainda há a necessidade de explorar novos materiais e métodos mais eficientes para a preparação de nanocelulose. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é obter nanocelulose, via hidrólise ácida e enzimática, ambas sequencial com o processo ultrassônico, usando o bagaço de caju (BC) pré-tratado, e avaliar sua aplicação na produção de biofilmes. Inicialmente, BC foi pré-tratado usando o pré-tratamento alcalino (NaOH), variando as porcentagens de BC, 5 % e 10 % m/v (denominados de BC-PTA-5 e BC-PTA-10). Também foi realizado o pré-tratamento ácido seguido de álcali usando H₂SO₄ e NaOH com 20 % m/v de carga inicial de bagaço de caju, sendo o BC pré-tratado nomeado de BC-PT-HA. Posteriormente, foi avaliado a obtenção de nanocelulose por hidrólise ácida (métodos I, II e III) e enzimática (métodos IV e V), variando a concentração do ácido sulfúrico, da carga enzimática e do tempo. O material resultante desses métodos foi caracterizado por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia de Força Atômica (MFA) e Análise de Termogravimétrica (TGA). O BC-PT-HA apresentou maior teor de celulose e maior estabilidade térmica, quando comparado ao material pré-tratado por apenas álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10), que por sua vez apresentou um maior teor de lignina. Os resultados comprovaram a obtenção de nanocelulose por hidrólise ácida conduzida segundo os métodos II (BC-PTA-HA) e III (BC-PTA-10) que apresentaram formato de hastes com diâmetro variando de 30 nm a 103 nm. Já com BC-PTA-5 (método III) foi obtido nanoesferas com diâmetros de 100 nm a 120 nm. Além disso, as nanoestruturas obtidas do BC-PTA-10 e BC-PTA-5 continham lignina residual e apresentaram a maior estabilidade térmica. Pelo processo de hidrólise enzimática, usando o BC-PT-HA com carga enzimática 7,5 FPU/g_{celulose} e 24 h de hidrólise (método IV) foi possível obter nanoesferas com diâmetros variando de 57,26 nm a 220,66 nm, a fração líquida resultante continha 1,51 g/L de glicose e rendimento igual a 175,6 mg de glicose por grama de BC-PT-HA, apresentando-se como uma possível fonte de carbono para a obtenção de produtos de interesse industrial. O material resultante da hidrólise enzimática (método IV) foi utilizado na produção de biofilmes, que possuem potencial para aplicações em embalagens de alimentos. Portanto, a partir do BC é possível obter nanocelulose, resultando em mais uma aplicação para este resíduo.

Palavras-chaves: celulose; nanocelulose; hidrólise ácida; hidrólise enzimática; biofilmes.

ABSTRACT

Nanocellulose material has gained great prominence in the economic and industrial sector due it exhibits excellent properties such as high mechanical strength, high surface and biodegradability. However, there is still a need to explore new materials and more efficient methods for preparing nanocellulose. In this context, this objective of this work is obtained nanocellulose, via acid and enzymatic hydrolysis routes, both sequential with the ultrasonic process, using pretreated cashew apple bagasse (CAB), and to evaluate its application in the production of biofilms. Initially, CAB was pretreated using alkaline pretreatment (NaOH), analyzing different percentages of CAB, 5 % and 10 % w/v (denominated CAB-PTA-5 and CAB-PTA-10). Also, it was evaluated the pretreatment performed with acid followed by alkali using H₂SO₄ and NaOH, and 20 % w/v of initial load CAB, being the pretreated CAB named CAB-PTA-HA. Subsequently, it was evaluated the obtaining of nanocellulose by acid hydrolysis (methods II and III) and enzymatic hydrolysis (methods IV and V), varying the sulfuric acid concentration, enzyme loading, and time. The material obtained by these methods was characterized by Fourier transform infrared spectrophotometry (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), and thermogravimetric analysis (TGA). The CAB-PT-HA had a higher cellulose content when compared to CAB pretreated only with alkali (CAB-PTA-5 and CAB-PTA-10), which in turn showed a greater amount of residual lignin. CAB-PT-HA showed greater thermal stability. The results confirmed the obtaining of nanocellulose by acid hydrolysis conducted according to methods II (BC-PTA-HA) and III (BC-PTA-10), which presented the shape of rods with a diameter ranging from 30 nm to 100 nm, with BC-PTA-5 (method III) nanospheres with diameters from 100 nm to 120 nm were obtained. Furthermore, the nanostructures obtained from CAB-PTA-10 and CAB-PTA-5 contained residual lignin. By the enzymatic hydrolysis process, using BC-PT-HA with a load of 7.5 FPU/g cellulose and 24 h of hydrolysis it was possible to obtain nanospheres with diameters from 57.26 nm to 220.66 nm, and the resulting liquid fraction contained 1.51 g/L of glucose, with a yield of 175,6 mg of glucose per g of BC-PT-HA, presenting itself as a possible source of carbon to obtain products of industrial interest. The material resulting from enzymatic hydrolysis (method IV) was used in the production of biofilms, which have potential for applications in the food packing material. Therefore, from BC it was possible to obtain nanocellulose, resulting in another application for this residue.

Keywords: cellulose; nanocellulose; acid hydrolysis; enzymatic hydrolysis; biofilms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagens de Microscopia eletrônica de transmissão dos (a) nanocristais de celulose e (b) nanofibras de celulose	26
Figura 2 – Estrutura dos materiais lignocelulósicos	30
Figura 3 – Estrutura da celulose	31
Figura 4 – (A) Caju e (B) Bagaço de caju.....	34
Figura 5 – Esquema de funcionamento de um Microscópio de Força Atômica e seus componentes	43
Figura 6 – Esquema de produção da nanocelulose usando o bagaço de caju após pré-tratamento alcalino como matéria-prima para obtenção de nanocelulose usando o método I	49
Figura 7 – Esquema de produção da nanocelulose usando o bagaço de caju após pré-tratamento alcalino e ácido seguido de álcali como matéria-prima usando o método II	50
Figura 8 – Esquema de obtenção da nanocelulose usando o bagaço de caju pré-tratado por álcali (BC-PTA-10) e ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) pelo método de hidrólise enzimática, sequencial com processo ultrassônico – método IV	52
Figura 9 – Imagens do (A) bagaço de caju <i>in natura</i> , (B) após pré-tratamento alcalino (PTA), (C) pré-tratamento ácido seguido de álcali, (D) material resultante do método I (NA-I), (E) nanopartículas obtidas pelo método III (NA-III) seguido de liofilização e (F) pelo método IV (NA-IV) seguido de liofilização.....	58
Figura 10 – Espectros obtidos por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju <i>in natura</i> (A) e BC após pré-tratamento alcalino (PTA), variando a concentração de sólidos BC-PTA-5 (B); BC-PTA-10 (C) e após os métodos I, II e III; NA-5I (D), NA-10I (E), NA-II-5 (F), NA-III-5 (G), NA-II-10 (H) e NA-III-10 (I)	62

- Figura 11 – Espectros obtidos por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju *in natura* (A) após pré-tratamento alcalino (PTA-10 %) (B), e após o método de hidrólise enzimática, sequencial com processo ultrassônico, usando a com carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} após 24 h (NA-IVA-7,5) (C), 12 FPU/g_{celulose} após 24 h (NA-IVA-12) (D), 7,5 FPU/g_{celulose} após 48 h (NA-VA-7,5) (E) e 12 FPU/g_{celulose} após 48 h (NA-VA-12) (F) 66
- Figura 12 – Difratoogramas de raios X para o bagaço de caju *in natura* (A), do bagaço pré-tratado por álcali variando o percentual do bagaço de caju, BC-PTA-5 (B) e BC-PTA-10 (C), e dos materiais obtidos por hidrólise ácida, sequencial com processo ultrassônico (método I), NA-5I (D) e NA-10I (E). 67
- Figura 13 – Termogramas obtidos por análise termogravimétrica (esquerda: TG e direita: DTG) do BC *in natura*, do BC pré-tratado por álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10), dos materiais obtidos pelo método I (NA-5I e NA-10I) e método III (NA-III-5 e NA-III-10) 69
- Figura 14 – Termogramas obtidos por análise termogravimétrica (esquerda: TG e direita: DTG) do BC *in natura*, do bagaço pré-tratado por álcali usando 10% m/v BC (BC-PTA-10), e do material resultante da hidrólise enzimática, sequencial com processo ultrassônico - método IV (NA-IVA-7,5) 71
- Figura 15 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura usando a magnificação de 5000 x do bagaço de caju *in natura* (A); do bagaço de caju pré-tratado por álcali, BC-PTA-5 (B) e BC-PTA-10 (C), e dos materiais resultados do método I de obtenção da nanocelulose, NA-5I (D) e NA-10I (E) 72
- Figura 16 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do material resultante do método II: (A) NA-II-5 com amplitude de 250x e (B) NA-II-10 com amplitude de 500x..... 74
- Figura 17 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos possíveis nanomateriais obtidos pelo método III: (A) NA-III-5 e (B) NA-III-10 ambos usando magnificações de 250x 74

Figura 18 – Imagens de microscopia de varredura eletrônica (MEV) dos materiais obtidos por hidrólise enzimática, sequencial com o processo ultrassônico, conduzido pelo método IV com diferentes cargas enzimáticas: (A e B) usando 7,5 FPU/g _{celulose} (NA-IVA-7,5), e (C e D) usando carga enzimática de 12 FPU/g _{celulose} (NA-IVA-12). Com diferentes magnificações (A) 1000 x (B) 10000 x (C) 1000 x (D) 20000 x	76
Figura 19 – Imagens de microscopia eletrônica de Varredura (MEV) usando o material obtido por hidrólise enzimática, sequencial com o processo ultrassônico - método V com diferentes cargas enzimáticas: (A e B) usando 7,5 FPU/g _{celulose} (NA-IVA-7,5), e (C e D) usando carga de 12 FPU/g _{celulose} (NA-IVA-12). Com diferentes magnificações (A) 500 x (B)10000 x (C) 500 x e (D) 20000 x	77
Figura 20 – Micrografias de força atômica (MFA) do material obtido da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método II usando o BC-PTA-5, NA-II-5: (A e B) altura e (C) adesão	78
Figura 21 – Micrografias de força atômica (MFA) do material obtido da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método III usando o BC-PTA-5, NA-III-5: (A, B e C) altura; (D) adesão.....	79
Figura 22 – Micrografias de força atômica (MFA) do material obtido da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método III usando o BC-PTA-5, NA-III-5: (A e B) altura e (C) adesão	81
Figura 23 – Micrografias obtidas por microscopia de força atômica (MFA) do material obtido pelo método IV, usando o BC-PTA-10 como precursor, NA-IVA-7,5. (A, B e C) Altura e (D) adesão	82
Figura 24 – Perfil das concentrações de celobiose e glicose na hidrólise enzimática do BC-PTA-10, usando o complexo enzimático celulase de <i>Trichoderma reesei</i> sob agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas: (A) 7,5 FPU/g _{celulose} e (B) 12 FPU/g _{celulose} . (■) celobiose e (●) glicose	83
Figura 25 – Perfil da digestibilidade da celulose na hidrólise enzimática do BC-PTA-10, usando o complexo enzimático celulase de <i>Trichoderma reesei</i> sob	84

agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas:
(A) 7,5 FPU/g_{celulose} e (B) 12 FPU/g_{celulose}

- Figura 26 – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju *in natura* (A), BC após pré-tratamento ácido seguido de alcali (BC-PT-HA) (B), e do material resultante da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, usando o método II NA-II-HA (C) e o método III – NA-III-HA (D) 86
- Figura 27 – Espectrogramas obtidos no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju *in natura* – BC (A), BC pré-tratado BC-PT-HA (B), e do material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando diferentes cargas enzimáticas: método IV - 7,5 FPU/g_{celulose} - NA-IV-7,5 (C) e 12 FPU/g_{celulose} (NA-IV-12) (D) com 24 h de hidrólise, e método V - 7,5 FPU/g_{celulose} - NA-V-7,5 (E) e 12 FPU/g_{celulose} - NA-IV-12 (F) com 48 h de hidrólise 88
- Figura 28 – Termogramas (esquerda: TG e direita: DTG) do BC *in natura*, ao bagaço pré-tratado BC-PT-HA e dos materiais obtidos por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico – método II (NA-II-HA) e por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico - método IV usando a carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} com 24 h de hidrólise (NA-IV-HA) 89
- Figura 29 – Difratoformas de raios X do bagaço de caju *in natura* (I) e do bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (BC-PTA-HA) (II) 91
- Figura 30 – Micrografia eletrônica de varredura do bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (BC-PT-HA): (A) 5000x e (B) 10000x; após submetido ao método II (NA-II-HA): (C) 1000 x e (D) 250x, e após submetido ao método (III) (NA-III-HA): (E) 250 x e (F) 2500x 92
- Figura 31 – Micrografia de varredura eletrônica (MEV) do material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (método IV), usando diferentes cargas enzimáticas: 7,5 FPU/g_{celulose} - NA-IV-7,5: (A) 93

20000x e (B) 40000x (III) e 12 FPU/g _{celulose} (NA-IV-12): C) 20000x e (D) 50000x	
Figura 32 – Microscopia de varredura eletrônica (MEV) do material obtido por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (método V), conduzida usando a carga enzimática 7,5 FPU/g _{celulose} -NA-V-7,5 (A) 1000x e (B) 4000x e 12 FPU/g _{celulose} -NA-IV-12 sendo (C) 1000 x; (D) 250x	94
Figura 33 – Microscopia de força atômica (MFA) utilizando o BC-PT-HA e o método II (NA-II-HA) para obtenção de nanocelulose. (A e B) altura e (C) adesão ...	95
Figura 34 – Imagens de Microscopia de força atômica (MFA) do material resultante da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método III usando o BC-PT-HA como precursor para obtenção de nanocelulose (NA-III-HA). (A e B) altura (C) adesão.....	96
Figura 35 – Imagens de Microscopia de força atômica (MFA) do material resultante após pré-tratamento alcalino e hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico – método IV (NA-IV-7,5) (A); (B) e (C) altura; (D) adesão.....	97
Figura 36 – Perfil das concentrações de celobiose e glicose na hidrólise enzimática do BC-PTA-HA, usando o complexo enzimático celulase de <i>Trichoderma reesei</i> sob agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas: (A) 7,5 FPU/ g _{celulose} e (B) 12 FPU/g _{celulose} . (■) celobiose; (●) glicose.	98
Figura 37 – Perfil da digestibilidade da celulose na hidrólise enzimática do BC-PTA-HA, usando o complexo enzimático celulase de <i>Trichoderma reesei</i> sob agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas: (A) 7,5 FPU/ g _{celulose} e (B) 12 FPU/g _{celulose}	99
Figura 38 – Espectros obtidos por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier do filme padrão (I) filme controle; (II) F-5NA-IVA; (III) F-7NA-IVA; (IV) F-5NA-IV; (V) F-7NA-IV.....	102
Figura 39 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície (imagens com números 1) e da espessura (imagens com números 2) dos	103

filmes: (A1 e A2) controle; (B1 e B2) F-5NA-IVA; (C1 e C2) F-7NA-IVA;
(D1 e D2) F-5NA-IV; (E1 e E2) F-7NA-IV

Figura 40 – Perda de peso percentual de filmes por um período de 35
dias 109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Aplicações da nanocelulose obtida de diferentes matérias-primas	28
Tabela 2	– Porcentagem de celulose, hemicelulose e lignina de alguns materiais lignocelulósicos	29
Tabela 3	– Composição química do bagaço de caju <i>in natura</i> (BC) e do bagaço pré-tratado com álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e com ácido seguido de álcali (BC-PT-HA)	59
Tabela 4	– Posição e características das principais vibrações de ligações químicas do Bagaço de Caju <i>in natura</i> e após pré-tratamento alcalino	63
Tabela 5	– Índice de cristalinidade do bagaço de caju <i>in natura</i> (BC), do BC após pré-tratamento alcalino (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e após método I (NA-5I e NA-10I)	68
Tabela 6	– Rendimentos de nanocelulose obtidos por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (métodos II e III), e por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (método IV)	100
Tabela 7	– Análise da capacidade de retenção de água nos filmes	105
Tabela 8	– Análise visual da biodegradação de filmes em solo	108

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FPU	Atividade enzimática em Unidades de Papel Filtro
BC	Bagaço de caju
NCC	Nanocristais de celulose
NFC	Nanofibrilas de celulose
PTA	Pré-tratamento alcalino
PTA-5 %	Pré-tratamento alcalino usando 5 % (m/v) de BC
PTA-10 %	Pré-tratamento alcalino usando 10 % (m/v) de BC
PT-HA	Pré-tratamento ácido seguido de álcali
BC-PT-H	Bagaço de caju pré-tratado apenas com ácido
BC-PT-HA	Bagaço de caju pré-tratado com ácido seguido de álcali
BC-PTA-5	Bagaço de caju após tratamento alcalino usando 5 % (m/v) de BC
BC-PTA-10	Bagaço de caju após tratamento alcalino usado 10 % (m/v) de BC
NA-5I	Material resultante do método I usando BC-PTA-5
NA-10I	Material resultante do método I usando BC-PTA-10
NA-II-5	Material resultante do método II usando BC-PTA-5
NA-II-10	Material resultante do método II usando BC-PTA-10
NA-II-HA	Material resultante do método II usando BC-PTA-HA
NA-III-5	Material resultante do método III usando BC-PTA-5
NA-III-10	Material resultante do método III usando BC-PTA-10
NA-III-HA	Material resultante do método III usando BC-PTA-HA
NA-IVA-7,5	Material resultante da hidrólise enzimática IV usando o BC-PTA-10 e carga enzimática de 7,5 FPU/g celulose
NA-IVA-12	Material resultante da hidrólise enzimática IV usando o BC-PTA-10 e carga enzimática de 12 FPU/g celulose
NA-IV-7,5	Material resultante da hidrólise enzimática IV usando o BC-PT-HA e carga enzimática de 7,5 FPU/g celulose
NA-IV-12	Material resultante da hidrólise enzimática IV usando o BC-PT-HA e carga enzimática de 12 FPU/g celulose
NA-VA-7,5	Material resultante da hidrólise enzimática V usando o BC-PT-10 e carga enzimática de 7,5 FPU/g celulose

NA-VA-12	Material resultante da hidrólise enzimática V usando o BC-PT-10 e carga enzimática de 12 FPU/g celulose
NA-V-7,5	Material resultante da hidrólise enzimática V usando o BC-PT-HA e carga enzimática de 7,5 FPU/g celulose
NA-V-12	Material resultante da hidrólise enzimática V usando o BC-PT-HA e carga enzimática de 12 FPU/g celulose
F-5NA-IVA	Filme contendo 5 % (m/v) do NA-IVA-7,5
F-7NA-IVA	Filme contendo 7 % (m/v) do NA-IVA-7,5
F-5NA-IV	Filme contendo 5 % (m/v) do NA-IV-7,5
F-7NA-IV	Filme contendo 7 % (m/v) do NA-IV-7,5
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier
TGA	Análise termogravimétrica
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MFA	Microscopia de força atômica
DRX	Difração de raios X

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1	Nanocelulose	24
2.2	Aplicações da nanocelulose	27
2.3	Lignocelulósicos como matéria-prima para a produção de nanocelulose	28
2.3.1	<i>Estrutura dos lignocelulósicos</i>	30
2.3.1.1	<i>Celulose</i>	30
2.3.1.2	<i>Hemicelulose</i>	31
2.3.1.3	<i>Lignina</i>	32
2.4	O Agronegócio do caju e a produção de bagaço	33
2.5	Produção de nanocelulose	35
2.5.1	<i>Pré-tratamento</i>	35
2.5.2	<i>Processos de obtenção de nanocelulose</i>	35
2.5.2.1	<i>Hidrólise ácida</i>	36
2.5.2.2	<i>Hidrólise enzimática</i>	38
2.5.2.3	<i>Ultrassom</i>	38
2.6	Métodos de caracterização realizados no bagaço de caju após pré-tratamento e após métodos de obtenção de nanocelulose	39
2.6.1	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	39
2.6.2	<i>Difração de raio X</i>	40
2.6.3	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	40
2.6.4	<i>Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV)</i>	41
2.6.5	<i>Microscopia de Força Atômica (MFA)</i>	42
3	MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1	Material lignocelulósico	44
3.2	Pré-tratamento do material lignocelulósico	44
3.2.1	<i>Pré-tratamento alcalino</i>	44
3.2.2	<i>Pré-tratamento ácido seguido de álcali</i>	45
3.3	Caracterização química do bagaço de caju <i>in natura</i> e após realização dos pré-tratamentos, segundo protocolo da NREL	45

3.3.1	<i>Determinação de sólidos totais</i>	45
3.3.2	<i>Determinação de extratáveis</i>	46
3.3.3	<i>Determinação do teor de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas</i>	46
3.3.3.1	<i>Hidrólise do bagaço de caju usando ácido sulfúrico</i>	46
3.3.3.2	<i>Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural na fração líquida</i>	47
3.3.3.3	<i>Determinação de lignina solúvel em ácido e cinzas</i>	47
3.3.3.4	<i>Determinação de cinzas e lignina insolúvel em ácido</i>	48
3.4	Produção de nanocelulose	48
3.4.1	<i>Hidrólise ácida: Método I</i>	48
3.4.2	<i>Hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico: Métodos II e III</i>	49
3.4.3	<i>Hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico: Métodos IV e V</i>	51
3.5	Liofilização	52
3.6	Rendimento das nanoceluloses	52
3.7	Determinação dos carboidratos	53
3.8	Métodos de caracterização realizados no bagaço de caju após pré-tratamento e após métodos de obtenção de nanocelulose	53
3.8.1	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	54
3.8.2	<i>Análise de difração de raios X (DRX)</i>	54
3.8.3	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	54
3.8.4	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	55
3.8.5	<i>Microscopia de Força Atômica (MFA)</i>	55
3.9	Produção de filmes	55
3.10	Propriedades e características dos filmes	56
3.10.1	<i>Capacidade de retenção de água</i>	56
3.10.2	<i>Avaliação da biodegradação dos filmes no solo</i>	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1	Efeito do pré-tratamento no bagaço de caju na disponibilização da celulose	58
4.1.1	<i>Composição química do bagaço de caju in natura e após pré-tratamento</i>	59
4.2	Processo de obtenção de nanocelulose usando como matéria-prima o bagaço de caju após pré-tratamento alcalino (PTA-5 % e PTA-10 %)	61

4.2.1	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	62
4.2.2	<i>Difração de raios X (DRX)</i>	67
4.2.3	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	69
4.2.4	<i>Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)</i>	72
4.2.5	<i>Microscopia de força atômica (MFA)</i>	77
4.2.6	<i>Determinação da concentração de carboidratos obtidos na hidrólise enzimática</i>	82
4.3	Processo de obtenção de nanocelulose usando como matéria-prima o bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (PT-HA)	85
4.3.1	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	85
4.3.2	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	89
4.3.3	<i>Difração de raios X (DRX)</i>	90
4.3.4	<i>Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)</i>	92
4.3.5	<i>Microscopia de força atômica (MFA)</i>	94
4.3.6	<i>Determinação da concentração de carboidratos</i>	98
4.4	Rendimento de nanocelulose pelos diferentes métodos e pré-tratamentos avaliados	100
4.5	Produção de filmes	101
4.5.1	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	102
4.5.2	<i>Microscopia de Varredura Eletrônica</i>	103
4.5.3	<i>Capacidade de retenção de água</i>	105
4.5.4	<i>Avaliação da biodegradação dos filmes no solo</i>	106
5	CONCLUSÕES	110
	REFERÊNCIAS	111

1 INTRODUÇÃO

A nanocelulose é definida como um material celulósico que possui pelo menos uma de suas dimensões com tamanho inferior a 100 nm (MEYABADI *et al.*, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2019). A celulose em escala nanométrica possui diferentes propriedades, que são bastante atrativas, como alta resistência mecânica, baixo peso e biodegradabilidade, vasta área superficial, abundância de grupos hidroxilas, que proporciona locais ativos para ligação química com matrizes poliméricas despertando assim mais interesse em pesquisa e também no setor industrial (KARGARZADEH *et al.*, 2018; MORIANA *et al.*, 2016; TRACHE *et al.*, 2020). Em 2022, o mercado de nanocelulose foi avaliado em mais de 340 milhões de dólares e deve registrar mais de 23,5 % de CAGR (Compound Annual Growth Rate) entre os anos de 2023 a 2032 (PULIDINDI; AHUJA, 2022).

Além disso, devido as suas inúmeras propriedades, as nanoestruturas vem ganhando interesse para uma ampla gama de aplicações, incluindo seu uso no tratamento de água e efluentes (SADARE *et al.*, 2022), em biossensores (GOLMOHAMMADI *et al.*, 2017), em biocompósitos (RESHMY *et al.*, 2022) e também tornam-se candidatos promissores a serem usados como reforço em matrizes poliméricas (NOREMYLIA, ZAKI e ISMAIL, 2022).

Atualmente um dos grandes desafios enfrentados pelo mundo é encontrar um método eficaz para enfrentar os problemas ambientais criados pelos resíduos plásticos não degradáveis. Os plásticos não degradáveis são baratos e duráveis, mas seu acúmulo gera danos a existência de seres humanos, vida selvagem e todo o ecossistema. Então, deseja-se substituir os plásticos não degradáveis por biodegradáveis, que se decomponham de maneira rápida e em matéria orgânica (RESHMY *et al.*, 2021). Diante dos desafios mencionados, atualmente, estudos buscam novos biomateriais que estão sendo desenvolvidos com o intuito de produzir materiais de embalagem de uma variedade de recursos naturais.

Os materiais à base de celulose são alternativas potenciais aos polímeros derivados do petróleo, devido à sua abundância na terra, renovabilidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, possuir capacidade de modificação, adaptabilidade e morfologias versáteis (FANG *et al.*, 2019). Dentre os materiais a base de celulose, pode-se citar a nanocelulose, que têm sido estudada extensivamente devido ao promissor efeito de reforço dessas nanopartículas em inúmeras matrizes poliméricas (KARGARZADEH *et al.*, 2018). A nanocelulose desempenha um papel importante no campo da nanotecnologia e pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de encontrar diferentes rotas e matérias-primas para obtê-la (KUMAR, PATHAK e KANT, 2020; MATEO *et al.*, 2021). Os resíduos de biomassa se apresentam como

matéria-prima promissora na produção de nanocelulose, podendo ajudar a aliviar os desafios de gestão de resíduos e problemas ambientais, como o esgotamento de recursos naturais não-renováveis (SADARE *et al.*, 2022).

Existe um conceito conhecido como “economia de resíduos zero” que incentiva a utilização de resíduos de biomassa como matéria-prima, em substituição aos recursos fósseis, para serem reutilizados e modificados em novas moléculas, algumas vantagens dessa economia incluem atingir metas de geração zero de resíduos, com o objetivo de aliviar os desafios de gerenciamento de resíduos, reduzir custos relacionados ao gerenciamento de resíduos, auxiliar na produção sustentável de materiais e produtos químicos e incentivar a bioeconomia circular (SADARE *et al.*, 2022). Desse modo, a aplicação de tecnologias sustentáveis para recuperar produtos mais valorizados da biomassa residual auxilia na redução de problemas ambientais. A ideia de economia circular ou processo de desperdício zero no controle de resíduos mantém os recursos dentro da economia no momento em que um produto chega ao fim de sua vida útil, esses produtos podem ser usados novamente com eficiência (SADARE *et al.*, 2021).

Portanto, o aproveitamento de resíduos agrícolas tem atraído cada vez mais atenção nos últimos anos. Entre eles, a preparação de micro/nanofibrilas de celulose contendo lignina é considerada uma estratégia promissora, devido as melhores propriedades que podem ser obtidas pelas nanoestruturas, como uma maior hidrofobicidade, um maior rendimento e melhor estabilidade térmica (LUO *et al.*, 2021).

Diante da abundância de resíduos agrícolas, pode-se citar o bagaço de caju, um material lignocelulósico que apresenta majoritariamente em sua composição celulose (18-21 %), hemicelulose (10–19 %) e lignina (33–35 %) (CORREIA *et al.*, 2013; SERPA *et al.*, 2020). O caju é composto pela castanha (fruto) e pelo pedúnculo (pseudofruto), possui um grande destaque econômico na região Nordeste do Brasil devido à exportação de castanha de caju (PADILHA, 2020; REIS *et al.*, 2017). Após a extração da castanha (produto principal), o pedúnculo representa 90 % da massa total da fruta, podendo ser utilizado para a produção de suco, vinho, geleia, sorvete e ração animal. A indústria do suco do caju produz 15 % (m/m) do bagaço, o que decorre na formação de grandes quantidades de resíduos, que não possui essencialmente valor comercial (ALBUQUERQUE, 2014; SOUZA *et al.*, 2016; SERPA *et al.*, 2020)

Alguns estudos utilizam o bagaço de caju como matéria-prima na produção de bioprodutos, como o bioetanol de segunda geração (ROCHA *et al.*, 2009; BARROS *et al.*, 2017), xilitol (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015); MARQUES; ROCHA, 2021) e suporte para imobilização enzimática (SERPA *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2016), sendo um resíduo atrativo

para produção de nanocelulose, devido ao teor de celulose e também pela quantidade de lignina presente na fibra, que como já citado, pode melhorar algumas propriedades das nanoestruturas. No entanto, não há na literatura estudos referentes à produção de nanocelulose utilizando o bagaço de caju como matéria – prima.

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo é de obter e caracterizar nanoceluloses a partir do bagaço de caju por diferentes processos de obtenção, avaliando a influência do pré-tratamento realizado no bagaço e nas propriedades das nanoceluloses obtidas. Também, este estudo tem como objetivo avaliar a produção de biofilmes usando a nanocelulose obtida. Para cumprir o objetivo geral, foram listados os seguintes objetivos específicos:

- Determinar a influência do pré-tratamento alcalino e ácido seguido de álcali na obtenção da nanocelulose;
- Realizar a caracterização do bagaço de caju *in natura* e após os pré-tratamentos, para avaliar as variações ocorridas na composição do material;
- Avaliar os processos de obtenção por hidrólise ácida e hidrólise enzimática, sequencial com o processo ultrassônico na obtenção e propriedades dos materiais obtidos, possivelmente com características nanométricas;
- Caracterizar as nanoceluloses obtida por análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia de varredura eletrônica (MEV), microscopia de força atômica (MFA), difração de raios X (DRX) e termogravimetria (TGA);
- Caracterizar os filmes produzidos por análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e microscopia de varredura eletrônica (MEV).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nanocelulose

A nanocelulose é um constituinte celulósico nativo com pelo menos uma de suas dimensões (diâmetro ou comprimento) com tamanho inferior a 100 nm (PHANTHONG *et al.*, 2018 ;PRADHAN, JAISWAL e JAISWAL, 2022). A celulose em escala nanométrica apresenta diferentes propriedades atrativas, como alta resistência e rigidez, baixo peso e biodegradabilidade, vasta área superficial, abundância de grupos hidroxilas, que proporciona locais ativos para ligação química com diferentes matrizes poliméricas despertando assim mais interesse no setor acadêmico e também industrial. Além disso, suas propriedades proporcionam um leque de aplicações para esse material, como reforço em materiais poliméricos, embalagens alimentares, a aplicações na área farmacêutica (PHANTHONG *et al.*, 2018; VIEIRA, 2018).

A nanocelulose pode ser extraída de uma ampla variedade de materiais, incluindo resíduos agrícolas e florestais, materiais lignocelulósicos, fontes aquáticas e resíduos industriais, além disso a utilização de nanocelulose no desenvolvimento de uma variedade de materiais sustentáveis e renováveis tem despertado considerável interesse nos últimos anos (PRADHAN, JAISWAL e JAISWAL, 2022).

As partículas celulósicas nanométricas podem ser divididas basicamente em duas famílias principais: nanofibrilas de celulose (NFCs) e nanocristais de celulose (NCCs) (GARCÍA *et al.*, 2016; MORIANA; VILAPLANA; EK, 2016). As nanoceluloses citadas possuem semelhança em suas composições químicas, no entanto, existe diferença na morfologia, tamanho de partícula, cristalinidade e também em outras propriedades, isso é ocasionado pela diferença de fontes e métodos de produção (ALMEIDA *et al.*, 2021).

Os nanocristais de celulose (NCCs) são altamente cristalinos, geralmente obtidos por hidrólise com ácidos minerais concentrados, principalmente o ácido clorídrico (HCl) ou ácido sulfúrico (H₂SO₄) (MATEO *et al.*, 2021). Os procedimentos típicos empregados para produção de nanocristais dividem-se nas seguintes etapas: (I) hidrólise de ácido forte de material celulósico puro ou após pré-tratamento sob condições estritamente controladas de tempo, temperatura, agitação e concentração do ácido; (II) Diluição com água para interromper a reação de hidrólise e lavagem repetida por centrifugação sucessiva para remoção do excesso do ácido (III) tratamento mecânico, geralmente sonicação para dispersar os nanocristais como uma suspensão estável (NETO, 2017).

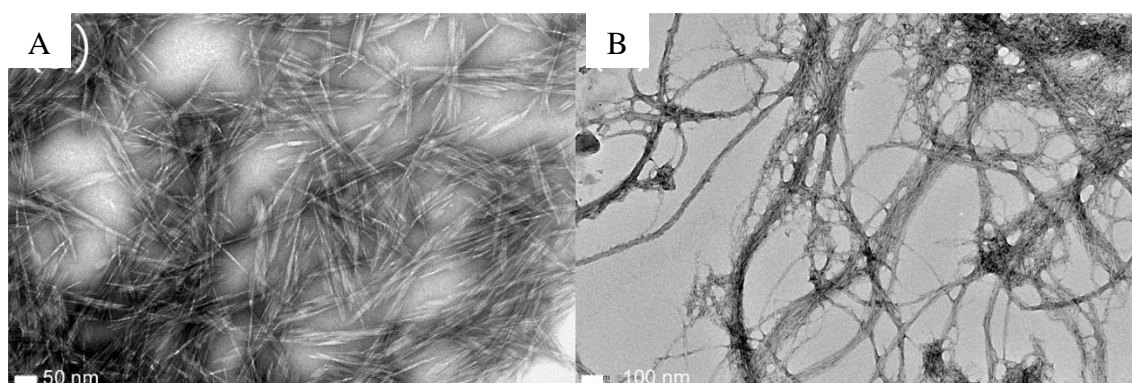
Durante o processo de hidrólise ácida ocorre degradação das regiões amorfas das cadeias de celulose, resultando nos nanocristais (YONG *et al.*, 2021). Os NCCs possuem diversas propriedades desejáveis, tanto físicas quanto químicas, como alta área de superfície, baixa densidade, alta resistência mecânica e abundância de grupos hidroxilas na superfície, os quais oferecem uma plataforma fácil para modificação química (GRISHKEWICH *et al.*, 2017; THOMAS *et al.*, 2018). Devido às diversas propriedades, os nanocristais possuem um enorme leque de aplicações, podendo ser aplicados na indústria alimentícia, cosméticos, dispositivos eletrônicos, tratamentos de água e outras possíveis aplicações com diferentes materiais compósitos (RESHMY *et al.*, 2022).

Já as nanofibras de celulose (NFC) diferentemente dos nanocristais, correspondem em regiões cristalinas e amorfas alternadas (MAZELA *et al.*, 2020). Os principais métodos de preparação de NFC são os processos químicos, biológicos e/ou mecânicos (TIAN *et al.*, 2022). A principal diferença entre as nanoceluloses NCC e NFC são a sua dimensão e cristalinidade, os NFCs consistem em misturas de cadeias de celulose amorfa e cristalina com comprimento de até vários microns, enquanto os CNCs são altamente cristalinos com comprimento tipicamente inferior a 500 nm (GARCÍA *et al.*, 2016; GRISHKEWICH *et al.*, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2021).

As nanofibras de celulose (NFCs), também conhecidas como celulose nanofibrilada, são longas (vários microns), flexíveis (apresentando ambos os tipos de região de celulose, cristalina e amorfa), nanométricas (1-100 nm de largura) (SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2020). As morfologias e dimensões dos NFCs podem variar muito dependendo dos graus de fibrilação e do pré-tratamento utilizado (XU *et al.*, 2013).

Xu *et al.* (2013) produziram NCCs e NFCs derivados de celulose branqueada de eucalipto, e para uma melhor visualização das diferenças existentes entre os dois tipos de nanocelulose (NCCs e NFCs) é possível observar uma imagem de Microscopia eletrônica de transmissão (MET) dessas nanoceluloses, as quais estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1 – Imagens de Microscopia eletrônica de transmissão dos (a) nanocristais de celulose e (b) nanofibras de celulose.



Fonte: XU et al. (2013).

De acordo com os resultados apresentados por Xu *et al.* (2013), os NCCs apresentam uma estrutura em formato de hastes (agulhas), vide Figura 1A, e o comprimento médio dessas estruturas (L) são de 151 ± 39 nm, com uma largura de 19 ± 5 nm. Os NFCs mostram uma estrutura similar a uma teia complexa, altamente emaranhada, em que pode ser observado nanofibrilas torcidas, não torcidas e algumas emaranhadas, neste caso os diâmetros variaram de 6 a 100 nm (vide Figura 1B).

Grande parte dos estudos referente a nanocelulose estão focados em utilizar a celulose sem lignina ou com baixa quantidade de lignina, normalmente valores que são menores que 5 % em peso, pois a lignina atua como um adesivo entre as fibrilas de celulose (CHEN *et al.*, 2019). Logo, alguns estudos (CHEN *et al.*, 2019; LUO *et al.*, 2021; XU *et al.*, 2021) surgiram utilizando celulose contendo lignina residual na produção de nanocelulose, o que causa uma redução no impacto ambiental, pois pode remover a etapa de pré-tratamento, ou utilizar pré-tratamentos mais brandos, já que a hemicelulose e lignina serão mantidos parcialmente preservados, acarretando também redução no uso de produtos químicos e de energia, quando comparados com a produção convencional de nanocelulose (SHU *et al.*, 2022). Além disso, a lignina residual traz mais hidrofobicidade e estabilidade térmica à nanocelulose e promove a compatibilidade com vários polímeros hidrofóbicos, levando a novos biocompósitos (CHEN *et al.*, 2019).

Apesar da nanocelulose ser um biomaterial relativamente novo, o número de aplicações potenciais é incontável e crescente, muitas delas já são uma realidade (ARANTES, 2018).

2.2 Aplicações da nanocelulose

A nanotecnologia tornou-se uma das forças motrizes por trás de grandes inovações industriais em vários campos, desde bionanocompósitos, passando por aplicações médicas, ou mesmo de sensoriamento e biossensor. Apesar da celulose ser amplamente estudada há muitas décadas, a nanocelulose surgiu como um material de destaque nas últimas décadas, conforme indicado por alguns bancos de dados amplamente utilizados, o Web of Science, o PubMed e o ProQuest (TRACHE *et al.*, 2020).

Os nanocristais (NCCs) são excelentes para modificação de superfície, de modo que possuem uma vasta área de aplicação. Há aplicações de NCCs voltadas a fabricação de nanocompósitos, liberação controlada de medicamentos no organismo, embalagem, revestimento e materiais de reforço (PHANTHONG *et al.*, 2018). Considerando o crescente interesse em sustentabilidade e nanotecnologia, a utilização de NCCs tem sido ativamente pesquisada para seu uso em sistemas de tratamento de água, como adsorção, absorção, floculação, filtração por membrana, degradação catalítica e desinfecção (SADARE *et al.*, 2022).

As nanoestruturas do tipo nanofibras de celulose possuem alta razão de aspecto (comprimento/diâmetro), dimensões em nanoescala, apresentando potencial em fornecer melhorias significativas na resistência e flexibilidade do material, bem como na resistência ao oxigênio (WANG *et al.*, 2021).

As NFCs podem ser aplicadas na incorporação de filmes de barreira, membranas para tratamento de água, dispositivos biomédicos e também em aplicações tradicionais, como embalagens, tintas, compósitos e alimentos. Além disso, devido as interações eletrostáticas e estrutura de fibrila com alta proporção, esse tipo de nanomaterial chama atenção para aplicação em hidrogel e aerogel (FRANCE; HOARE; CRANSTON, 2017). De acordo com Reshmy *et al.* (2022) os filmes derivados de NFCs apresentam qualidades de barreira superiores, e normalmente são utilizados para tecnologias de revestimento e embalagens de alimentos, esses filmes podem funcionar como uma barreira de oxigênio, o que é útil nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Na Tabela 1 é possível elencar algumas aplicações já investigadas por alguns autores.

Tabela 1 – Aplicações da nanocelulose obtida de diferente matérias-primas

Matéria-prima	Aplicação	Referência
Bagaço de cana	Filme	Reshmy <i>et al.</i> , 2021
Plantas daninhas	Gel e filmes	Almeida <i>et al.</i> , 2021
Celulose microcristalina	Biossensores	Bi <i>et al.</i> , 2016
Papel <i>Whatman</i>	Emulsões de Pickering	Hu <i>et al.</i> , 2016
<i>Acacia mangium</i>	Filme	Jasmani; Adnan, 2017
Celulose microcristalina	Emulsão pickering	Yokota <i>et al.</i> , 2019
Madeira	Gel	Nemoto, Saito e Isogai, 2015
Resíduos de serragem	Aplicação biomédica	Kalita <i>et al.</i> , 2014
Biomassas lignocelulósicas	Tratamento de água e efluentes	Sadare <i>et al.</i> , 2022

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Como pode ser observado na Tabela 1 há um amplo leque de materiais que podem ser aplicados na produção de nanocelulose. Dentre os materiais observados, nota-se a presença de alguns resíduos de biomassa, existem três tipos principais de resíduos de biomassa: resíduos agrícolas, resíduos florestais e resíduos industriais (da indústria madeireira, da indústria alimentícia, da indústria de papel e celulose e resíduos sólidos urbanos), as fontes de biomassa celulósica não madeireira, como os resíduos industriais e agrícolas, fornecem uma alternativa abundante e renovável (SADARE *et al.*, 2022). O uso de materiais renováveis e sustentáveis tornou-se gradualmente mais significativo para a produção de inúmeros produtos de valor agregado com baixo impacto ambiental (KARGARZADEH *et al.*, 2018). Esses materiais têm atraído o interesse de um grande número de estudiosos e indústrias, pois são uma resposta alternativa ao aquecimento global, à poluição ambiental, ao esgotamento de fontes não renováveis e à crise energética (SADARE *et al.*, 2022).

2.3 Lignocelulósicos como matéria-prima para a produção de nanocelulose

Utilizar materiais lignocelulósicos para obtenção de bioprodutos de alto valor agregado é uma alternativa promissora, pois estes representam uma fonte abundante e renovável de carbono. Resíduos agroindustriais como sabugo de milho, palha de arroz, bagaço de cana, bagaço de caju e outras biomassas representam fonte barata e disponível de matéria – prima.

Os materiais lignocelulósicos são uma matéria-prima renovável promissora para a produção de açúcares fermentescíveis, biocombustíveis e de produtos de alto valor agregado, como o xilitol, bioetanol, suporte para imobilização enzimática, nanocelulose, biopolímeros e hidrogéis (BORRERO-L, VALENCIA e FRANCO, 2022).

No Brasil existem diversos materiais lignocelulósicos disponíveis, isso devido à importância da agroindústria para a economia nacional. A Tabela 2 exemplifica alguns materiais lignocelulósicos e suas composições, podendo ser observado que a composição e o conteúdo desses componentes variam de acordo com as fontes de biomassa.

Tabela 2 - Porcentagem de celulose, hemicelulose e lignina de alguns materiais lignocelulósicos

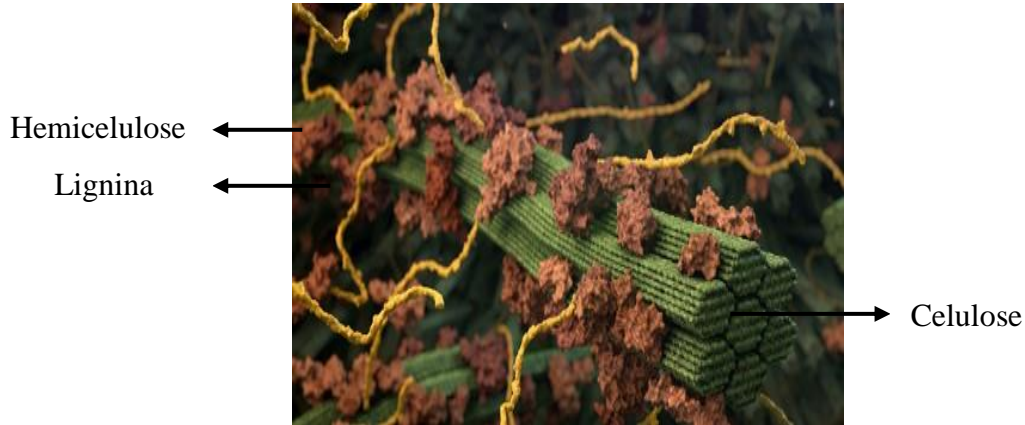
Materiais lignocelulósicos	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
Algodão	95	-	-	MEYABADI <i>et al.</i> , 2014
Bagaço da cana	45-50	17,0	21,10	ROCHA <i>et al.</i> , 2011
Bagaço de caju	18-16	12,83	43,28	REIS <i>et al.</i> , 2017
Eucalipto	40-45	15-35	21-25	VIEIRA, 2018

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Como pode ser observado na Tabela 2 os materiais lignocelulósicos são uma combinação de polímeros e carboidratos à base de celulose, hemicelulose e lignina que estão fortemente ligados por interações físicas e químicas (OKENWA *et al.*, 2020). As cadeias de celulose (polissacarídeo formado por moléculas de glicose unidas por ligações β -1,4 – glicosídicas) associadas entre si por ligações de hidrogênio que formam microfibrilas devido à sua forte interação, tornando sua natureza cristalina muito recalcitrante à degradação, que é um impedimento à hidrólise (USMAN; KIAER, 2019). A biomassa celulósica é recoberta por hemicelulose, que é polissacarídeo ramificado composto principalmente por D-xilose com poucas quantidades de L-arabinose, D-glicose, D-manose, D-galactose, ácido glucurônico e ácido manurônico, e ligninas que consistem em redes poliméricas tridimensionais formadas por unidades fenilpropano ligadas entre si (CORREIA *et al.*, 2013). Estes componentes são fortemente intercalados e associados através de ligações covalentes ou não covalentes que formam a matriz lignocelulósica (SUN *et al.*, 2016). A Figura 2 ilustra a parede celular vegetal,

composta por lignina e hemicelulose que são responsáveis por proteger a celulose contra a deterioração por agentes externos.

Figura 2 - Estrutura dos materiais lignocelulósicos.



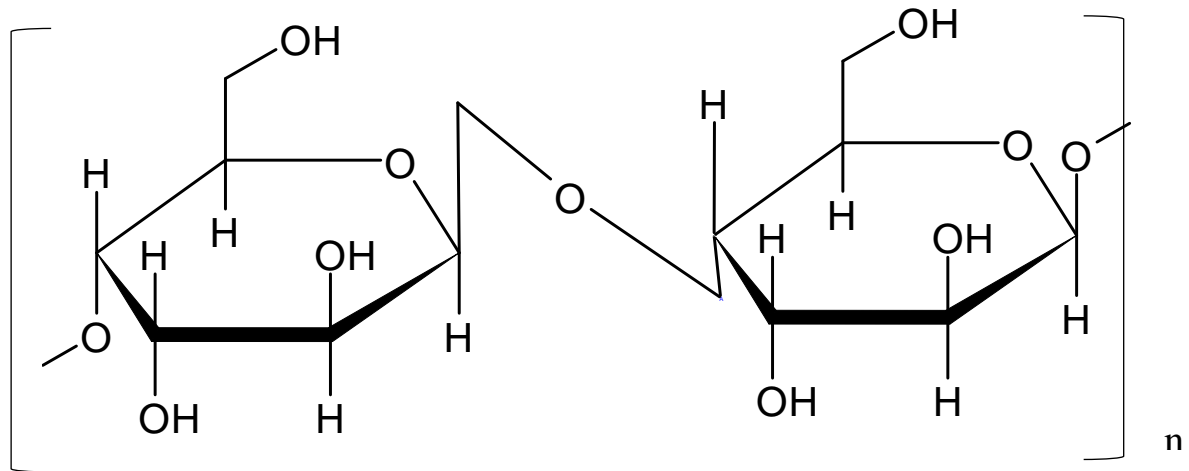
Fonte: Croucher foundation (2021).

2.3.1 Estrutura dos lignocelulósicos

2.3.1.1 Celulose

A celulose (vide Figura 3), é um recurso abundante e renovável, considerada um importante polímero natural composto por unidades de D-glucopirranose que estão associadas por ligações β -1,4 glicosídicas. A celulose consiste em regiões desordenadas (amorfias) e cristalinas, em que esta última têm grandes efeitos nas propriedades mecânicas e na taxa de degradação da celulose (CHENG *et al.*, 2017). Normalmente, existe uma quantidade considerável de celulose na forma de estado cristalino, que é compacto e altamente resistente à hidrólise química e biológica (SUN *et al.*, 2016). Na Figura 3 é possível observar a estrutura da celulose.

Figura 3 - Estrutura da celulose.



Fonte: Adaptada de Dreamstime (2017).

A fonte de celulose mais utilizada industrialmente é a madeira, pois possui uma grande disponibilidade e é utilizada em diversos campos, dentre esses a produção de papel. Outra fonte abundante é o algodão, muito utilizada na confecção de fios e roupas (LIU *et al.*, 2021). No entanto, há uma variedade de outros materiais que são compostos por celulose, como os resíduos agrícolas, resíduos de alimentos, plantas aquáticas, alguns tipos de gramíneas, farelos de arroz, farelos de trigo, bagaço de cana-de-açúcar, cascas de muitos cereais e grãos de milho, (MAITI *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2021).

Como um recurso sustentável e renovável, a celulose desperta muita atenção, e estimula os pesquisadores a desenvolver materiais a base deste material com novas funções e aplicações (KLEMM *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2020). Em destaque, têm os estudos da produção, caracterização e uso de materiais nanocelulósicos, que combinam propriedades importantes da celulose com as características dos nanomateriais (ALMEIDA *et al.*, 2021).

2.3.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um polissacarídeo heterogêneo, complexo e ramificado, possui estrutura amorfa e é composto por várias combinações heterogêneas como manose, glicose e galactose ligadas entre si pelas ligações β -1,4 – glicosídica e β -1,3 – glicosídica. O conteúdo e a estrutura química da hemicelulose podem variar com os diferentes tipos de plantas, sendo composta basicamente por pentoses, hexoses, ácidos urônicos e radicais acetila (SUN *et al.*, 2016). A principal função desse polímero é a reticulação da lignina e a implantação de resistência estrutural, conectando microfibrilas de celulose e prevenindo a degradação

microbiana (KAUR *et al.*, 2020).

Ao contrário da celulose, a hemicelulose apresenta baixa massa molecular e não contém regiões cristalinas sendo, portanto, mais facilmente hidrolisada em açúcares fermentescíveis (LIU *et al.*, 2013) e os carboidratos obtidos de sua hidrólise pode ser utilizado na obtenção de outros produtos.

Segundo Albuquerque *et al.* (2015) na estrutura da hemicelulose está presente a xilose que pode ser convertida em xilitol, um poliol com ampla aplicabilidade nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Marques e Rocha (2021) utilizaram o hidrolisado hemicelulósico do bagaço de caju como matéria-prima para produção de xilitol, com posterior recuperação e purificação do xilitol, em seguida desenvolveram um processo de cristalização desse açúcar. Santana *et al.* (2018) investigaram a cocoa (vagem do cacau) como fonte de xilose para produção de xilitol por meio da levedura *Candida boidinii* XM02G.

2.3.1.3 Lignina

De forma simplificada, a lignina é um polímero fenólico e amorfo que reticula covalentemente a celulose e as hemiceluloses por intermédio de ligações éster e éter, em que esta reticulação reduz a desintegração estrutural da biomassa (THOMAS *et al.*, 2018). A lignina é polímero natural da biomassa lignocelulósica, apresenta considerável heterogeneidade estrutural em sua composição e varia de acordo com o tipo de material lignocelulósico (SERPA *et al.*, 2020; WOOD *et al.*, 2019), é constituída de três grupos fenol que integra: p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) (FENGEL, 1989).

A lignina tem a função de conceder rigidez, resistência a ataques microbiológicos e mecânicos aos tecidos vegetais e também impermeabilidade (FERREIRA *et al.*, 2009; AZADFAR, 2015), sendo altamente resistente à hidrólise enzimática, química e microbiana por possuir extensas ligações cruzadas.

A lignina pode ser aplicada em uma ampla variedade de produtos, como suporte enzimático (SERPA *et al.*, 2021), hidrogel (RICO-GARC; RUIZ-RUBIO; LEYRE, 2020), adesivos e fibra de carbono (PADILHA *et al.*, 2020), compósitos (ZHU *et al.*, 2022). Além disso, a lignina representa o maior recurso biológico potencial para produção de polímeros de prolongamento, existindo um foco principal na obtenção de monômeros de lignina para adquirir compostos polimerizados (KAUR *et al.*, 2020).

Considerado um polímero amorfo e bastante complexo com componentes alifáticos e aromáticos que conferem rigidez às plantas, a lignina é um componente hidrofóbico dos

materiais lignocelulósicos e é considerado um termoplástico com temperatura de transição vítrea e temperatura de fusão em torno de 90 °C e 170 °C, respectivamente (EWULONU *et al.*, 2019; THOMAS *et al.*, 2015).

A lignina, quando aderida ao material lignocelulósico, é uma importante fonte de recalitrância que dificulta a conversão dos carboidratos presentes na biomassa em bioprodutos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2019). Por esse motivo, a etapa de pré-tratamento (como físico, químico, físico-químico, biológico, etc.) torna-se necessária para fracionar as estruturas da biomassa, como lignina e hemicelulose (PHANTHONG *et al.*, 2018).

Nos últimos anos, as pesquisas estavam voltadas a produção de micro/nanofibrilas de celulose sem lignina, ou seja, na remoção de todos os constituintes da lignina no material de lignocelulose. No entanto, recentemente a preparação de micro/nanofibrilas de celulose contendo lignina tem emergido como uma estratégia considerável, que pode melhorar a eficiência de utilização dos recursos lignocelulósicos (LUO *et al.*, 2021). Além disso, a lignina incorporada à nanocelulose pode fornecer algumas propriedades favoráveis, como alta estabilidade térmica, maior hidrofobicidade, atividade antioxidante e melhorar o rendimento de obtenção de nanoestruturas (SHU *et al.*, 2022).

2.4 O Agronegócio do caju e a produção de bagaço

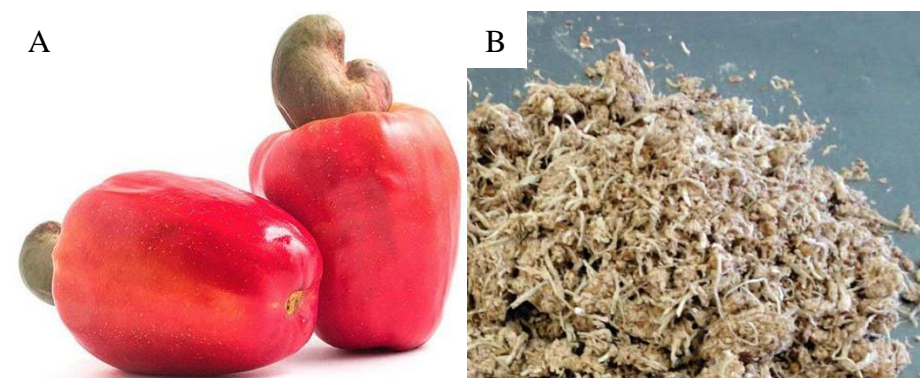
O cajueiro (*Anacardium occidentale*) é uma planta típica do Nordeste Brasileiro, com grande importância econômica e social para a região. O cajueiro possui em sua estrutura o caju (vide Figura 4A), que é constituído da castanha (fruto) e do pedúnculo (pseudofruto). (EMBRAPA, 2016; EDUARDO *et al.*, 2020).

O Brasil possuía, em 2020, 426,1 mil hectares plantados com cajueiro, localizados, principalmente, na Região Nordeste. Os principais produtores nordestinos são o Ceará, onde se encontra mais da metade da área colhida (63,5 %), Piauí e Rio Grande do Norte, cujas áreas somam 28,7 %, restando 7,8 % que ficam distribuídos entre os demais produtores dessa mesma Região (BRAINER, 2022). O Brasil é um grande produtor mundial de pedúnculo de caju, produzido por apenas quatro Países (Brasil, Mali, Madagascar e Guiana). Em 2020, a produção mundial foi de 1,35 milhão de toneladas e o Brasil participou com 81,5 % desse volume (FAOSTAT, 2022).

Nas indústrias ou minifábricas, o pedúnculo do caju (pseudofruto) é processado para obtenção do suco ou da polpa congelada, para fabricação de sucos, cajuínas e outras bebidas (COSTA, 2017). O bagaço de caju (vide Figura 4B) remanescente após esse processo

de despulpagem representa 10 % a 15 % da massa inicial do pedúnculo e é considerado uma das maiores fontes de resíduos do agronegócio brasileiro (SERPA, 2020; PADILHA *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2011), sendo composto por biopolímeros de interesse industrial, celulose, hemicelulose e lignina, formando uma estrutura complexa (CORREIA *et al.*, 2013).

Figura 4 – (A) Caju e (B) bagaço de caju.



Fonte: Embrapa (2018).

O bagaço de caju é considerado um material lignocelulósico de elevado potencial, por ser rico em carboidratos, fibras, proteínas e lipídeos, cujo aproveitamento permite a obtenção de produtos de alto valor agregado, alimentos e biocombustíveis, ampliando as oportunidades do uso do rejeito (BARROS *et al.*, 2017; REIS *et al.*, 2017).

Diversos estudos que avaliam as aplicações do bagaço de caju na obtenção de bioprodutos foram ou estão sendo investigados, em destaque, a produção de bioetanol de segunda geração (ROCHA *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2011; CORREIA *et al.*, 2015; BARROS *et al.*, 2017), produção de xilitol (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015), na imobilização e na produção de enzimas (SOUZA *et al.*, 2016; FREITAS, 2017) e como adsorvente para tratamento de efluentes (SILVA *et al.*, 2015). No entanto, não há na literatura estudos referentes à produção de nanocelulose utilizando o bagaço de caju como matéria – prima. Dessa maneira, ao longo dessa pesquisa pretende-se estudar a produção de nanocelulose utilizando o bagaço de caju, que representa uma fonte barata e disponível de material lignocelulósico.

Além disso, o uso de resíduos como matéria-prima para a produção de nanocelulose não é apenas um benefício para a redução de resíduos industriais, mas também pode levar a processos mais eficientes em termos energéticos para a geração de nanocelulose, tornando-os mais competitivos comercialmente (BERGLUND *et al.*, 2016).

2.5 Produção de nanocelulose

2.5.1 Pré-tratamento

A obtenção de nanocelulose utilizando a biomassa ocorre em duas etapas. Primeiro, o material lignocelulósico necessita de um pré-tratamento que consiga recuperar a celulose, deixando-a na forma mais pura possível. Em seguida, a celulose deverá passar por um tratamento para produção de nanocelulose (THOMAS *et al.*, 2018).

O objetivo do pré-tratamento é romper a estrutura compacta do material lignocelulósico e superar sua recalcitrância, o qual pode ser realizado usando vários métodos químicos, físicos e biológicos, além de combinação entre eles. No entanto, apesar das diferentes possibilidades de realizar o pré-tratamento, esta etapa representa mais de 40 % do custo total do processamento da matéria-prima (TRACHE *et al.*, 2020), devido aos custos envolvendo energia e produtos químicos. Outra preocupação está voltada ao impacto ambiental que os produtos resultantes do pré-tratamento podem causar (EWULONU *et al.*, 2019).

Desse modo, muitos pesquisadores estão investigando maneiras de reduzir esses impactos, seja evitando o uso dos procedimentos convencionais de pré-tratamento ou usando pré-tratamentos sem um processo de deslignificação extensa, com o intuito de reduzir o uso de produtos químicos e o consumo de energia na produção de nanocelulose, dando origem a uma nova categoria de nanomateriais, que são as nanofibras e os nanocristais de celulose contendo lignina (CHAKER *et al.*, 2013; SÁNCHEZ *et al.*, 2016; EWULONU *et al.*, 2019; HONG *et al.*, 2020). A presença de lignina nas nanoestruturas confere muitas vantagens, como estabilidade térmica aprimorada, desempenho de bloqueio de UV, propriedade de barreira à água e superfícies mais hidrofóbicas (EWULONU *et al.*, 2019; LUO *et al.*, 2021; XU *et al.*, 2021).

2.5.2 Processos de obtenção de nanocelulose

Os métodos de obtenção de nanocelulose de matrizes vegetais consistem em converter as macromoléculas de celulose, através das quebras das ligações glicosídicas, em estruturas menores com pelo menos uma dimensão na escala de nano. Existem diversos métodos de obtenção de nanocelulose, sendo os principais: hidrólise ácida (BENINI *et al.*, 2018; THEIVASANTHIA *et al.*, 2018), homogeneizador de alta pressão (STELTE; SANADI, 2009), hidrólise enzimática (MEYABADI *et al.*, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2019), e o ultrassom

combinado com um método químico (hidrólise ácida ou processo de oxidação) (MAZELA *et al.*, 2020).

O tipo de nanocelulose obtida é determinado pelas circunstâncias de processamento. Normalmente, os nanocristais de celulose (NCCs) são formados a partir de tratamentos químicos, e nanofibrilas de celulose (NFCs) são obtidas por tratamentos mecânicos ou químicos (GRISHKEWICH *et al.*, 2017).

O processo de hidrólise ácida usando o ácido sulfúrico representa o método mais eficiente para a obtenção de nanocristais de celulose, em que, durante a reação, as fibras de celulose reagem com ácido sulfúrico concentrado, hidrolisando os domínios amorfos das cadeias de celulose e liberando assim os nanocristais (ACHABY *et al.*, 2018; GRISHKEWICH *et al.*, 2017). Segundo Mazela *et al.* (2020), a combinação de tratamentos ácido com o ultrassônico leva a um aumento de mais de 20 % na cristalinidade em relação ao material de partida. No entanto, o processo de hidrólise ácida acaba apresentando algumas desvantagens como geração de resíduos corrosivos. Então, outros métodos de obtenção de nanocelulose que causam um menor impacto ambiental são avaliados, como por exemplo, a hidrólise enzimática.

O processo de hidrólise enzimática para obtenção de nanocelulose exibe várias vantagens com relação a hidrólise ácida, dentre estas, a menor formação de produtos indesejáveis e de que os equipamentos de processamento não necessitam ser resistentes a corrosão (KARIM *et al.*, 2017). Outro ponto bastante importante é que os açúcares monoméricos resultantes da hidrólise enzimática podem ser convertidos por meio fermentativo em bioetanol (BARROS *et al.*, 2017).

Desse modo, neste trabalho serão abordados os métodos de obtenção de nanocelulose por meio da hidrólise ácida, hidrólise enzimática e ultrassom, usando o bagaço de caju como matéria-prima, com o objetivo de obter nanoceluloses a partir da hidrólise ácida e da hidrólise enzimática (método menos agressivo ao meio ambiente) combinados com ultrassom, e realizar uma comparação entre as propriedades das nanoestruturas obtidas a partir dos métodos utilizados.

2.5.2.1 Hidrólise ácida

O método químico mais comum para o isolamento de nanocelulose é a hidrólise usando ácidos minerais fortes, sendo o ácido sulfúrico o mais utilizado (GEORGE *et al.*, 2022). O processo de hidrólise ocorre na celulose, os íons de hidrogênio (H^+) penetram nas moléculas de celulose amorfa promovendo a quebra das ligações glicosídicas, liberando assim cristalitos

individuais. Dependendo da fonte de celulose e, principalmente, das condições da reação de hidrólise (isto é, tipo e concentração do ácido, tempo de reação e temperatura), nanoestruturas com diferentes propriedades físicas e mecânicas podem ser produzidas (ARANTES, 2018; SIQUEIRA; DIAS; ARANTES, 2019; VASCONCELOS *et al.*, 2017).

A hidrólise ácida é um dos processos prioritários na remoção das regiões amorfas dentro das microfibrilas de celulose, sendo o ácido sulfúrico o mais utilizado (VASCONCELOS *et al.*, 2017). Alguns estudos mostram que a concentração típica de ácido sulfúrico no processo de hidrólise para extração da nanocelulose é próxima a 65 % (v/v). Moriana, Vilaplana e Ek (2016) extraíram nanocristais de celulose de resíduos florestais usando ácido sulfúrico a 65 % (v/v), a 45 °C e agitação mecânica por 40 min. Outros estudos também foram feitos, como o realizado por Mandal e Chakrabarty (2011), em que isolaram a nanocelulose usando o bagaço de cana e realizaram o tratamento com o ácido sulfúrico a 60 % (v/v), temperatura de 50 °C durante 5 h de reação. Jasmani e Adnan (2017) realizaram a preparação e caracterização da nanocelulose cristalina usando *Acacia mangium* unindo dois métodos de obtenção de nanocelulose, a hidrólise ácida foi conduzida com ácido sulfúrico 64 % (v/v) a 45 °C sob agitação constante durante 40 min, e o método de ultrassom em que após a hidrólise foi sonicada durante 25 min usando 20 % de amplitude.

Como observado nos trabalhos citados acima, os nanocristais de celulose costumam ser isolados por hidrólise com concentração de ácido sulfúrico sob condições controladas, o ácido sulfúrico é um dos ácidos inorgânicos mais utilizados devido ao seu baixo custo e também por que esse ácido pode reagir com os grupos hidroxilas na superfície dos cristalitos, permitindo sua liberação (ZHONG *et al.*, 2020).

Uma das principais vantagens de isolar o NCC por hidrólise ácida é a inserção de grupos sulfato com carga negativa que conferem alta estabilidade coloidal aos NCCs em solução aquosa (KARGARZADEH *et al.*, 2018). Apesar das vantagens, esses grupos sulfatos também geram uma baixa estabilidade térmica, o que acaba sendo uma desvantagem para esse tipo de material, outra desvantagem da hidrólise ácida é a necessidade de um maior investimento de capital, devido à necessidade de materiais mais caros para os reatores, tanques e tubulações, devido à natureza corrosiva dos reagentes, o efluente produzido é prejudicial ao meio ambiente e pode gerar maiores custos operacionais devido à necessidade de tratamentos intensivos de efluentes (RIBEIRO *et al.*, 2019). Desse modo, outros métodos de produção da nanocelulose ganham destaque, como hidrólise enzimática, tratamento mecânico e também a combinação de métodos (ácido e oxidativo, hidrólise enzimática com tratamento mecânico ou hidrólise enzimática com hidrólise ácida) (SIQUEIRA; DIAS; ARANTES, 2019).

2.5.2.2 Hidrólise enzimática

A aplicação das enzimas ganhou grande atenção na produção de produtos úteis e no desenvolvimento de novos processos, em que o método de hidrólise enzimática é uma alternativa atraente na obtenção da nanocelulose, pois é capaz de reduzir os impactos ambientais, como a alta demanda de água e a geração de resíduos químicos, já que a hidrólise enzimática ocorre a baixas condições de temperatura e pressão, sendo um processo com menor consumo energético. Além disso, esse processo beneficia a recuperação de açúcares em um processo integrado de obtenção de subprodutos (ARANTES, 2018).

As celulases são as principais enzimas que atuam como catalisadores na hidrólise da celulose. A celulase é um complexo enzimático, cujas enzimas atuam sinergicamente e estão subdivididas em três classes: endo-1,4- β -D-glucanases ou endoglucanases, que quebram as ligações glicosídicas das cadeias de celulose criando novos terminais; exo-1,4- β -D-glucanases ou celobiohidrolases, responsáveis pela ação nos terminais levando à celobiose; e 1,4- β -D-glucosidases que hidrolisam a celobiose à glicose (OGEDA; PETRI, 2010).

Alguns autores utilizaram a hidrólise enzimática como método de produção de nanocelulose. Meyabadi *et al.* (2014) utilizaram resíduo de algodão para produção de nanocelulose usando o método de hidrólise enzimática em combinação com um o ultrassom, esses autores realizaram o processo de hidrólise em tampão acetato 0,05 mol/L (pH = 4,8) a 48 °C, usando a enzima celulase a 2,3 % (v/v) e concentração de substrato de 5 g/ L por 175 h, sendo, em seguida, a suspensão do algodão hidrolisado sonicado usando uma amplitude de 50 % durante 15 min, o material resultante permaneceu em repouso por 20 min e então foi sonicado por mais 15 min, os autores conseguiram obter nanopartículas de celulose esférica, com tamanho médio de partículas de 0,526 μ m a 100 nm. Babicka *et al.*, (2021) utilizaram celulose microcristalina (Avicel e Whatman) que passou por uma hidrólise usando líquidos iônicos e em seguida um tratamento enzimático. Os resultados mostraram que a nanocelulose apresentou uma estrutura regular e esférica com diâmetros de 30 a 40 nm e exibiu menor cristalinidade e estabilidade térmica do que o material obtido após hidrólise com enzimas de *Trichoderma reesei*.

2.5.2.3 Ultrassom

O sistema ultrassom é um tipo de abordagem mecânica para produção de nanocelulose. Este método separa as fibras da parede celular usando cavitação em um ambiente

aquoso, quando as moléculas de água absorvem a energia ultrassônica aplicada, bolhas microscópicas de gás se formam, crescem e implodem na superfície da celulose (MAZELA *et al.*, 2020).

Quando a celulose passa por um tratamento ultrassônico, a estrutura da celulose fica ainda mais solta, demonstrando que houve ruptura das ligações glicosídicas mais fracas, tipo β -D- (1 \rightarrow 4). A ruptura resulta da força hidrodinâmica e da tensão de cisalhamento gerada a partir do colapso das bolhas através do processo de ultrassom (MEYABADI; DADASHIAN, 2012). O sistema ultrassom normalmente é utilizado em combinação com outro método, que pode diminuir o tamanho das partículas obtidas ou facilitar a dispersão dos nanocristais na suspensão. Mazela *et al.* (2020) estudaram a produção de nanocelulose a partir de celulose microcristalina usando dois pré-tratamentos químicos (hidrólise ácida ou oxidação) e duas durações de sonicação. A partir dos resultados obtidos verificou-se que a redução das dimensões da seção transversal da fibra ocorreu devido a exposição prolongada da celulose ao ultrassom, que resultou em nanofibras de celulose com dimensões da seção transversal das fibras variando de 22,5 a 43,8 μm .

2.6 Métodos de caracterização realizados no bagaço de caju após pré-tratamento e após métodos de obtenção de nanocelulose

A seguir serão apresentados alguns métodos utilizados para caracterização do bagaço de caju após os pré-tratamentos realizados e também para caracterizar as nanoceluloses obtidas.

2.6.1 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) age com base nas vibrações dos átomos das moléculas investigadas, em que a radiação infravermelha (IR) é absorvida pela amostra, permitindo o estudo da estrutura molecular. Quando essa radiação infravermelha é absorvida pelas moléculas na amostra, ocorrem transições entre estados de energia vibracional das ligações químicas, as ligações vibram e são capazes de se esticar, se contrair ou dobrar. Essas energias vibracionais são específicas das ligações químicas, os espectros contêm informações sobre os grupos funcionais e a estrutura química dos compostos na amostra (THEIVASANTHIA *et al.*, 2018; BOUYAN *et al.*, 2018).

A análise FTIR torna-se importante para a caracterização das amostras lignocelulósicas para que seja possível observar a mudança ocorrida na estrutura química do material após cada tratamento, bem como para obter informações relacionadas às mudanças nos grupos funcionais durante sua conversão de macro para nanoceluloses (MORIANA; VILAPLANA; EK, 2016).

Meyabadi *et al.* (2014); Benini *et al.* (2018); Chen *et al.* (2019) e George *et al.* (2022) utilizaram a análise de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier para observar as mudanças ocorridas na estrutura da matéria-prima não tratada e após a obtenção das nanopartículas, analisaram as bandas resultantes nos espectros de FTIR as quais indicaram a conversão da matéria-prima em nanoestruturas.

2.6.2 Difração de raios X

No ano de 1895 William Röntgen descobriu os raios x, os quais foram determinados como radiações eletromagnéticas cujo comprimento de onda varia de 0,1 a 100 Å. A técnica de Difração de raios x baseia-se no uso dessas radiações de forma controlada em um equipamento para se obter informações sobre as propriedades de um determinado material (GERMANO; NUNES, 2008). A análise de difração de raios x é uma técnica vastamente usada no estudo de materiais, a qual fornece informações qualitativas e quantitativas, sendo utilizada para investigar a cristalinidade, teor de cristalinidade e as alterações que ocorrem na estrutura do material durante os processos (MEYABADI *et al.*, 2014).

O uso da técnica de Difração de raios X no estudo de nanocelulose torna-se importante pois com o uso dos difratogramas é possível analisar a cristalinidade dos materiais lignocelulósicos, e também é possível detectar se ocorreu remoção das regiões amorfas e a possível formação de nanocristais, por meio da ocorrência do aumento na cristalinidade do material. Alguns estudos utilizaram essa técnica (ROSA *et al.*, 2010; VASCONCELOS *et al.*, 2017; MORIANA, VILAPLANA e EK, 2016) e observaram que os nanocristais obtidos apresentaram um maior índice cristalino.

2.6.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica é uma técnica que acompanha a variação da massa da amostra, em função da temperatura. Já a derivada da termogravimetria (DTG), nada mais é do que um arranjo matemático, no qual a derivada da variação da massa em relação a temperatura

ou tempo (CAVALHEIRO, 2012). Além disso, essa análise pode fornecer informações sobre o comportamento dos materiais diante de um aumento progressivo de temperatura. Usando os gráficos como auxílio, é possível analisar e realizar uma comparação entre as curvas de picos e com isso observar o comportamento dos tratamentos feitos na matéria – prima. Essa técnica também permite determinar qual a temperatura máxima em que a amostra adquire uma composição química fixa, a temperatura que acontece a decomposição e as reações, como desidratação, oxidação, combustão, decomposição, entre outras (VIEIRA, 2018).

O estudo térmico pode fornecer informações sobre a estabilidade térmica da nanocelulose (AMANI, SAMI e REZAEI, 2021). Essas informações podem auxiliar na aplicação em que a nanoestrutura será direcionada, e também analisar as alterações térmicas que o método utilizado na produção de nanocelulose pode causar na estrutura obtida. Tanpichai e Oksman (2016) utilizaram nanocristais como reforço para hidrogéis de álcool polivinílico (PVA), o efeito do NCC nas propriedades térmicas dos hidrogéis foi avaliado e constatou-se que a incorporação de nanocristais não afetou a estabilidade térmica dos hidrogéis, essa análise juntamente com as demais caracterizações realizadas indicou que os hidrogéis CNC-PVA apresentam potencial para uso em aplicações biomédicas e de engenharia de tecidos. Chen *et al.* (2019) produziram nanocelulose via hidrólise ácida usando o resíduo da casca de pera (*Pyrus pyrifolia L.*) como matéria-prima, realizaram a análise de termogravimetria que resultou em uma menor estabilidade térmica das nanoceluloses em comparação com o resíduo de casca da pera, esse resultado foi atribuído a presença de grupos sulfato na superfície das nanoestruturas, o que ocasionou o efeito catalítico no mecanismo de decomposição térmica e tornou a amostra de nanocelulose menos resistente à pirólise.

2.6.4 Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV)

A Microscopia de varredura eletrônica (MEV) é uma das técnicas mais versáteis disponíveis para a observação e análise das características microestruturais de materiais sólidos (CAMPOS FILHO, 2015). O microscópio eletrônico de varredura utiliza um feixe de elétrons com pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente. Por um sistema de bobinas de deflexão, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície da amostra segundo uma malha retangular. O sinal de imagem resulta da interação do feixe incidente com a superfície da amostra. O sinal recolhido pelo detector é usado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação. A

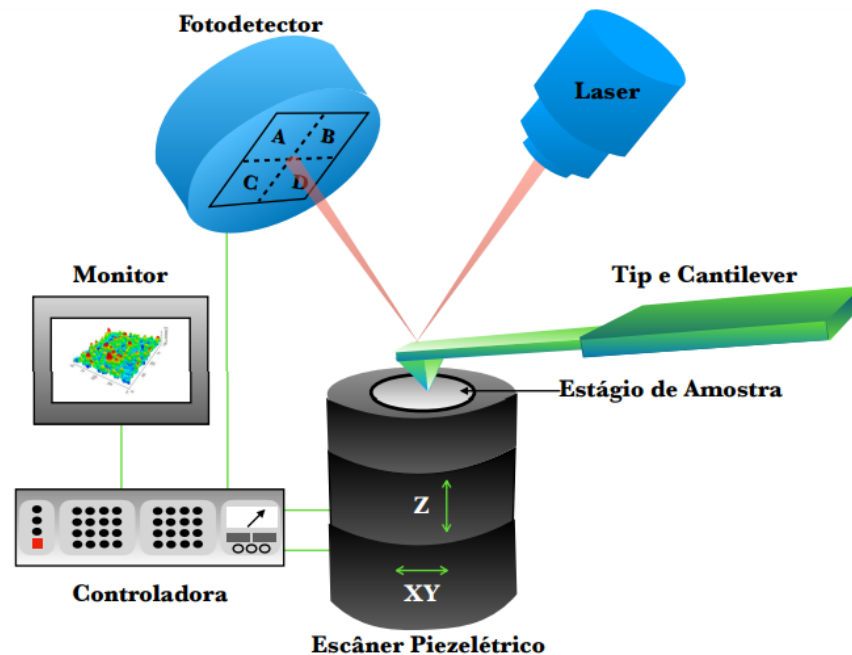
imagem formada a partir do sinal captado na varredura eletrônica de uma superfície pode apresentar diferentes características, uma vez que a imagem resulta da amplificação de um sinal obtido de uma interação entre o feixe eletrônico e o material da amostra.

A técnica de microscopia de varredura eletrônica é bastante utilizada para obter características morfológicas das nanoestruturas. O trabalho desenvolvido por Babicka *et al.* (2021) resultou em nanocelulose produzida via hidrólise com líquidos iônicos (acetato de 1-etil-3-metilimidazol (EmimOAc) e cloreto de 1-alil-3-metilimidazólio (AmimCl)) a partir de celuloses microcristalinas (Avicel e Whatman) submetidas a pré-tratamento enzimático. A morfologia das nanoestruturas foi estudada usando a técnica de MEV, com as imagens obtidas foi possível concluir que as nanoestruturas possuíam formatos esféricos. Outros estudos também utilizaram essa técnica nas análises morfológicas (MEYABADI *et al.*, 2014; VASCONCELOS *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2021).

2.6.5 Microscopia de Força Atômica (MFA)

A microscopia de varredura de força atômica é bastante diferente das demais técnicas de microscopia. Um microscópio de varredura por sonda consiste em um conjunto de instrumentos compostos basicamente de sonda sensora, cerâmicas piezelétricas utilizadas para posicionar a amostra em relação a sonda, circuitos de realimentação para o controle da posição vertical da sonda e um computador para realizar a movimentação dos scanners de varredura, armazenar os dados extraídos nas medidas e os converter em imagens por meio de um software específicos (SARID,1994). Na Figura 5 é possível observar o esquema de funcionamento de um Microscópio de Força Atômica.

Figura 5 - Esquema de funcionamento de um Microscópio de Força Atômica e seus componentes.



Fonte: Cedida por Luciana Alencar (2021).

A MFA é usada regularmente para medir não apenas topografia, mas também propriedades mecânicas, superficiais e químicas de todos os tipos de moléculas, nanopartículas e materiais. Além disso, a MFA tem sido usado como uma ferramenta para litografia, gravação e deposição para criar padrões de micron a nanoescala, e tem sido também uma das principais técnicas de capacitação no desenvolvimento de nanociência e nanotecnologia (HU *et al.*, 2016).

A microscopia de força atômica também é uma técnica de análise de morfologia, no entanto, apresenta algumas vantagens, que em geral, são: maior resolução, imagem em 3 dimensões e não há a necessidade de recobrimento condutivo. Bondancia *et al.* (2022) utilizaram a técnica de MFA para analisar a morfologia, o diâmetro e comprimento das nanoestruturas que foram obtidas a partir da polpa de eucalipto via hidrólise enzimática. Berglund *et al.* (2016) estudaram a produção de nanofibras de celulose por meio da moagem ultrafina, usando dois diferentes bioresíduos industriais: resíduos da indústria de suco (cenoura) e do processo cervejeiro, para esse estudo a técnica de microscopia de força atômica também foi utilizada nas estruturas e foi possível obter o comprimento e diâmetro das nanoestruturas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material lignocelulósico

Neste estudo, utilizou-se o bagaço de caju (BC), gentilmente cedido pela Empresa Brasileira de Bebidas e Alimentos S/A - Indústria EBBA, localizada em Aracati – CE. O procedimento inicial foi realizado de acordo com a metodologia desenvolvida por Rocha *et al.* (2009), no qual o bagaço de caju foi lavado três vezes com água, seco a 60 °C durante um período de 24 h em estufa com circulação de ar (Tecnal, TE-394/1). Na sequência, o material foi triturado com o moinho de bolas (Tecnal, R-TE-250) e peneirado. As partículas com diâmetro entre 0,25 mm e 0,84 mm foram selecionadas e utilizadas nos experimentos. O material resultante desse procedimento foi nomeado como BC.

3.2 Pré-tratamento do material lignocelulósico

Após o procedimento inicial (conforme descrito no item 3.1), foram realizados diferentes pré-tratamentos no bagaço de caju, com o objetivo de remover ou diminuir a quantidade de lignina e de hemicelulose. Foi realizado o pré-tratamento alcalino (PTA) e o pré-tratamento ácido seguido de álcali (PT-HA), as condições operacionais estão apresentadas a seguir.

3.2.1 Pré-tratamento alcalino

Este procedimento foi realizado de acordo com a metodologia adotada por Theivasanthia *et al.* (2018). Inicialmente o bagaço de caju foi adicionado a uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) de 1,25 mol/L, com uma concentração de sólidos de 5 % (m/v), em frascos Erlenmeyers de 250 mL. Após, o material foi pré-tratado sob agitação constante a 150 RPM e 28 °C durante 4 h. Em seguida, a fração sólida foi separada e os sólidos lavados e filtrados sucessivas vezes com água destilada até obter um pH neutro. Este procedimento foi repetido utilizando a concentração de sólidos de 10 % (m/v) do bagaço de caju, com o intuito de avaliar como essa variação pode impactar na produção de nanocelulose. O bagaço de caju pré-tratado por estes métodos foi nomeado por BC-PTA-5 e BC-PTA-10, usando as massas iniciais de 5 % e 10 % m/v, respectivamente.

3.2.2 Pré-tratamento ácido seguido de álcali

A realização deste procedimento foi dividida em dois estágios, ambos seguindo a metodologia de Rocha *et al.* (2009). No primeiro estágio, para realização do pré-tratamento ácido, o bagaço de caju foi imerso em solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 0,6 mol/L, com uma concentração de sólido de 20 % (m/v), em frascos Erlenmeyers de 250 mL. Posteriormente, o material sofreu um tratamento térmico em autoclave a 121 °C durante 30 minutos. A fração sólida resultante foi separada e lavada com água destilada para retirada do excesso de ácido. O material obtido desta etapa foi nomeado como BC-PT-H.

No segundo estágio, o material BC-PT-H foi pesado ainda úmido, levando em consideração o teor de umidade para uma concentração de sólidos 20 % (m/v). E então, o material foi imerso em solução de NaOH 1 mol/L, em frascos Erlenmeyers de 250 mL. Em seguida, o material sofreu tratamento térmico a 121 °C em autoclave por 30 minutos. O material pré-tratado foi lavado com água destilada até neutralização do pH, seco a 60 °C por 24 h, triturado e as partículas que ficaram retidas entre os Mesh 20-80 (correspondendo a 0,25-0,84 mm) foram selecionadas e estocadas a temperatura ambiente. O BC pré-tratado por este método foi nomeado como BC-PT-HA.

3.3 Caracterização química do bagaço de caju *in natura* e após realização dos pré-tratamentos, segundo protocolo da NREL

A análise composicional do bagaço de caju (BC) *in natura* e pré-tratado por método alcalino (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e por ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) foi realizada segundo as metodologias desenvolvidas pela organização Norte-americana de Energias Renováveis - NREL (*National Renewable Energy Laboratory*) (SLUITER *et al.*, 2008a; SLUITER *et al.*, 2008b; SLUITER *et al.*, 2012).

3.3.1 Determinação de sólidos totais

Para determinação dos sólidos totais, adicionou-se 3 g ± 0,1 mg da amostra em um cadinho que em seguida foi colocado na estufa a 105 °C, permanecendo até peso constante. A percentagem de sólidos totais (ST) foi determinada segundo a Equação 1.

$$\% \text{ Sólidos Totais} = \left[1 - \frac{(m_{\text{úmida}} - m_{\text{seca}})}{m_{\text{úmida}}} \right] \times 100 \quad (1)$$

3.3.2 Determinação de extraíveis

A percentagem dos extraíveis do material lignocelulósico foi determinada realizando a extração de 3 g da amostra, adicionado em cartuchos de papel, sendo realizada a extração com 80 mL de etanol 95 % (adicionado em emboilers) em um aparelho do tipo Soxhlet (Tecnal, TE – 044-5/50) a 80 °C por 8 h. Realizada a extração, os emboilers foram adicionados em estufa a 60 °C por 24 h. Para determinar a percentagem de extraíveis no material, foi utilizado a Equação 2, sendo m_i a massa inicial do emboiler, m_f a massa final do emboiler e ST a percentagem de sólidos totais (SLUITER *et al.*, 2008b).

$$\% \text{ Extraíveis} = \frac{(m_i - m_f)}{ST} \times 100 \quad (2)$$

3.3.3 Determinação do teor de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas

3.3.3.1 Hidrólise do bagaço de caju usando ácido sulfúrico

A análise estrutural, dos carboidratos (celulose e hemicelulose) e lignina, foi feito de acordo com o protocolo NREL/TP-510-42618 (SLUITER *et al.*, 2012), via hidrólise ácida. Os materiais obtidos após a extração de ceras e gorduras, conforme descrito no item 3.3.2, foi utilizado neste procedimento.

Inicialmente, 1 g da amostra (item 3.3.2), foi adicionada à 3 mL de H₂SO₄ 72 % (v/v), que ficou sob agitação durante 1 h a 30 °C. Passado esse período, foi adicionado 84 ± 0,04 mL de água deionizada, em seguida, foi aquecido em autoclave por 1 h a 121 °C e 1,05 atm. Os tubos foram retirados e a solução filtrada em filtro com placa porosa n° 2. A fração líquida foi armazenada para análises posteriores de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e lignina solúvel, e a fração sólida foi utilizada para a determinação de lignina insolúvel em ácido e cinzas, conforme metodologia reportadas nos tópicos 3.3.3.2, 3.3.3.3 e 3.3.3.4.

3.3.3.2 Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural na fração líquida

A fração líquida do hidrolisado foi analisada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Waters, Milford, MA, E.U.A.), usando a coluna Aminex HPX-87H (Bio Rad, Hercules, CA, USA). O eluente foi H₂SO₄ 5 mmol/L em água deionizada (MiliQ, Millipore) com vazão de 0,5 mL.min⁻¹ a 65 °C.

Para determinação de celulose e hemicelulose utilizaram-se as concentrações de carboidratos e ácidos orgânicos obtidos, usando-se os fatores de conversão para converter a massa desses compostos em massa de celulose e hemicelulose. Esses fatores são baseados na estequiometria de conversão em seus compostos precursores (celulose e hemicelulose). (SLUITER *et al.*, 2012). As Equações (3) e (4) apresentam as expressões utilizadas para determinar a percentagem de celulose e hemicelulose, respectivamente. Sendo ST os sólidos totais.

$$\text{Celulose (\%)} = \frac{m_{\text{celobiose}} \cdot 0,95 + m_{\text{glicose}} \cdot 0,90 + m_{\text{ac.fórmico}} \cdot 3,09 + m_{\text{HMF}} \cdot 1,29}{ST} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Hemicelulose (\%)} = \frac{m_{\text{xilose}} \cdot 0,88 + m_{\text{arabinose}} \cdot 0,88 + m_{\text{ac.acético}} \cdot 1,37 + m_{\text{furfural}} \cdot 0,72}{ST} \times 100 \quad (4)$$

3.3.3.3 Determinação de lignina solúvel em ácido e cinzas

A quantidade de lignina solúvel foi determinada usando a medida da absorbância com o comprimento de onda de 240 nm em espectrofotômetro. A lignina solúvel em ácido sulfúrico (LSAS) foi determinada a partir da Equação 5, sendo UV_{abs} a média da absorbância da amostra a 240 nm, V_{filtrado} é o volume de filtrado final utilizado na hidrólise (87 mL), fd é fator de diluição utilizado para diluir a solução caso a absorbância seja maior que 1,0, ε é a absorvidade da biomassa no comprimento de onda avaliado (25 L.g⁻¹.cm⁻¹) e ST sólidos totais em unidade de massa.

$$\text{LSAS \%} = \frac{UV_{\text{abs}} \cdot V_{\text{filtrado}} \cdot fd}{ST} \times 100 \quad (5)$$

3.3.3.4 Determinação de cinzas e lignina insolúvel em ácido

O funil com a fração sólida, considerada como a lignina insolúvel, foi seco em estufa a 105 °C até peso constante. Para determinação das cinzas, o funil com a lignina residual foi colocado na mufla a 575 °C, com o seguinte programa de rampa de temperatura: da temperatura ambiente a 105 °C com aquecimento a 10 °C/ min por 12 minutos, de 105 °C a 250 °C usando 10 °C/minuto e permanência de 30 min, de 250 °C a 575 °C com aquecimento a 20 °C/minuto e permanência de 180 minutos, em seguida resfriamento para 105 °C até as amostras serem removidas para um dessecador. As percentagens de resíduo insolúvel em ácido (RIA – lignina insolúvel mais cinzas) e lignina insolúvel (LIA) foram calculadas segundo as Equações (6) e (7), respectivamente.

$$\text{RIA \%} = \frac{(m_{\text{filtro+resíduos}} - m_{\text{filtro}})}{ST} \times 100 \quad (6)$$

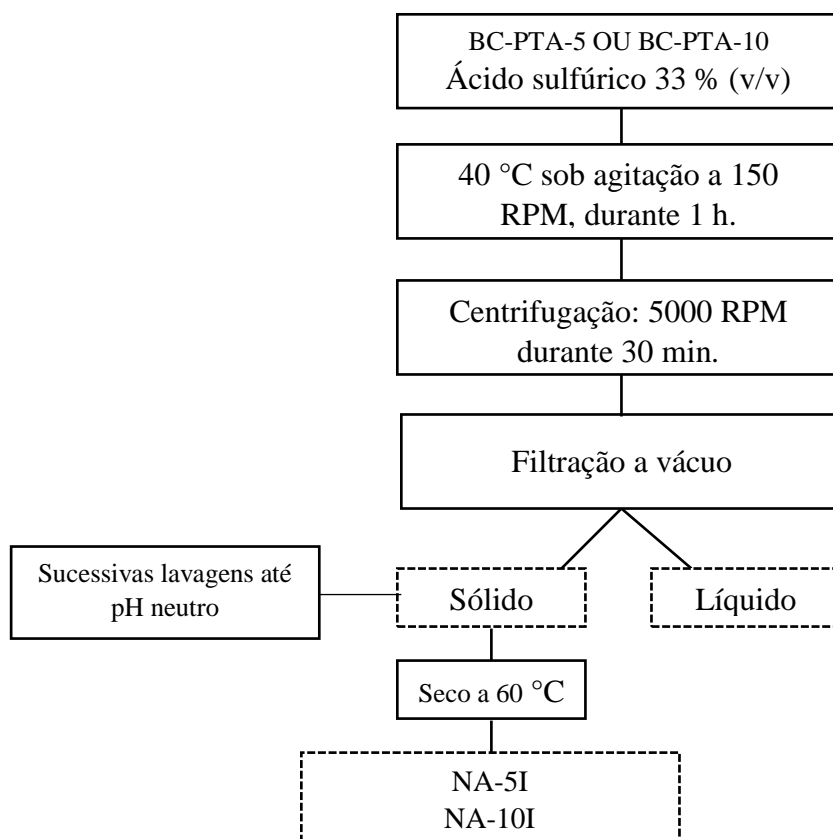
$$\text{LIA \%} = \frac{(m_{\text{filtro+RIA}} - m_{\text{filtro}}) - (m_{\text{filtro+cinza}} - m_{\text{filtro}})}{ST} \times 100 \quad (7)$$

3.4 Produção de nanocelulose

3.4.1 Hidrólise ácida: Método I

O método I foi realizado de acordo com Theivasanthia *et al.* (2018). Inicialmente, o bagaço de caju resultante do tratamento alcalino (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) foi adicionado à solução de ácido sulfúrico 33 % (v/v), usando a proporção mássica de 10 % (m/v), em seguida aquecida a 40 °C, sob agitação constante a 150 RPM, durante 1 hora. A solução resultante foi centrifugada a 5000 RPM por 30 min, depois lavada e filtrada sucessivas vezes até obtenção de pH neutro. A fração sólida foi seca a 60 °C e intitulada como NA-5I e NA-10I. Na Figura 6 pode ser observado o esquema desse procedimento experimental.

Figura 6 – Esquema de produção da nanocelulose usando o bagaço de caju após pré-tratamento alcalino como matéria-prima para obtenção de nanocelulose usando o método I.



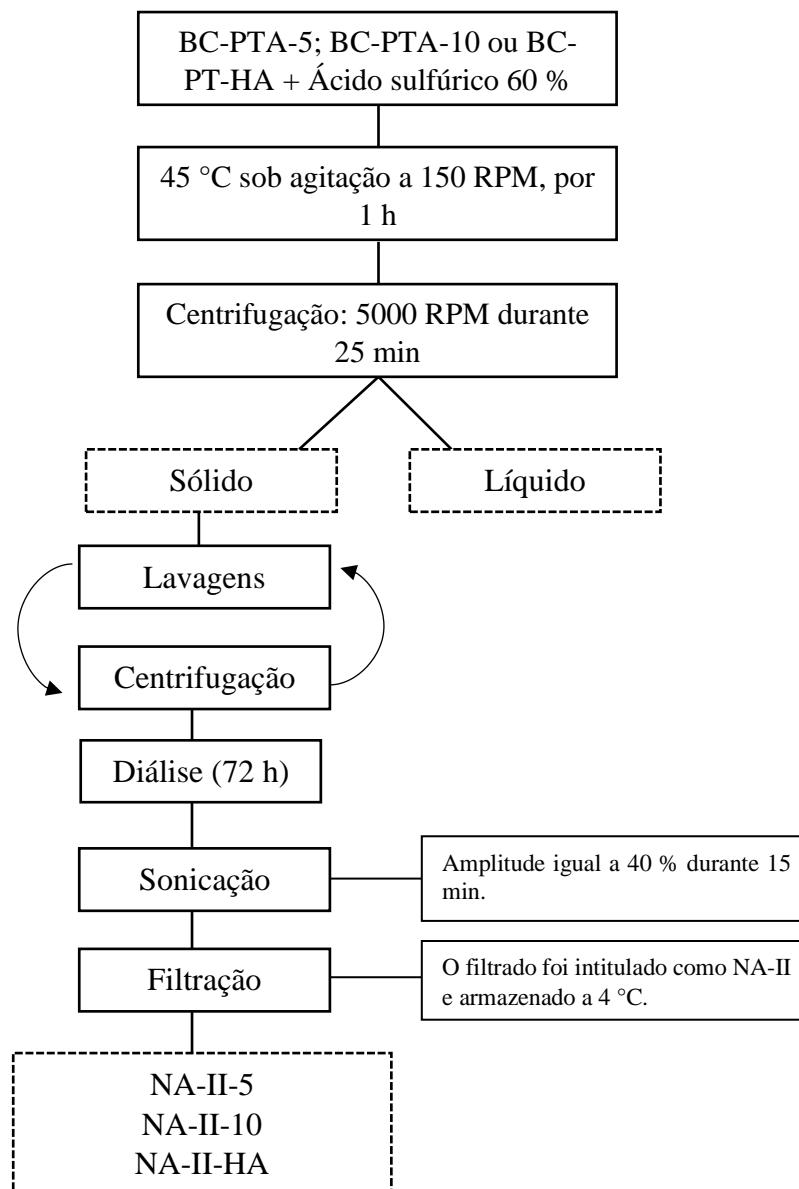
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

3.4.2 Hidrólise ácida sequencial com processo ultrassônico: Métodos II e III

Para realização do método II, o bagaço de caju pré-tratado pelos diferentes métodos (BC-PTA-5; BC-PTA-10 e BC-PT-HA) foi colocado em solução ácida usando a proporção de 1 g de bagaço para 17,5 mL de ácido sulfúrico 60 % (v/v). Em seguida, a solução foi agitada constantemente a 150 RPM e 45 °C durante 1 hora, sendo nomeado este método de obtenção de nanocelulose por Método II (adaptado de MANDAL; CHAKRABARTY (2011)). Para a primeira lavagem do material resultante foi adicionado água destilada até 5 vezes o volume inicial e em seguida a solução foi centrifugada a 5000 RPM durante 25 min, por 4 vezes. O precipitado resultante foi dialisado por 72 h a fim de se obter pH = 6. Após esse processo, o material foi sonificado em uma ponteira ultrassônica (Qsonica Sonicators - EUA) por 15 min (com pulse de 5s), amplitude de 40 % (potência 500 W) em banho de gelo para evitar o superaquecimento. Em seguida, foi filtrado a vácuo usando filtro sinterizado (número 2) e o material filtrado foi intitulado como NA-II, sendo representado por NA-II-5; NA-II-10 e NA-

II-HA, quando se usou o BC-PTA-5, BC-PTA-10 e BC-PT-HA, respectivamente, sendo estes materiais armazenados no refrigerador a 4 °C. Para melhor compreensão do procedimento experimental foi elaborado um esquema que pode ser observado na Figura 7. O mesmo método foi realizado, porém com o tempo de exposição da matéria-prima com o ácido sulfúrico diferente, sendo 5 h, e este método foi nomeado de Método III. Os materiais resultantes obtidos usando o BC-PTA-5, BC-PTA-10 e BC-PT-HA foram intitulados como NA-III-5; NA-III-10 e NA-III-HA, respectivamente.

Figura 7 – Esquema de produção da nanocelulose usando o bagaço de caju após pré-tratamento alcalino e ácido seguido de álcali como matéria-prima, usando o método II.



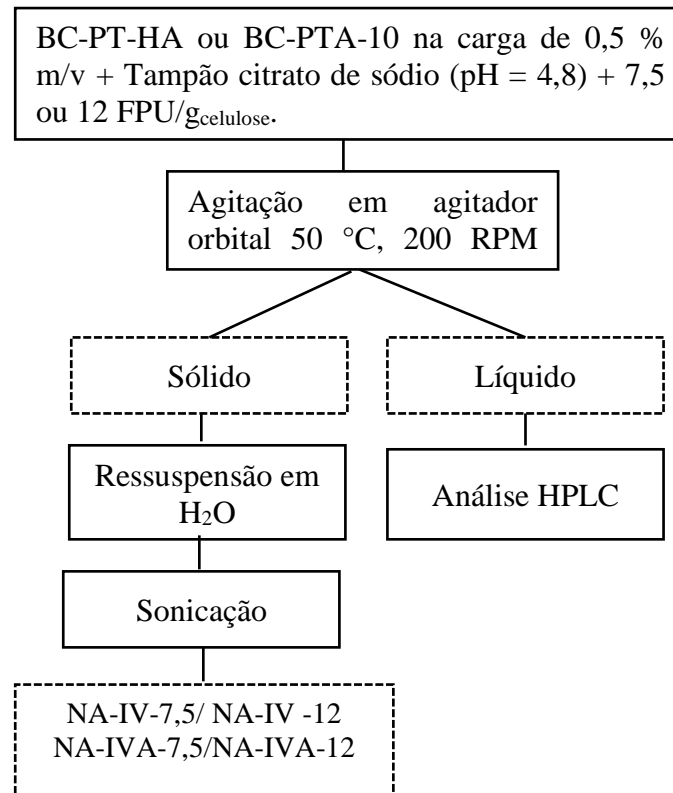
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

3.4.3 Hidrólise enzimática sequencial com processo ultrassônico: Métodos IV e V

A hidrólise enzimática sequencial com processo ultrassônico, aqui nomeada de Método IV, foi realizada no bagaço de caju pré-tratado pelo método alcalino (BC-PTA-10) e no bagaço pré-tratado pelo método ácido seguido de álcali (BC-PT-HA), de acordo com a metodologia proposta por Meyabadi *et al.* (2014) e Meyabadi e Dadashian (2012), com algumas modificações.

A hidrólise enzimática do bagaço pré-tratado (BC-PTA-10 ou BC-PT-HA) foi realizada em tampão citrato de sódio 50 mM (pH = 4,8) a 50 °C e 200 RPM durante 24 h usando uma com carga de BC de 0,5 % (m/v), usando o extrato enzimático comercial de *Trichoderma reesei* ATCC 26921 (Sigma Aldrich) com carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} ou 12 FPU/g_{celulose}. Para evitar o crescimento microbiano durante a hidrólise enzimática, foi adicionada 40 µL tetraciclina (10 mg/mL em 70 % etanol). Após o tempo decorrido, o material foi aquecido a 100 °C durante 10 minutos para desnaturar a enzima cessando a hidrólise enzimática. A suspensão resultante foi submetida a centrifugação a 5000 RPM durante 20 minutos e o material precipitado foi ressuspensionado em água destilada. Essas dispersões aquosas, contendo os nanocristais, foram sonicadas utilizando a ponteira ultrassônica (potência 500 W), 40 % de amplitude, durante 15 minutos (pulse 5s). O material resultante oriundo do BC-PT-HA foi intitulado como NA-IV-7,5 e NA-IV-12, e do BC-PTA-10 foi nomeado como NA-IVA-7,5 e NA-IVA-12. O método de hidrólise enzimática V variou apenas o tempo de reação com relação ao método IV, que passou a ser de 48 h, os materiais resultantes foram intitulados como NA-V-7,5; NA-V-12; NA-VA-7,5 e NA-VA-12. Na Figura 8 encontra-se o esquema do procedimento para melhor compreensão.

Figura 8 – Esquema de obtenção da nanocelulose usando o bagaço de caju pré-tratado por álcali (BC-PTA-10) e ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) pelo método de hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico - método IV.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

3.5 Liofilização

Para realização das análises de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Termogravimetria (TGA) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), as possíveis nanoestruturas da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (método II e III) e hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (IV e V) foram liofilizadas. A liofilização das amostras ocorreu em liofilizador (Liobras, modelo K105), sob vácuo mínimo de 500 uHg e -100 °C.

3.6 Rendimento das nanoceluloses

As suspensões obtidas após realizado os métodos de obtenção de nanocelulose foram secas em balança de infravermelho (Marte-ID2000) a 105 °C, em duplicata, para

obtenção da massa seca. Com esse valor, foi possível calcular os rendimentos do material obtido após os métodos de obtenção de nanocelulose. Os rendimentos foram calculados em relação ao bagaço pré-tratado (R_{BT}), que foi determinado de acordo com a Equação (8).

$$R_{BT}(\%) = \frac{m_N}{m_{BT}} * 100 \quad (8)$$

Sendo:

R_{BT} - Rendimento em relação à biomassa pré-tratada; m_N - massa de nanocelulose resultante após método de obtenção; $m_{inicial}$ - massa de biomassa pré-tratada usada na hidrólise.

3.7 Determinação dos carboidratos

Após os métodos de hidrólise enzimática foi obtido uma fração sólida (possíveis nanoestruturas) e uma fração líquida, detentora dos açúcares (glicose, celobiose e xilose) que foram analisados por cromatografia de alta eficiência (CLAE), usando um sistema CLAE Waters (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com um índice detector de refração Waters 2414. As concentrações dos açúcares foram analisadas utilizando a coluna Aminex HPX-87H, o eluente usado foi H_2SO_4 a 5 mmol/L em água deionizada a um fluxo volumétrico de 0,5 mL/min sob uma temperatura de 65 °C.

3.8 Métodos de caracterização realizados no bagaço de caju após pré-tratamento e após métodos de obtenção de nanocelulose

3.8.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram realizadas em um espectrômetro de infravermelho por transformada de fourier, utilizando um equipamento Cary 630 da Agilent Technologies, que possibilita análises de sólidos e líquidos. As amostras do bagaço antes e após pré-tratamento, das nanoceluloses e dos filmes foram inseridas diretamente no espectrômetro. Os espectros de transmitância foram coletados no comprimento de onda na faixa de 650-4000 cm^{-1} , com resolução espectral de 1 cm^{-1} e 32 scans.

3.8.2 Análise de difração de raios X (DRX)

A análise de difração de raios X foi utilizada para investigar a cristalinidade e as mudanças estruturais do bagaço de caju obtido após os pré-tratamentos (BC-PT-HA, BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e as possíveis nanoceluloses obtidas usando o método (I). A técnica DRX foi realizada em alto ângulo, usando difratômetro Panalítico, modelo X'Pert Pro (MPD), radiação $\text{CoK}\alpha$ ($\lambda = 1,7889\text{\AA}$), operado a 40 kV e 40 mA.

O DRX de alta resolução foi obtido com um monocromador híbrido de feixe paralelo, produzindo um feixe paralelo altamente monocromático. As medições foram obtidas para 2θ entre 10° a 100° , um passo de $0,013^\circ$ e um tempo de 200 s por passo.

O Índice de cristalinidade (CRL) foi calculado segundo o método empírico de Segal (Segal *et al.*, 1959) usando a equação 9, a partir dos dados obtidos de intensidade de difração, nos ângulos $2\theta = 18^\circ$ e $2\theta = 25,7^\circ$. Essa equação também foi adotada por Theivasanthia *et al.* (2018) e Meyabadi *et al.* (2014):

$$\text{CRL} = \left(\frac{I_c - I_a}{I_c} \right) * 100 \quad (9)$$

Sendo, I_c – a intensidade máxima da difração do pico da rede em $2\theta \approx 25,7^\circ$ e I_a – a intensidade mínima do material amorfo ($2\theta \approx 18-19^\circ$).

3.8.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas das amostras do bagaço de caju após os pré-tratamentos (BC-PT-HA, BC-PTA-5 e BC-PTA-10), e após as possíveis nanoestruturas obtidas usando o método I (NA-5I e NA-10I), o método III (NA-III-5 e NA-III-10) e o método IV (NA-IV-7,5 e NA-IVA-7,5), foram realizadas em um analisador térmico STA 6000 Perkin Elmer. Nos ensaios foram usadas massas das amostras de aproximadamente 5 mg adicionadas em cadinho de platina, atmosfera inerte de nitrogênio de 50 mL/min, com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, no intervalo de temperatura de 30°C a 500°C . Os resultados foram expressos por meio das curvas de TGA e pela sobreposição da curva de DTG (*Derivative Thermogravimetry*), derivada da primeira curva.

3.8.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras do bagaço de caju após pré-tratamento (BC-PTA-HA, BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e das possíveis nanoestruturas foram inicialmente depositadas em fita de carbono, seguida do processo de metalização, no qual as amostras foram revestidas e metalizadas com ouro de 20 nm, utilizando pulverização através do metalizador QT150 ES – Quorume. Posteriormente, as imagens de Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram feitas usando o Quanta 450 FEG-FEI com um feixe de elétrons incidente de 20 kV.

3.8.5 Microscopia de Força Atômica (MFA)

A Microscopia de força atômica (MFA) foi realizada para avaliar a morfologia, adesão, tamanho, diâmetro e a altura das nanoceluloses obtidas. Inicialmente, as amostras foram depositadas em mica previamente clivada com o auxílio de um capilar de vidro e deixadas para secar até que o filme de nanopartículas fosse formado. Em seguida foram levadas para o microscópio de força atômica modelo MM8 Bruker e analisadas no modo de varredura *Quantitative Nanomechanics* (QMN). As sondas utilizadas foram do modelo *Scanasyst Air*, com constante de mola 0,4 N/m, velocidade de varredura de 0,5 Hz e resolução de imagem de 256 x 256 *samples per line* e um total aproximado de 65.000 curvas de força para cada varredura.

3.9 Produção de filmes

Os filmes foram preparados de acordo com a metodologia desenvolvida por Yuan e Chen (2021). Inicialmente foi preparado um filme controle usando amido. A solução de amido (2,5 % m/v) foi dissolvida em água destilada a 70 °C com agitação constante para obtenção de suspensões uniformemente dispersas. Em seguida, glicerina (1,3 % m/v), que funciona como material plastificante, foi adicionada à solução de amido e aquecida a 90 °C por 30 min para dispersar a solução homogeneamente. Em seguida, cerca de 54 mL da suspensão de amido contendo glicerina foram moldados em um molde de politetrafluoretileno (diâmetro = 4 cm), e secos a 45 °C por 24 h em estufa.

Para produção dos filmes utilizou-se diferentes percentuais do material resultante da hidrólise enzimática (método IV - NA-IV-7,5 ou NA-IVA-7,5) (5 % e 7 % m/v) que foram adicionados a ele. Quando a suspensão de amido contendo glicerina foi resfriada, o NA-IV-7,5 ou NA-IVA-7,5, correspondendo a porcentagem avaliada, foi adicionada e agitada com

agitadores magnéticos a 75 °C durante 1 h. Em seguida, os filmes compostos de amido e material celulósico foram preparados com sucesso e secos em estufa a 40 °C durante 24h. Os filmes resultantes foram intitulados como F-5NA-IVA e F-7NA-IVA (filmes resultantes do NA-IVA-7,5, contendo 5 % e 7 % (m/v) do NA-IVA-7,5) e F-5NA-IV e F-7NA-IV (filmes resultantes do NA-IV-7,5, contendo 5 % e 7 % (m/v) do NA-IV-7,5).

3.10 Propriedades e características dos filmes

O filme controle e os obtidos após incorporação das microestruturas e nanoestruturas foram analisados por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (conforme descrito no tópico 3.8.1), pela morfologia por Microscopia eletrônica de Varredura (conforme descrito no tópico 3.8.4), capacidade de retenção de água e biodegradabilidade no solo.

3.10.1 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água (WHC) dos filmes foi examinado colocando pedaços de filmes finos de 2,5 cm × 2,5 cm, inicialmente pesados em triplicata, e imersos por 2 min em água destilada, conforme metodologia citada por Reshmy *et al.* (2021). As amostras foram então removidas e retirou-se o excesso de água usando papel de filtro. Após pesou-se e a % WHC foi calculada usando a Equação (10), sendo W_2 o peso úmido da amostra e W_1 é o peso seco inicial da amostra. Os experimentos foram realizados em triplicata.

$$\% \text{ WHC} = \frac{W_2 - W_1}{W_2} * 100 \quad (10)$$

3.10.2 Avaliação da biodegradação dos filmes no solo

A biodegradabilidade dos filmes foi investigada durante 35 dias, em escala de laboratório, usando o método de enterramento do solo de acordo a metodologia reportada por Reshmy *et al.* (2021). O solo utilizado foi adquirido de uma floricultura local em Fortaleza/CE, sendo colocado em um recipiente e os corpos de prova (P_1), com dimensões 1 cm x 1cm, foram enterrados a uma profundidade de 10 cm da superfície para permitir a ação dos microrganismos. As alterações físicas foram observadas por fotografias e com a retirada dos corpos de prova,

que foram lavados e secos em estufa a 70 °C durante 24 h e pesados (P_2). A porcentagem de perda de peso (P_L) foi calculada usando a Equação 11, sendo P_1 o peso da amostra inicial e P_2 é o peso da amostra após ser enterrada no solo.

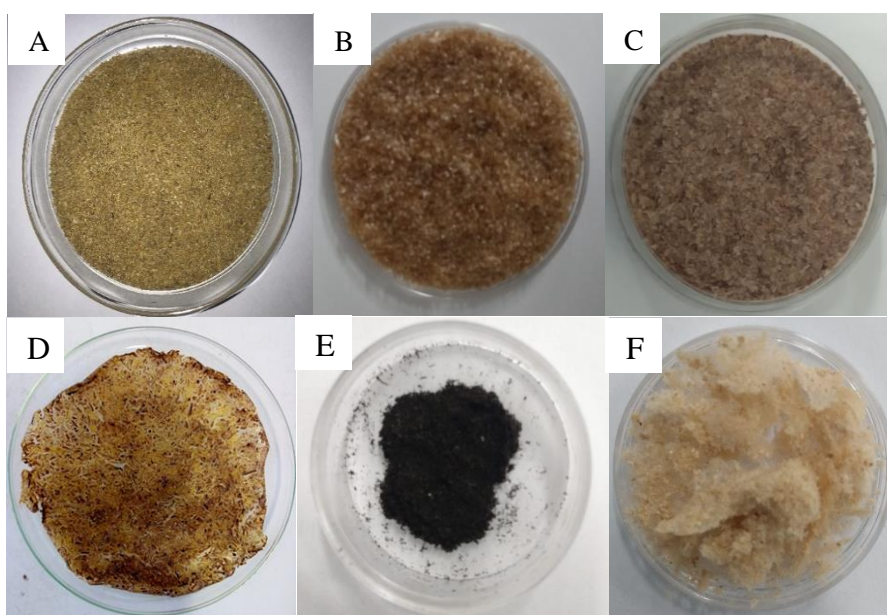
$$\%P_L = \frac{P_1 - P_2}{P_1} * 100 \quad (11)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito do pré-tratamento no bagaço de caju na disponibilização da celulose

De acordo com Theivasanthia *et al.* (2018), a nanocelulose pode ser obtida a partir de qualquer material natural de origem celulósica, e durante a etapa de pré-tratamento ocorre a remoção de alguns componentes como hemicelulose e lignina, tornando a celulose mais exposta para posterior extração da nanocelulose (PHANTHONG; REUBROYCHAROEN; HAO *et al.*, 2018). Dessa maneira, com o intuito de elucidar a relação entre o teor de lignina e as propriedades das nanoceluloses obtidas, foi realizado o pré-tratamento alcalino (PTA) e ácido seguido de álcali (PT-HA), que possibilitam obter materiais pré-tratados com composições diferentes, principalmente com diferentes teores de lignina e celulose. O bagaço de caju pré-tratado por estes dois pré-tratamentos (PTA e PT-HA) foi utilizado em diferentes métodos de obtenção de nanocelulose. A Figura 9 apresenta imagens de algumas etapas do processo de obtenção de nanocelulose a partir do bagaço de caju *in natura*.

Figura 9 – Imagens do (A) bagaço de caju *in natura*, (B) após o pré-tratamento alcalino (PTA) e (C) pré-tratamento ácido seguido de álcali, (D) material obtido após método I (NA-I), (E) método III (NA-III) seguido de liofilização, (F) após método IV (NA-IV) seguido de liofilização.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

As Figuras 14B e 14C representam o material resultante dos pré-tratamentos alcalino e ácido seguido de álcali, nota-se a ocorrência de uma variação na coloração dos materiais, podendo estar associado a solubilização da lignina e também da hemicelulose. A Figura 14 D representa o material após a hidrólise ácida (método I), em que há também uma variação na coloração do material, além de apresentar uma estrutura com aspecto mais rígido. Na imagem da Figura 14 E tem-se o material resultante do método III (NA-III) após liofilização. Nesse caso, há a formação de um pó bastante fino e leve, para esse método foi usado uma concentração maior de ácido sulfúrico e pode-se notar que ocorreu uma maior degradação da fibra. Na Figura 14H é apresentado a imagem do material resultante do método de hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, após liofilização, sendo possível observar que se trata de um material mais esponjoso, bastante leve e quebradiço, antes do processo de liofilização a suspensão resultante era bastante gelatinosa. Foi realizada a análise composicional do bagaço de caju *in natura* e após os pré-tratamentos (PTA e PT-HA), cujos resultados estão apresentados no tópico 4.1.1.

4.1.1 Composição química do bagaço de caju *in natura* e após pré-tratamento

As composições centesimais do bagaço de caju *in natura* (BC) e submetido aos pré-tratamentos: alcalino (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e ácido seguido de álcali (BC-PT-HA), para maior disponibilização da celulose antes da obtenção da nanocelulose, estão representados na Tabela 3. O bagaço de caju é um importante material lignocelulósico da região Nordeste e vem sendo fonte de estudos em vários projetos do Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Bioprocessos – GPBio.

Tabela 3 - Composição química do bagaço de caju *in natura* (BC) e do bagaço pré-tratado com álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e com ácido seguido de álcali (BC-PT-HA).

Material	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina + cinzas (%)	Sólidos remanescentes * (%)
BC <i>in natura</i>	15,4 ± 3,2	9,6 ± 1,2	46,6 ± 2,2	“100,0 ± 0,0”
BC-PTA-5	31,2 ± 2,8	7,1 ± 1,8	25,4 ± 2,5	28,3 ± 0,6
BC-PTA-10	30,3 ± 0,9	8 ± 1,0	26,6 ± 1,5	31,8 ± 0,3
BC-PT-HA	58,8 ± 1,2	5,6 ± 0,4	12,0 ± 0,1	8,4 ± 0,3

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

*Sólidos remanescentes: percentual do material obtido após pré-tratamento.

O pré-tratamento alcalino resultou no aumento do percentual de celulose na biomassa pré-tratada em ambos os percentuais testados (5 % e 10 % m/v de BC), pela redução do percentual de lignina no material lignocelulósico (Tabela 3). No BC-PTA-5, o percentual de celulose aumentou de 15,4 % para 31,2 % e ocorreu uma diminuição no teor de lignina de cerca de 54 %, não havendo uma diferença nos resultados observados no sólido obtido do BC-PTA-10, no qual o percentual de celulose aumentou de 15,4 % para 30,3 % seguido da diminuição no teor de lignina de 57 % no sólido pré-tratado (BC-PTA-10). Os valores da porcentagem de hemicelulose não diferiram muito entre os sólidos resultantes do pré-tratamento alcalino, portanto, pelas análises composicionais é observado que a variação no percentual do bagaço de caju para o tratamento alcalino não ocasionou diferença composicional significativa no teor de hemicelulose. Segundo Alvira *et al.* (2010), o hidróxido de sódio (NaOH) diluído provoca um inchaço em materiais lignocelulósicos, expandindo sua área e reduzindo o grau de polimerização. Como consequência, há o rompimento das ligações entre a lignina e carboidratos, permitindo a sua solubilização. A maior parte da lignina é solubilizada, extraindo monômeros e oligômeros de lignina com um baixo número de estruturas condensadas (SERPA *et al.*, 2020).

No pré-tratamento ácido seguido de álcali (PT-HA), que resultou no material BC-PT-HA, ocorreu um aumento expressivo na proporção de celulose, que foi de 15,4 % para 58,8 % (Tabela 3). Esse aumento está associado a redução no percentual de hemicelulose e lignina, sendo solubilizados do BC *in natura* em duas etapas. Na primeira, o pré-tratamento com ácido tende a agir mais sobre as cadeias da hemicelulose, tornando o material mais disponível para a solubilização da lignina pelo pré-tratamento alcalino, resultando num aumento substancial no teor de celulose da biomassa após o pré-tratamento (BARROS *et al.*, 2017). Outros estudos também relatam a importância da utilização de pré-tratamentos combinados na obtenção de celulose de biomassa lignocelulósica (BARROS *et al.*, 2014; SERPA *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2010).

É possível observar que o bagaço de caju pré-tratado por ácido seguido de álcali (PT-HA), apresenta um maior enriquecimento do teor de celulose, e menor quantidade de lignina quando comparado ao bagaço de caju após pré-tratamento alcalino (PTA). Isso pode estar associado aos parâmetros de temperatura e pressão, bem como a quantidade de etapas utilizadas durante os pré-tratamentos. O PTA ocorre em apenas uma etapa, a temperatura ambiente (28°C), já o PT-HA ocorre em autoclave, a 121 °C e em duas etapas, o que acaba tornando o processo mais eficiente na remoção parcial dos componentes não celulósicos presentes no BC.

O percentual de sólidos remanescentes fornece o rendimento em massa de sólido após pré-tratamento. Como pode ser observado na Tabela 3, o pré-tratamento do bagaço de caju por PTA-10 apresentou a maior porcentagem de sólidos remanescentes ($31,8 \pm 0,3$ %), enquanto que o pré-tratamento PT-HA possibilitou a menor porcentagem de sólidos remanescentes ($8,4 \pm 0,3$ %), provavelmente foi devido à efetiva extração de lignina do bagaço, em que o bagaço pré-tratado (BC-PT-HA) apresentou uma porcentagem de lignina em sua composição de $12,0 \pm 0,1$ %, sendo a menor porcentagem deste componente nos sólidos avaliados. A porcentagem recuperação de sólidos é importante para avaliar o rendimento do processo.

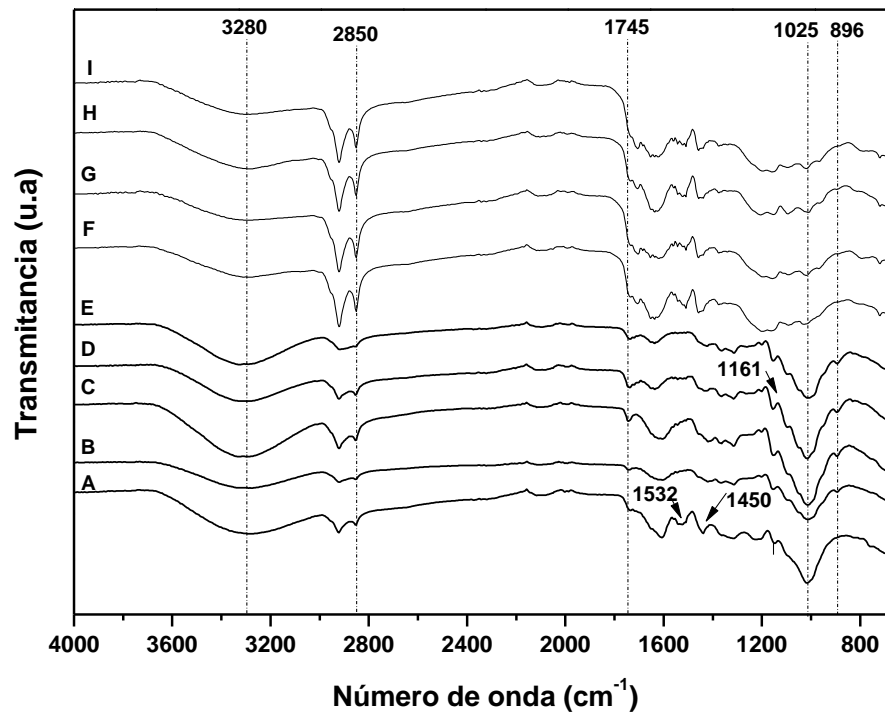
4.2 Processo de obtenção de nanocelulose usando como matéria-prima o bagaço de caju após pré-tratamento alcalino (BC-PTA-5 e BC-PTA-10)

O bagaço de caju após pré-tratamento alcalino (PTA) foi utilizado para produção de nanocelulose por meio de hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, usando os métodos I, II e III, e também por hidrólise enzimática (IV e V). Para caracterizar os materiais resultantes desses métodos foram realizadas análises de Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DRX), análise termogravimétrica (TGA), Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Microscopia de força atômica (MFA).

4.2.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Com o intuito de identificar a presença dos principais grupos químicos orgânicos contidos na estrutura dos materiais obtidos após o pré-tratamento alcalino (BC-PTA-5 e BC-PTA-10), bem como os materiais obtidos pelos métodos de obtenção da nanocelulose, NA-5I e NA-10I, que foram submetidos a hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (método I), e os materiais NA-II-5; NA-II-10; NA-III-5 e NA-III-10 que foram submetidos a hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico - métodos II e III, e também após o processo de hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico IV e V, materiais nomeados (NA-IVA-7,5/ NA-IVA-12; NA-IV-7,5/NA-IV-12 e NA-VA-7,5/NA-VA-12; NA-V-7,5/NA-V-12), foram realizadas análises por transmissão na região do infravermelho (FTIR). Nas Figuras 10 e 11 estão representados os espectros FTIR obtidos dos materiais supracitados.

Figura 10 – Espectros obtidos por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju *in natura* (A) e BC após pré-tratamento alcalino (PTA), variando a concentração de sólidos BC-PTA-5 (B); BC-PTA-10 (C) e após os métodos I, II e III; NA-5I (D), NA-10I (E), NA-II-5 (F), NA-III-5 (G), NA-II-10 (H) e NA-III-10 (I).



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na Tabela 4 encontram-se os valores dos comprimentos de onda e as quais vibrações das ligações correspondem, que foram identificados nos espectros das amostras do bagaço de caju *in natura* (espectro A, Figura 10) e do bagaço de caju pré-tratado por álcali (espectros B e C, Figura 10).

Tabela 4 – Posição e características das principais vibrações de ligações químicas do bagaço de caju *in natura* e após pré-tratamento alcalino.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupos de base e modos vibracionais	Moléculas pertencentes aos grupos de base	BC	BC-PTA 5	BC-PTA 10
896	Estiramento C-H de ligações β-glicosídicas	Celulose/ Hemicelulose	ND	X	X
1025	Vibração no estiramento C-O característico para a celulose	Celulose	X	X	X
1155	C-O, ponte assimétrica que se estende em ligações de éster	Celulose	X	ND	ND
1215	Alongamentos e vibrações C-O	Lignina	X	ND	ND
1315	Vibrações C-C e C-O	Celulose	X	X	X
1370	Deformação de C-H	Celulose	ND	X	X
1450	Deformações C-H (CH e CH ₂) em anéis fenólicos	Lignina	X	ND	ND
1532	Alongamento e vibrações C=C no anel fenólico	Lignina	X	ND	ND
1745	Ester ligado grupo acetil, furoilil e p-cumaril	Lignina/ Hemicelulose	X	X	X
3280	Alongamento OH	Celulose/Água	X	X	X

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

*ND= Número de onda não detectado; *X= Número de onda detectado.

Na Figura 10 é possível observar no espectro (A), referente ao bagaço de caju *in natura*, que a banda em 1025 cm⁻¹ característica da vibração no estiramento C-O característico da celulose, 1155 cm⁻¹ que representa o C-O, ponte assimétrica que se estende em ligações de éster, também da celulose e a banda 1315 cm⁻¹ que representa as vibrações C-C e C-O, presentes na celulose. As bandas a 1450 cm⁻¹ a 1532 cm⁻¹ referentes a estiramento conjugado de C=O em anéis aromáticos, característico da lignina (REIS *et al.*, 2017). A banda 1745 cm⁻¹ correspondente ao éster ligado a grupos acetila, ferúlico e p-cumárico característicos da hemicelulose e lignina (MARCOS *et al.*, 2013).

O pré-tratamento alcalino promoveu modificações no bagaço de caju, no qual podem ser observadas variações no espectro de FTIR, como o surgimento da banda 896 cm^{-1} que segundo LOPES *et al.* (2013) corresponde ao estiramento C-H de ligações β -glicosídicas entre as unidades de glicose da celulose. A banda 1370 cm^{-1} também foi observada após o pré-tratamento e corresponde a um estiramento da ligação C-H em celulose. Indicando que com o pré-tratamento a celulose ficou mais exposta.

Além disso, comparando-se os espectros B e C com o A (BC *in natura*) é visto que as bandas a 1215 cm^{-1} e 1532 cm^{-1} , que representam alongamentos e vibrações equivalentes a C-O e C=C, respectivamente, correspondentes a lignina, não estão mais presentes na estrutura, mostrando, portanto, que o tratamento alcalino conseguiu remover parte desse biopolímero.

A utilização de substâncias alcalinas no pré-tratamento de materiais lignocelulósicos é um método bastante comum para remover a lignina presente no material, que atua modificando a matriz lignocelulósica, rompendo as ligações éter e éster nas unidades de lignina ou entre as unidades de hemicelulose e lignina (ALBUQUERQUE *et al.*, 2019).

Após realizada a hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (método I) no bagaço de caju pré-tratado (BC-PTA-5 e BC-PTA-10), os materiais NA-5I e NA-10I foram analisados. Nos espectros desses materiais é possível observar o aparecimento das bandas 1107 cm^{-1} e 1161 cm^{-1} , que são atribuídas a vibração esquelética C-OH presente na celulose (HONG *et al.*, 2020). O surgimento dessas bandas quando comparamos ao bagaço de caju *in natura* e após pré-tratamento alcalino (vide Figura 10) demonstra uma maior exposição da celulose, que pode ter ocorrido devido a remoção de certo teor da hemicelulose presente na biomassa. A hidrólise ácida solubiliza a hemicelulose, principalmente as cadeias de xilano, obtendo-se xilose (KIM *et al.*, 2012).

Também foi observada a banda 1061 cm^{-1} , atribuída ao alongamento C-O e ao C-H referente as vibrações da celulose (MARCOS *et al.*, 2013), que surgiu nos espectros FTIR do bagaço de caju pré-tratado, BC-PTA-5 e BC-PTA-10, e dos materiais obtidos após a hidrólise ácida conduzida pelo método I (NA-5I e NA-10I), em que nestes foi possível notar um pequeno aumento dessa banda com relação ao BC pré-tratado (BC-PTA-5 e BC-PTA-10). Essa banda e as demais diferenças mostradas sugerem um maior teor de celulose presente no material, corroborando com os resultados obtidos da análise composicional para o BC pré-tratado.

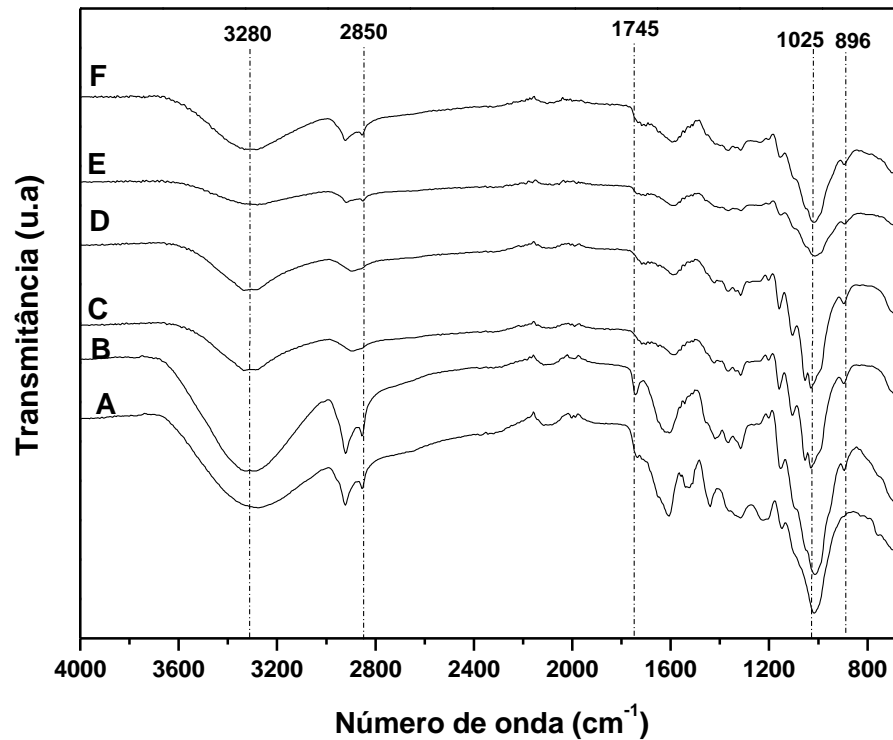
Perfil semelhante dos espectros dos materiais NA-5I e NA-10I foi obtido da luffa, um tipo de esponja vegetal pertencente à família das *Cucurbitáceas*, que foi submetida a hidrólise ácida, avaliada pelos autores Hong *et al.* (2020), no qual algumas das bandas

correspondente a celulose, tornaram-se mais nítidas, indicando uma maior exposição deste biopolímero no material.

Nos espectros (F), (G), (H) e (I), que representam os materiais obtidos após a hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (métodos II e III), em que foram usadas concentrações maiores de ácido sulfúrico, identifica-se bandas em torno de 2900 cm^{-1} (2947 cm^{-1} e 2850 cm^{-1}), correspondentes a vibração de estiramento C-H em celulose e hemicelulose. Também, as bandas a 1647 cm^{-1} , atribuída a vibração de flexão dos grupos OH da celulose, estão melhores definidas quando comparado aos demais materiais. Essa banda (1647 cm^{-1}) aparece de forma mais nítida nos espectros F e H, em que o BC pré-tratado foi exposto por um menor tempo de exposição ao ácido (1 h – Método II), o que pode ter conservado melhor a celulose cristalina. No entanto, ao observar os espectros G e I, que representam os materiais obtidos pelo método III, é observado que essas bandas estão menos definidas. Além disso, a banda 1745 cm^{-1} ainda continua presente nos espectros, indicando a presença da lignina, porém, essa banda encontra-se melhor definida quando se utilizou o método I de obtenção de nanocelulose, em que foi utilizado uma menor concentração de ácido sulfúrico durante a reação.

A Figura 11 apresenta os espectros FTIR do bagaço de caju *in natura*, do bagaço pré-tratado por álcali (PTA), e dos materiais obtidos pelo método de hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico IV e V, usando os tempos de 24 h e 48h, respectivamente.

Figura 11 – Espectros obtidos por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju *in natura* (A) após pré-tratamento alcalino (PTA-10 %) (B), e após o método de hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando a com carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} após 24 h (NA-IVA-7,5) (C), 12 FPU/g_{celulose} após 24 h (NA-IVA-12) (D), 7,5 FPU/g_{celulose} após 48 h (NA-VA-7,5) (E) e 12 FPU/g_{celulose} após 48 h (NA-VA-12) (F).



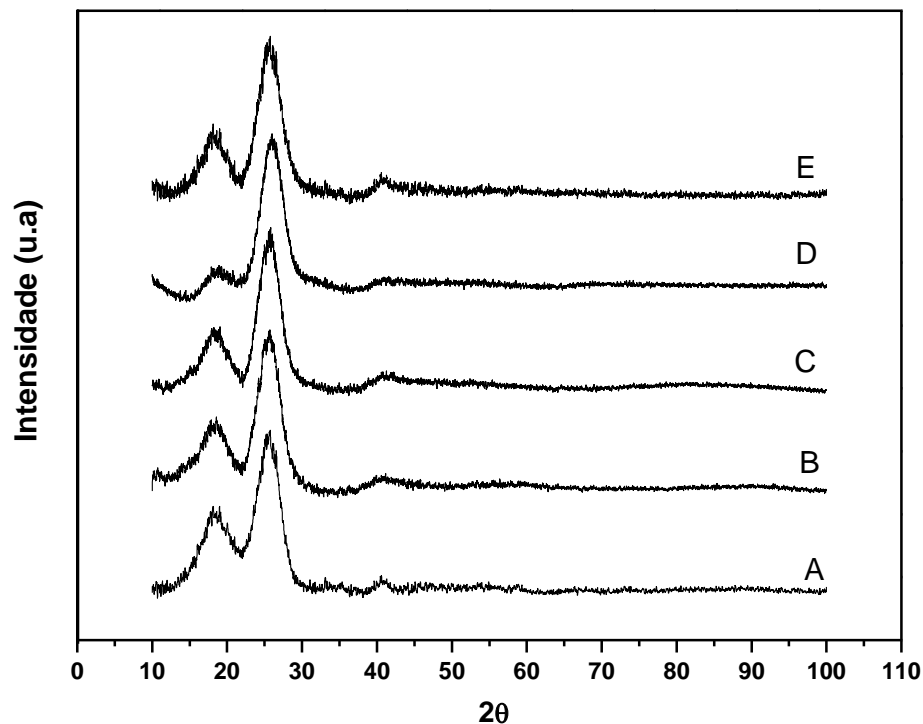
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

As modificações ocasionadas no material após a hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, ocorreram principalmente em bandas características da celulose, como o surgimento da banda 1107 cm⁻¹ (Figura 11). Essa banda é atribuída aos carboidratos presentes na biomassa e também a vibração esquelética C-OH presente na celulose (LOPES *et al.*, 2013). Também é possível observar que essa banda se encontra melhor definida nos espectros (C e D), em que a reação de hidrólise enzimática teve duração de 24 h. No material que foi submetido a 48 h de hidrólise, cujo espectros são E e F (Figura 11), essa banda quase não é observada, sugerindo que os carboidratos sofreram uma maior degradação pelas enzimas celulases. A banda 1161 cm⁻¹ também presente nos espectros (B, C, D e F) é característica das vibrações da celulose (HONG *et al.*, 2020).

4.2.2 Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X foi realizada com o intuito de analisar o índice de cristalinidade (IC), as mudanças estruturais do bagaço de caju após pré-tratamento alcalino (PTA) e após a obtenção de nanocelulose (método I). Os difratogramas de raios X do bagaço de caju *in natura*, do bagaço submetido ao tratamento alcalino sob diferentes percentuais mássicos (PTA-5 % e PTA-10 %) e do material resultante da obtenção de nanocelulose via hidrólise ácida (método I) são mostrados na Figura 12.

Figura 12 – Difratogramas de raios X para o bagaço de caju *in natura* (A), do bagaço pré-tratado por álcali variando o percentual do bagaço de caju, BC-PTA-5 (B) e BC-PTA-10 (C), e dos materiais obtidos por hidrólise ácida, sequencial com processo ultrassônico (método I), NA-5I (D) e NA-10I (E).



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Dois sinais característicos de celulose ($2\theta = 18^\circ$ e $2\theta = 25,7^\circ$) são observados nos difratogramas do bagaço de caju *in natura*, e do bagaço de caju após pré-tratamento por álcali (Figura 12 - A, B e C). Há um aumento na intensidade dos picos nos ângulos $2\theta = 18^\circ$ e $2\theta = 25,7^\circ$, que segundo Meyabadi *et al.* (2014) e Theivasanthia *et al.* (2018) são característicos da celulose, e a partir deles é possível calcular o índice de cristalinidade do material. Segundo Vieira (2018), um aumento na área cristalina do gráfico significa que ocorreu remoção da

lignina e/ou parte amorfa da celulose, e em qualquer um desses casos pode acontecer um aumento a acessibilidade da área cristalina da celulose.

Para um melhor entendimento sobre a cristalinidade do material, o índice de cristalinidade (IC) do bagaço de caju *in natura*, do bagaço pré-tratado por álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e do possível material nanométrico obtido pelo método I (NA-5I e NA-10I) foram calculados e estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Índice de cristalinidade do bagaço de caju *in natura*, do bagaço pré-tratado por álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e dos materiais nanométricos obtidos da hidrólise ácida pelo método I (NA-5I e NA-10I).

Índice de cristalinidade (IC)	
<i>BC in natura</i>	30,33 %
BC-PTA - 5	36,26 %
BC-PTA - 10	34,84 %
NA-5I	63,10 %
NA-10I	49,03 %

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

De acordo com a Tabela 5, o índice de cristalinidade do BC obtido dos pré-tratamentos álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) é maior quando comparado com o IC do BC *in natura*, devido ao pré-tratamento promover à dissolução das regiões amorfas da biomassa, ocasionado pelo tratamento alcalino, gerando uma maior exposição da celulose (Morian, Vilaplana e Ek, 2016). O BC-PTA-5 resultou em um IC igual a 36,26 %, sendo maior que o obtido pelo bagaço de caju pré-tratado usando 10 % m/v de BC (BC-PTA-10), isso pode ser explicado devido ao menor teor de sólidos presente durante o pré-tratamento (BC-PTA-5) facilitando a transferência de massa, indicando que a reação foi mais eficiente e hidrolisou uma maior quantidade de celulose amorfa, tornando a celulose cristalina ainda mais visível.

Por outro lado, é notório que os materiais obtidos após a hidrólise ácida conduzida pelo método I apresentaram um maior IC, quando comparado ao material submetido somente ao BC pré-tratado. O BC-PTA-10 apresentou um IC igual a 34,84 % e após a hidrólise ácida (método I) resultando no material NA-10I, o valor foi de 49,03 %, e o BC-PTA-5 teve um IC igual a 36,26 %, e o material obtido hidrólise ácida (método I) resultou em um material (NA-5I) com IC de 63,10 %. De acordo com Qian *et al.* (2021), o ácido sulfúrico tende a induzir a

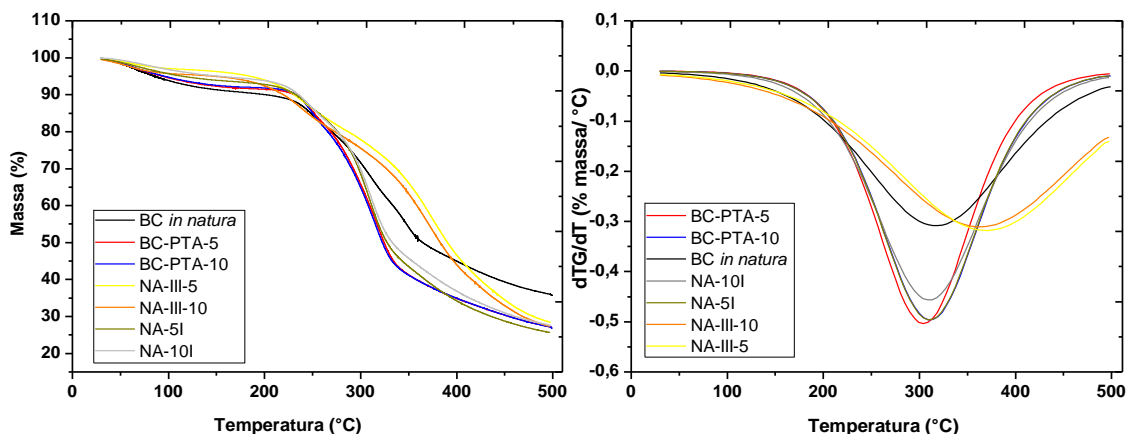
remoção preferencial das regiões amorfas da celulose, o que torna as regiões cristalinas mais expostas e conseqüentemente ocasiona esse aumento do IC, sendo este fenômeno intensificado pela ação do ultrassom.

Theivasanthia *et al.* (2018) utilizaram como matéria-prima a fibra de algodão, a qual também foi pré-tratada por álcali e em seguida passou por uma hidrólise ácida sob as mesmas condições usadas neste trabalho, para a obtenção de nanocelulose. Esses autores reportaram obter nanocristais de celulose com índice de cristalinidade igual a 91,2 %. No entanto, o algodão apresenta uma maior quantidade de celulose inicial (cerca de 90 %), com baixo teor de hemicelulose e lignina em comparação com o bagaço de caju, o que pode explicar o maior índice de cristalinidade obtido pelos autores.

4.2.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

A Figura 13 apresenta a curva da perda de massa em função da temperatura e sua respectiva derivada (DTG), do bagaço de caju antes e após ser submetido ao pré-tratamento alcalino (BC-PTA-5 e BC-PTA-10), e dos possíveis materiais manométricos obtidos por hidrólise ácida conduzida pelo método I (NA-5I e NA-10I) e pelo método III (NA-III-5 e NA-III-10). Os componentes presentes na biomassa (celulose, hemicelulose e lignina) possuem comportamentos térmicos distintos e, a partir das análises termogravimétricas, é possível compreender melhor os efeitos da temperatura no processo decomposição da biomassa (VIEIRA, 2018).

Figura 13 – Termogramas obtidos por análise termogravimétrica (esquerda: TG e direita: DTG) do BC *in natura*, do BC pré-tratado por álcali (BC-PTA-5e BC-PTA-10), e dos materiais obtidos pelo método I (NA-5I e NA-10I) e pelo método III (NA-III-5 e NA-III-10).



Elaborada pela autora (2022).

De acordo com Yang, (2007), as frações da biomassa se decompõem em faixas distintas de temperatura: a hemicelulose é a primeira a se decompor numa faixa de temperatura de 220 °C a 315 °C, já a celulose se degrada de 315 °C a 400 °C, mostrando uma temperatura máxima em 355 °C; a lignina, por sua vez é a mais difícil de se decompor, possuindo uma ampla faixa que vai desde a temperatura ambiente até 900 °C.

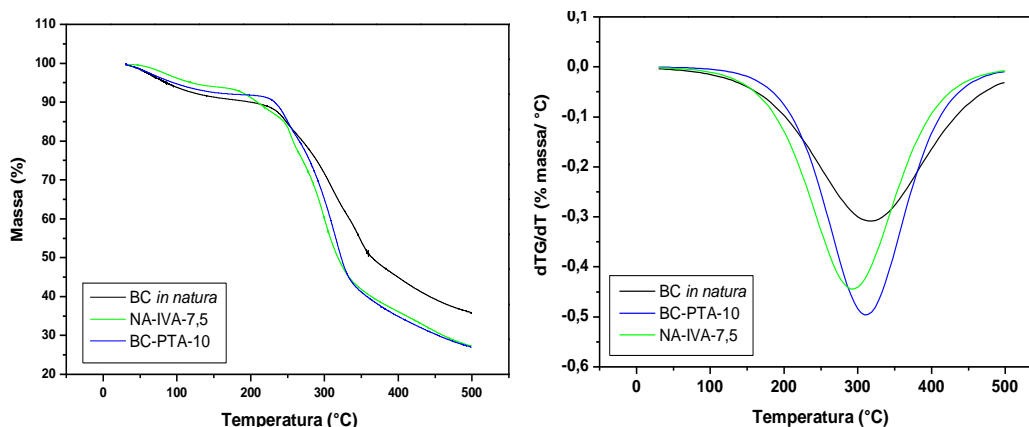
Na Figura 13 é importante notar que a biomassa *in natura* apresentou além da evaporação da água que ocorre a temperatura de 100 °C, uma perda de massa por volta de 215 °C que foi até 350 °C, que pode estar associada a decomposição da hemicelulose, tendo uma temperatura máxima em 315 °C.

Ao observar as curvas referentes ao bagaço de caju pré-tratado (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) e dos materiais resultantes do método I (NA-5I e NA-10I) é possível notar que não há grandes variações entre o comportamento térmico obtido. Isso pode ter ocorrido devido à baixa concentração de ácido sulfúrico, que não resultou em grandes alterações morfológicas, pois o material possui lignina residual que reveste a superfície da celulose, tornando-se menos acessível ao ataque ácido. Comportamento semelhante foi mostrado no estudo realizado por Rosa *et al.* (2010) que produziu nanocristais de celulose utilizando a fibra de coco e este material continha lignina residual.

Os materiais obtidos usando o método III (NA-III-5 e NA-III-10), que estão representados também na Figura 13, foram submetidos a uma maior concentração de ácido (60 % v/v de H₂SO₄), conseguindo uma melhor eficiência na degradação da parte amorfa da celulose, aumentando a cristalinidade do material. Os cristais obtidos foram observados por microscopia de força atômica (MFA) e uma discussão melhor está apresentada no tópico 4.2.5. De acordo com alguns estudos realizados, os nanocristais obtidos via hidrólise usando o ácido sulfúrico tendem a possuir grupos sulfatos que podem diminuir a resistência térmica do material (BENINI *et al.*, 2018; RIBEIRO *et al.*, 2019; TRACHE *et al.*, 2020). No entanto, os nanocristais obtidos apresentaram maior resistência térmica, esse aumento pode ser explicado devido a lignina residual presente (NA-III-5 e NA-III-10). De acordo com Chen *et al.* (2019) e Hong *et al.* (2020), a lignina agregada a nanocelulose pode proporcionar algumas propriedades favoráveis, dentre elas um aumento na estabilidade térmica.

Na Figura 14 estão apresentados os termogramas obtidos da análise TGA do bagaço pré-tratado (BC-PTA-10) e do material resultante de sua hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, conduzida usando uma carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} durante 24 h (NA-IVA-7,5), com o intuito de avaliar a estabilidade térmica e comparar com os demais materiais.

Figura 14 – Termogramas obtidos por análise termogravimétrica (esquerda: TG e direita: DTG) do BC *in natura*, do bagaço pré-tratado por álcali usando 10% m/v BC (BC-PTA-10), e do material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico - método IV (NA-IVA-7,5).



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

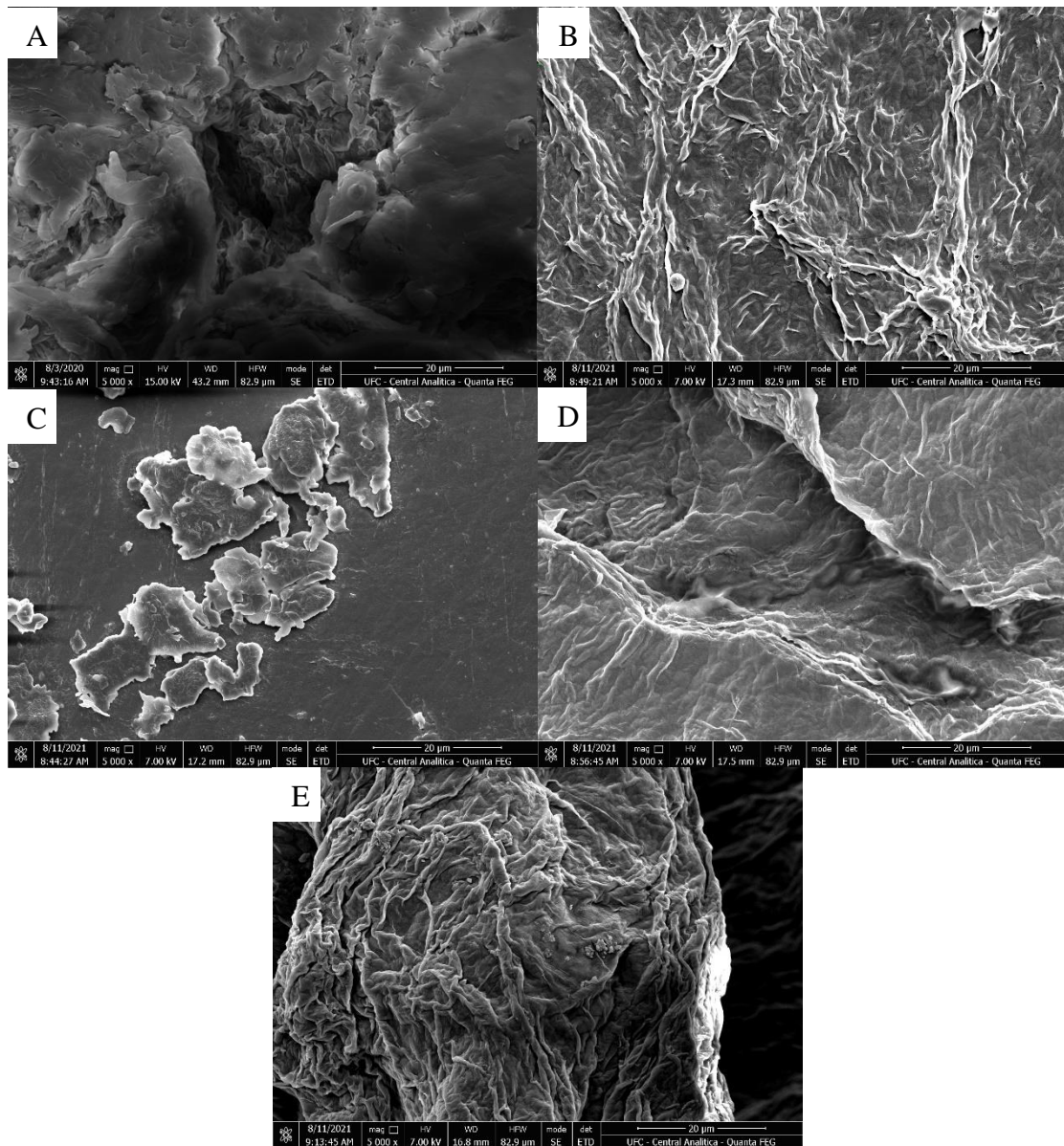
Na Figura 14 é possível perceber a ocorrência de variação térmica entre NA-IVA-7,5 e o BC-PTA-10. Nota-se um leve deslocamento da curva para a direita entre as temperaturas 50 °C a 180 °C, que de acordo com ZHONG *et al.* (2020), os valores em torno de 50 °C - 150 °C podem se referir à perda de água absorvida e umidade residual nos produtos.

Ocorreu uma diminuição na estabilidade térmica do material após a hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (NA-IVA-7,5) em relação ao BC-PTA-10 e também com relação ao BC *in natura*. Na DTG a temperatura do pico era de 310 °C e passou a 290 °C, a perda de massa nesta fase deve-se principalmente à degradação térmica de materiais celulósicos, resultados de processos simultâneos, tais como despolimerização, desidratação e decomposição dos anéis glicosil e subsequente formação de um resíduo carbonizado (MEYABADI *et al.*, 2014).

4.2.4 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

As mudanças na estrutura física do bagaço de caju *in natura*, após o pré-tratamento alcalino usando diferentes percentuais do bagaço de caju (PTA-5 % e PTA-10 %), resultando nos sólidos BC-PTA-5 e BC-PTA-10, e dos materiais obtidos pelo método I (NA-5I e NA-10I), método II (NA-II-5 e NA-II-10) e método III (NA-III-5 e NA-III-10), foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e as imagens estão apresentadas na Figura 15.

Figura 15 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura usando a magnificação de 5000 x do bagaço de caju *in natura* (A); do bagaço de caju pré-tratado por álcali, BC-PTA-5 (B) e BC-PTA-10 (C); e dos materiais resultantes do método I de obtenção da nanocelulose, NA-5I (D) e NA-10I (E).



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A Figura 15A representa a estrutura do bagaço de caju *in natura*. É possível observar que o material possui uma textura disforme e rugosa, como também foi observado por outros autores (ROCHA, 2010; RODRIGUES, 2014). Nas imagens do bagaço de caju pré-tratado por álcali com diferentes porcentagens de BC (BC-PTA-5 e BC-PTA-10), nota-se uma modificação na textura da superfície desses materiais, apresentando-se mais fibrosa,

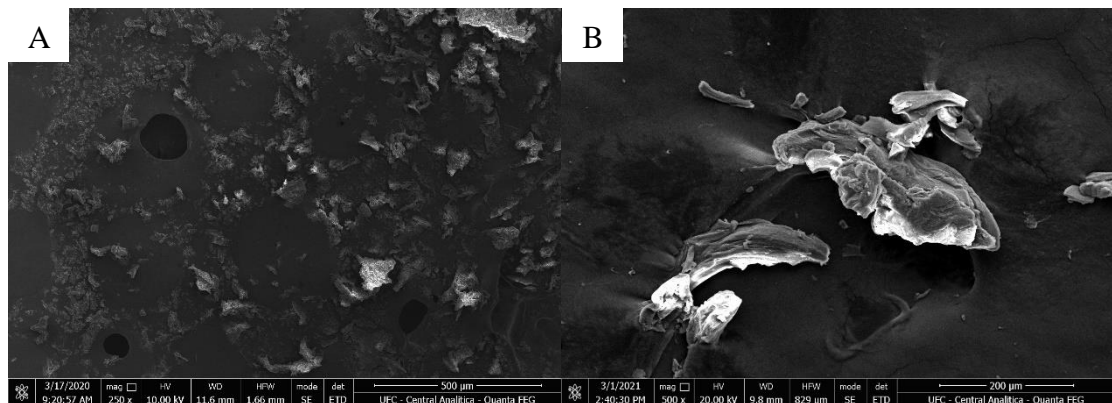
provavelmente atribuído a remoção de parte da lignina durante o tratamento alcalino com hidróxido de sódio, tornando a celulose mais exposta (Figuras 15B e 15C).

Ao comparar o bagaço de caju com o material obtido após realização do método I, que estão representados nas Figuras 15D (NA-5I) e 15E (NA-10I), é possível observar uma discreta mudança na superfície destes materiais. Na Figura 15A tem-se um material mais rugoso, enquanto que nas imagens D e E observa-se materiais com uma superfície menos rugosa, sendo provavelmente resultado da ação do ácido, que solubiliza as estruturas mais amorfas do material. No entanto, não há indícios de estruturas em tamanho nanométrico.

Theivasanthia *et al.* (2018) obtiveram um material com uma estrutura bem diferente do seu precursor (algodão), sendo possível a visualização de nanoestruturas após utilizarem método semelhante ao método I de obtenção da nanocelulose, fato que não ocorreu neste trabalho. A explicação pode estar relacionada ao alto teor de celulose (cerca de 90 %) presente no algodão, bem superior ao BC mesmo após os pré-tratamentos, que resulta em teores de celulose de 31,18 % (BC-PTA-5) e 30,33 % (BC-PTA-10). Logo, a concentração de ácido utilizada durante a reação não foi suficiente para obter as nanoestruturas.

Então, após a hidrólise ácida conduzida conforme o método I, analisando a fotografia (Figura 9D) e as imagens de MEV (Figuras 15D e 15E), conclui-se que não indica produção de nanoestruturas, isso pode ter ocorrido devido à baixa concentração do ácido que foi utilizada no método, não ocorrendo um acesso efetivo deste composto químico ao material lignocelulósico para que houvesse a obtenção de nanocristais. Como foi mostrado no difratograma de raios X (vide Figura 12), após o uso desse método foi obtido um material (NA-5I e NA-10I) mais cristalino, ou seja, ocorreu degradação da parte amorfa da celulose, porém não conseguiu efetuar a conversão em nanocristais. Diante disso, os resultados apresentados acima impulsionaram a uma nova etapa de análises, em que foi realizada a hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (métodos II e III) com o ácido sulfúrico mais concentrado, sendo aplicado aos bagaços pré-tratados BC-PTA-5 e BC-PTA-10. Na Figura 16 constam as micrografias dos materiais resultantes do método II.

Figura 16 – Imagens de microscopia eletrônica de Varredura (MEV) do material resultante do método II: (A) NA-II-5 com amplitude 250x e (B) NA-II-10 com amplitude 500 x.

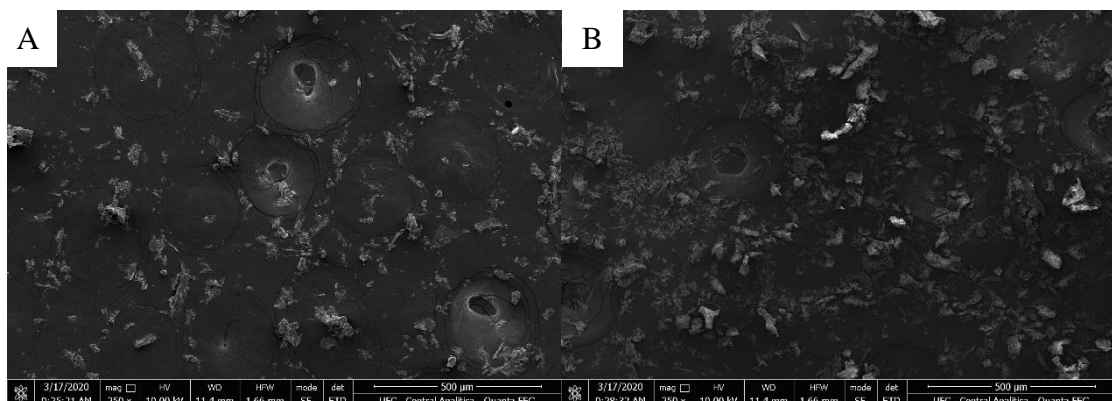


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Ao analisar a imagem da Figura 16A é possível observar que a superfície do material NA-II-5 se encontra bastante particulada com fragmentos inferiores a 1 µm. Na Figura 16B está representado o material NA-II-10, que também apresenta um material fragmentado. Nesse caso, foi utilizada uma maior concentração de ácido sulfúrico, que deve ter contribuído para a degradação de estruturas amorfas da celulose e da hemicelulose, favorecendo a fragmentação do material (MANDAL; CHAKRABARTY, 2011).

Na Figura 17 tem-se as imagens dos materiais resultantes do método III (NA-III-5 e NA-III-10). Neste método, o processo de hidrólise ácida durou 5 h e foi sonificado em seguida.

Figura 17 – Imagens de microscopia eletrônica de Varredura (MEV) dos possíveis nanomateriais obtidos pelo método III: (A) NA-III-5 e (B) NA-III-10, ambos usando magnificação de 250x.

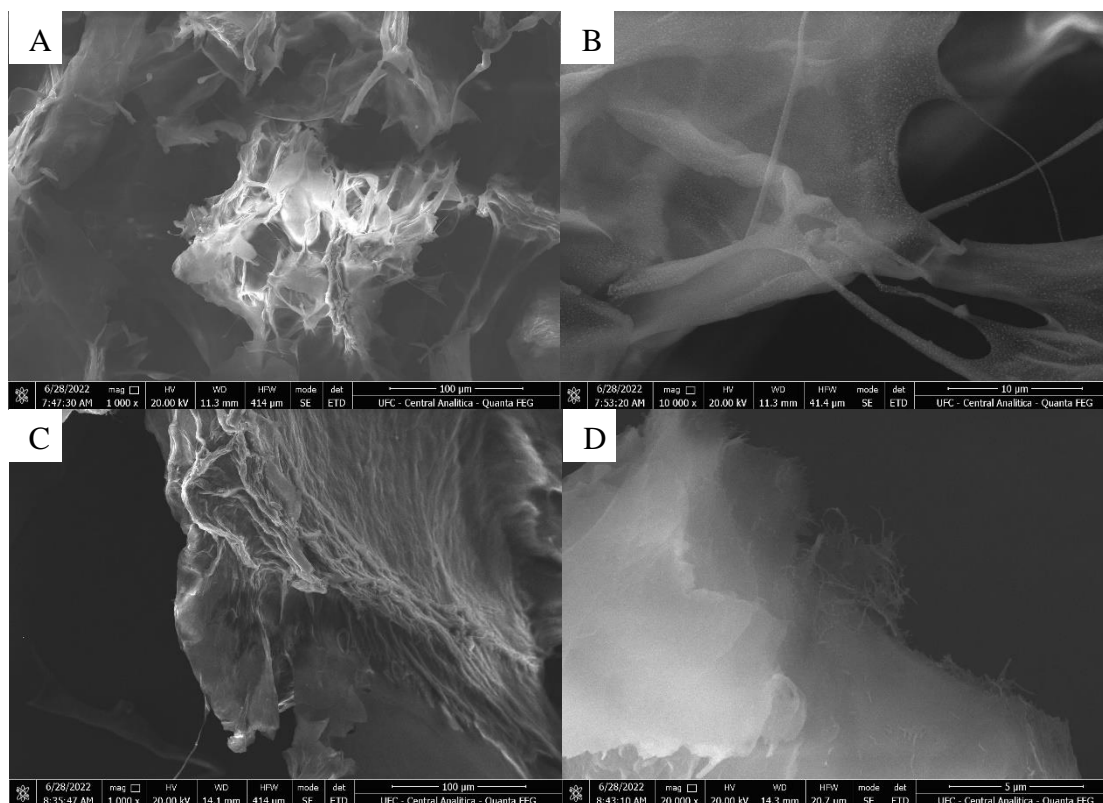


Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os métodos II (Figura 16) e III (Figura 17) usados na obtenção de nanocelulose foram assistidos por processo ultrassônico. De acordo com Meyabadi *et al.* (2014) quando a celulose é submetida ao tratamento ultrassônico, a estrutura da celulose fica ainda mais livre, indicando o rompimento das ligações glicosídicas ligadas mais fracamente β -D- (1 \rightarrow 4). Esse rompimento ocorre da força hidrodinâmica e da tensão de cisalhamento gerada devido ao colapso das bolhas através do processo ultrassom. Na Figura 17 é possível notar que os materiais NA-III-5 e NA-III-10 possuem estruturas bastante fragmentadas, o que pode ser indício de nanocristais de celulose. Para uma melhor análise foi realizado a microscopia de força atômica desses materiais obtidos pelos métodos II e III cujos resultados estão apresentados no tópico 4.2.5.

Além dos métodos de hidrólise ácida estudados, também se estudou a hidrólise enzimática sequenciada de processo ultrassônico como uma tentativa de obter nanocelulose por um método que gere um menor impacto ambiental e consiga um aproveitamento integrado do processo (produzindo nanoestruturas e aproveitando os açúcares gerados durante a hidrólise), o que acaba diminuindo a geração de resíduos. Diante dos pré-tratamentos realizados, o que propiciou um material com um maior teor de lignina residual em sua estrutura foi o PTA-10 %, sendo selecionado para essa etapa por apresentar um maior rendimento quando comparado ao PTA-5 %, como pode ser observado na Tabela 3. Durante a realização desse método foi estudado duas cargas enzimáticas (7,5 e 12 FPU/g_{celulose}) e dois tempos reacionais (24 e 48 h). As imagens de MEV dos materiais resultantes destes métodos estão representadas nas Figuras 18 e 19.

Figura 18 – Imagens de microscopia de varredura eletrônica (MEV) dos materiais obtidos por hidrólise enzimática, sequencial com o processo ultrassônico, conduzido pelo método IV com diferentes cargas enzimáticas: (A e B) usando 7,5 FPU/g_{celulose} (NA-IVA-7,5), e (C e D) usando carga enzimática de 12 FPU/g_{celulose} (NA-IVA-12). Com diferentes magnificações (A) 1000 x (B) 10000 x (C) 1000 x (D) 20000 x.



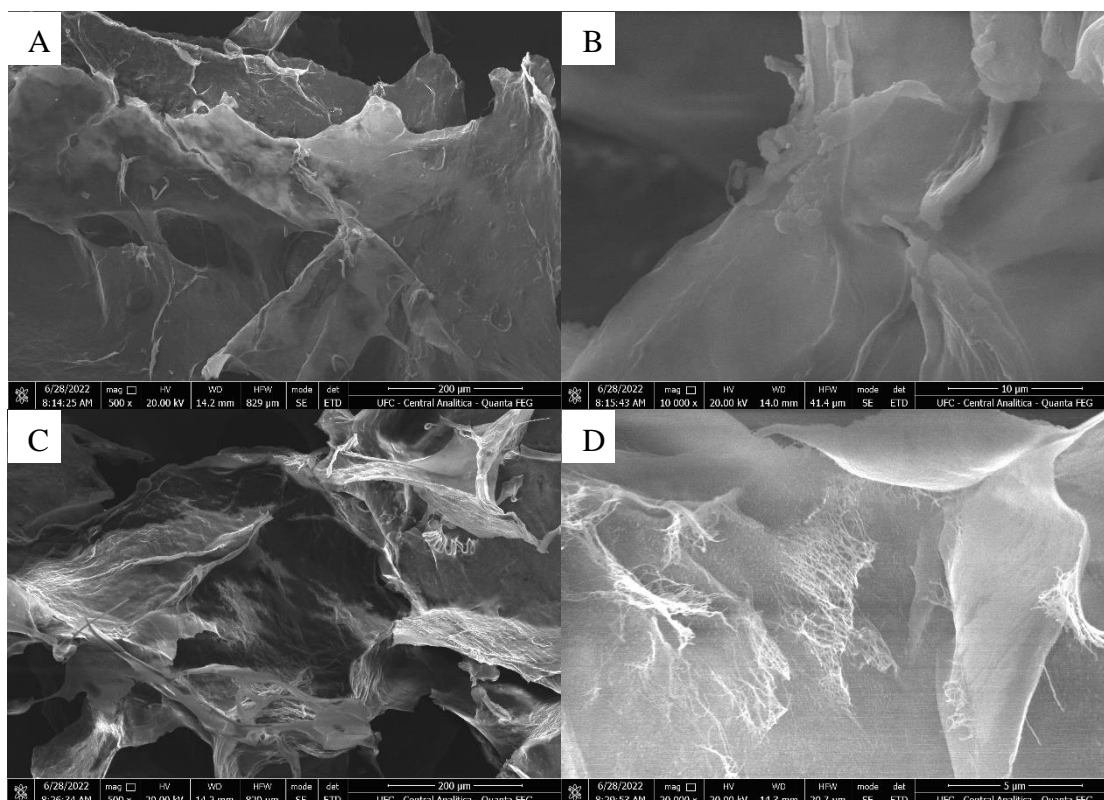
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

As imagens apresentadas nas Figuras 18A e 18B, em que apresenta o material submetido a hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando o complexo enzimático celulase de *Trichoderma reesei* com carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} por 24 h (NA-IVA-7,5), mostra aglomerados que acabam sugerindo que não ocorreu produção de nanoestruturas. O material pré-tratado utilizado nessa hidrólise apresenta um teor de lignina de cerca de $26,56 \pm 1,50 \%$, que pode melhorar as propriedades das nanoestruturas, como uma maior estabilidade térmica e hidrofobicidade, porém, a lignina também pode funcionar como uma barreira que diminui o acesso das celulasas a celulose, dificultando a formação de nanoestruturas.

As Figuras 18C e 18D apresentam as micrografias do material hidrolisado usando o mesmo tempo reacional, com um aumento apenas da carga enzimática que passou a ser 12 FPU/g_{celulose}. Nesse caso é possível observar um grande aglomerado e em algumas áreas do

material nota-se a existência de estruturas que se assemelham a nanofibrilas (Figura 18D).

Figura 19 – Imagens de microscopia eletrônica de Varredura (MEV) usando o material obtido por hidrólise enzimática, sequencial com o processo ultrassônico - método V com diferentes cargas enzimáticas: (A e B) usando 7,5 FPU/g_{celulose} (NA-IVA-7,5), e (C e D) usando carga de 12 FPU/g_{celulose} (NA-IVA-12). Com diferentes magnificações (A) 500 x (B) 10000 x (C) 500 x e (D) 20000 x.



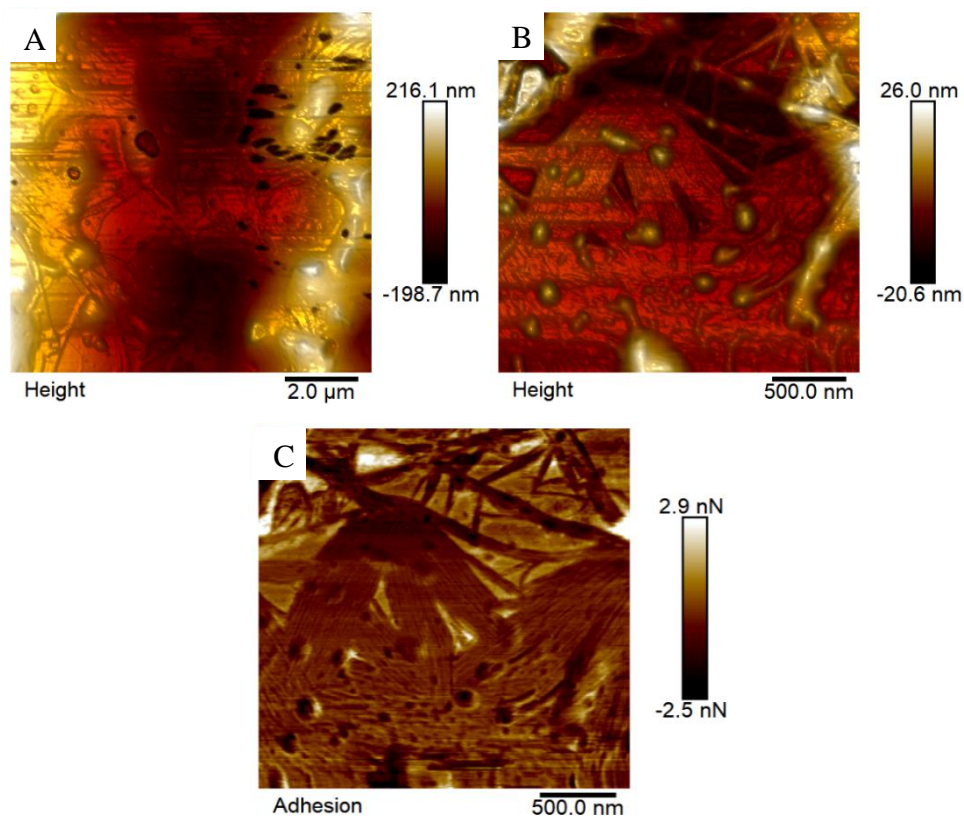
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Nas micrografias do material obtido do hidrolisado usando a carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} e um tempo reacional de 48 h (Figuras 19A e 19B), é possível notar uma variação na estrutura do material quando comparando ao processo conduzido por 24 h e com a mesma carga enzimática, método IV, em que existem algumas fibras mais finas, indicando que o maior tempo reacional resultou numa hidrólise mais eficiente do material. Nas Figuras 19C e 19D, em que são apresentados as micrografias do material obtido no mesmo tempo reacional (48 h) mas usando uma carga enzimática maior (12 FPU/g_{celulose}), verifica-se algumas a incidência de várias fibras, possivelmente em escala nanométrica.

4.2.5 Microscopia de força atômica (MFA)

As micrografias de força atômica (MFA) dos materiais obtidos pelos diferentes métodos de obtenção de nanoceluloses (métodos II e III) podem ser observadas nas Figuras 20 a 22. A Figura 20 mostra a micrografia de força atômica da suspensão obtida da hidrólise ácida (método II) usando BC-PTA-5 (NA-II-5) como precursor para obtenção da nanocelulose.

Figura 20 – Micrografias de força atômica (MFA) do material obtido da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método II usando o BC-PTA-5, NA-II-5: (A e B) altura e (C) adesão.



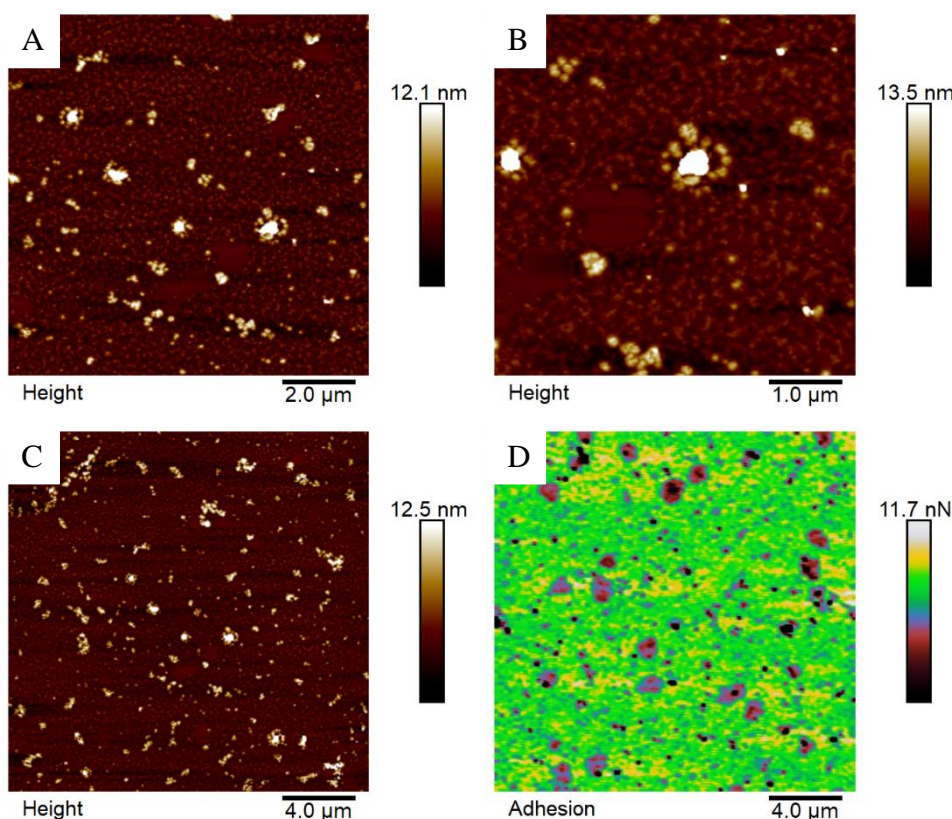
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Ao analisar as imagens da Figura 20, é possível perceber que há algumas partículas que se apresentam na escala nanométrica, com diâmetro variando entre 139 nm e 151 nm (Figura 20A e 20B). Além disso grandes partículas de formato irregular também podem ser visualizadas nas imagens de MFA, revelando agregados de lignina que podem estar influenciando a adesão (Figura 20C). A adesão é uma propriedade importante que pode

influenciar a resistência à tração, então, pode influenciar algumas aplicações desses nanomateriais (YU e YAN, 2017).

A Figura 21 apresenta a micrografia de força atômica da suspensão do material obtido pelo método III, usando o BC-PTA-5 como precursor, nomeado NA-III-5.

Figura 21 – Micrografias de força atômica (MFA) do material obtido da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método III usando o BC-PTA-5, NA-III-5: (A, B e C) altura; (D) adesão.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Analisando as micrografias da Figura 21, nota-se a presença de nanoestruturas com formatos distintos, em alguns casos tem-se algumas mais esféricas e outras sem um formato definido. Pela análise de tamanho de partículas que foi realizada, observou-se que as nanoestruturas presentes na suspensão possuem diâmetro que variam de 100 nm a 120 nm. Ao comparar as características do material NA-III-5 (Figura 21) com as características do NA-II-5 (Figura 20), sendo este último obtido pelo processo de hidrólise com menor tempo reacional, observa-se que NA-III-5 tem partículas com menores diâmetros, o que indica que o maior tempo reacional possibilitou que o ácido sulfúrico hidrolisasse a celulose de forma mais

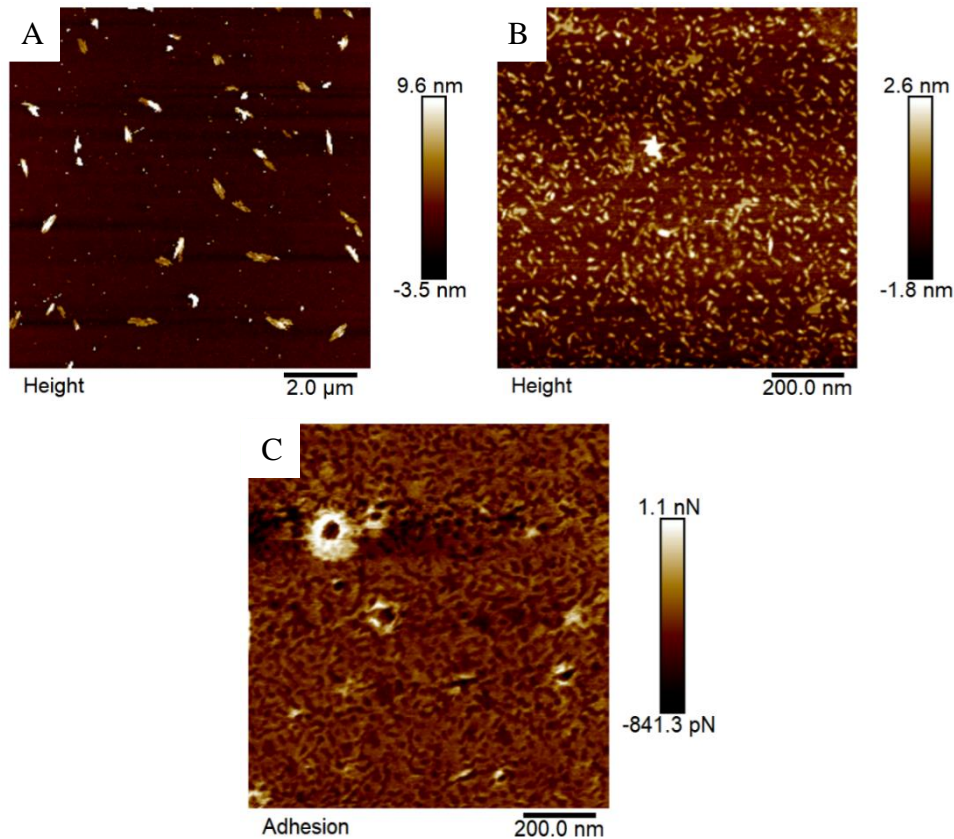
eficiente, formando nanoestruturas em formatos esféricos e com menores diâmetros quando comparado ao NA-II-5.

A formação de nanocelulose esférica pode ser devido à automontagem de hastes curtas de celulose via ligações de hidrogênio interfaciais (LU e HSIEH, 2010; CHEN, *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019). Além disso, o tratamento ultrassônico pode desempenhar um papel importante na formação da nanocelulose esférica (CHEN, *et al.*, 2019; TIAN *et al.*, 2022). Outros estudos também relataram a obtenção de nanocristais esféricos (LU e HSIEH, 2010; AZRINA *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2020) usando algodão, frutos de dendê e polpa de bambu, respectivamente.

Azrina *et al.* (2017) isolaram celulose nanocristalina esférica (NCC) por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico da polpa vazia de cacho de frutos de dendê. Os autores atribuíram a forma esférica a mercerização, moagem, regeneração de fibras antes da hidrólise ácida e pré-tratamento de oxidação assistida por TEMPO (2,2,6,6 tetrametilpiperidina), e também devido ao efeito do ultrassom durante a hidrólise ácida.

Na Figura 22 está representada a micrografia de força atômica da suspensão obtida da hidrólise ácida do método III usando BC-PTA-10 para obtenção da nanocelulose, nomeado de NA-III-10.

Figura 22 – Micrografias de força atômica (MFA) do material obtido da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método III usando o BC-PTA-5, NA-III-5: (A e B) altura e (C) adesão.



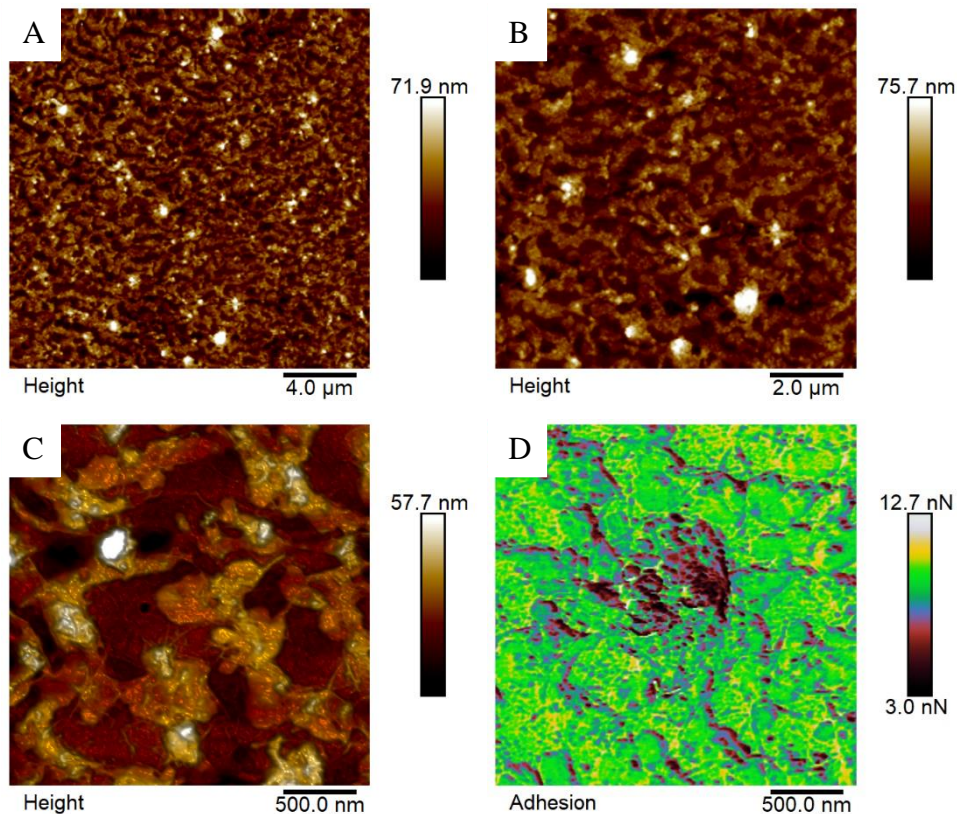
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

As nanoestruturas observadas do NA-III-10 apresentam o formato alongado (agulhas) e possuem diâmetro que variam de 81 nm a 108 nm (Figuras 22A e 22B), exibindo características típicas de nanocristais (THEIVASANTHIA *et al.*, 2018). Ao se comparar as características dos materiais NA-III-10 (Figura 22) com o material resultante do método II (Figura 20), nota-se que a incidência de menores nanoestruturas, indicando que o tempo de reação é um parâmetro fundamental na obtenção de nanocelulose. Na hidrólise ácida, os íons hidrônio penetram nas regiões amorfas das cadeias de celulose e clivam hidroliticamente as ligações glicosídicas, para liberar nanopartículas de celulose cristalinas individuais (Thomas *et al.*, 2018; Yong *et al.*, 2021).

Além dos métodos estudados usando a hidrólise ácida, também foi realizado estudos com o método de hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando o BC-PTA-10 como precursor, que foi selecionado para essa etapa por apresentar um maior rendimento de sólidos na etapa de pré-tratamento quando comparado BC-PTA-5 (vide Tabela 3). Durante a realização desse método foram estudadas duas cargas enzimáticas (7,5 e 12

FPU/g_{celulose}) e dois tempos reacionais (24 h e 48 h), como resultado são obtidas duas frações, uma líquida contendo os açúcares redutores (celobiose e glicose), que será abordado no tópico 4.2.6, e a fração sólida que foi processada com intuito de obter nanocelulose (métodos IV e V). Na Figura 23 é possível observar as micrografias de força atômica do material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando 7,5 FPU/ g celulose durante 24 h – método IV, (NA-IVA-7,5) e o bagaço BC-PTA-10 como precursor.

Figura 23 – Micrografias obtidas por microscopia de força atômica (MFA) do material obtido pelo método IV, usando o BC-PTA-10 como precursor, NA-IVA-7,5. (A, B e C) Altura e (D) adesão.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na imagem (Figura 23) nota-se uma estrutura bastante aglomerada, não sendo possível identificar formação de nanopartículas. Isso pode estar associado ao percentual de lignina residual ($26.6 \% \pm 1.5 \%$) presente na estrutura do precursor (BC-PTA-10) utilizado, em que as condições operacionais do método IV aplicadas ao BC-PTA-10 não foram favoráveis a formação de nanoestruturas. Os resultados corroboram com a análise das micrografias de

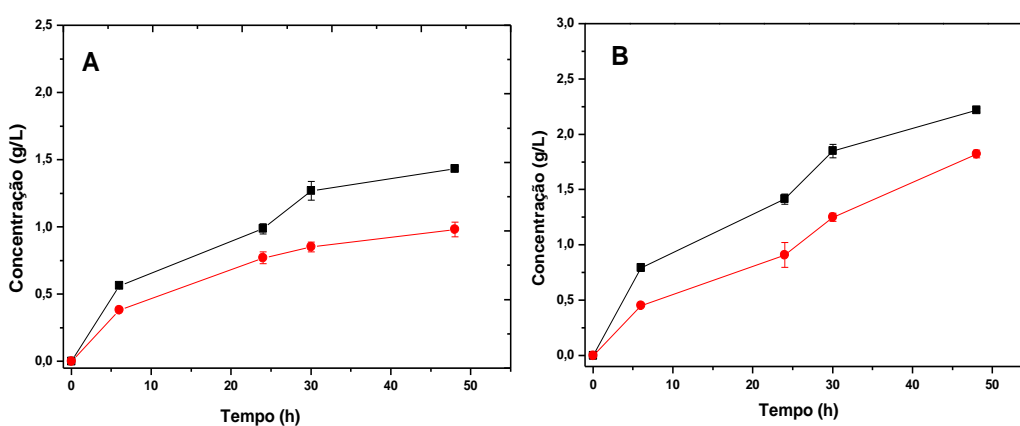
MEV (Figura 18A e 18B).

Outras condições também foram analisadas neste estudo, usando uma maior carga enzimática (12 FPU/g celulose) e um maior tempo reacional (48h). O material resultante foi analisado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pode ser observado nas Figuras 18 e 19. Os resultados do MEV mostraram que com a variação desses parâmetros (tempo e carga enzimática), ocorre um aumento na incidência de algumas fibrilas, podendo ser indícios de nanopartículas. Logo, condições como um maior tempo reacional e maior carga enzimática pode favorecer a formação de nanocelulose via hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando o BC-PTA-10. A análise de MFA para essas outras condições estudadas torna-se necessária, pois fornece imagens em menores escalas e o tamanho das nanoestruturas.

4.2.6 Determinação da concentração de carboidratos obtidos na hidrólise enzimática

O perfil de concentração dos açúcares obtidos no processo de hidrólise enzimática usando o bagaço BC-PTA-10 e diferentes cargas enzimáticas (7,5 e 12 FPU/ g celulose) estão representados na Figura 24. Também, é representado o perfil de digestibilidade da celulose durante a hidrólise enzimática na Figura 25.

Figura 24 - Perfil das concentrações de celobiose e glicose na hidrólise enzimática do BC-PTA-10, usando o complexo enzimático celulase de *Trichoderma reesei* sob agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas: (A) 7,5 FPU/ g_{celulose} e (B) 12 FPU/g_{celulose}. (■) celobiose e (●) glicose.

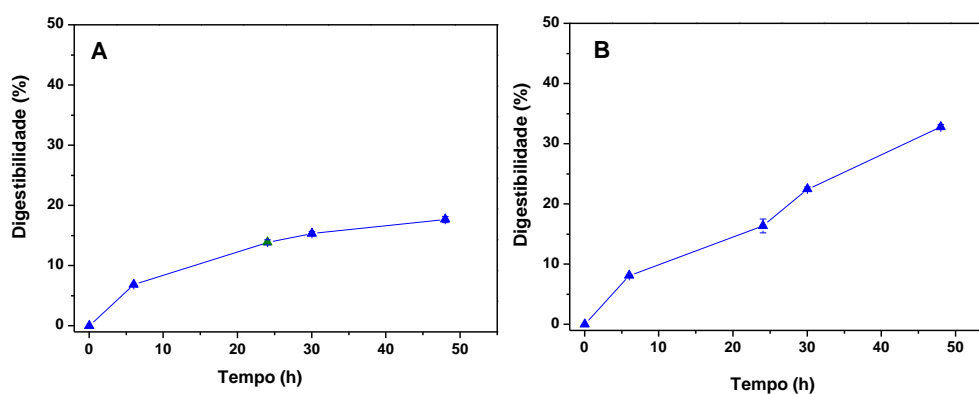


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Ambas as cargas enzimáticas avaliadas conseguiram hidrolisar a celulose presente no BC-PTA-10, em que ocorreu um aumento nas concentrações de celulose e glicose com o aumento do tempo de hidrólise (Figura 24). O açúcar que obteve a maior concentração foi a celobiose, um dissacarídeo de glicose, sendo igual a 1,35 g/L para a carga de 7,5 FPU/g e 2,16 g/L para a carga enzimática de 12 FPU/g celulose com 48 h de hidrólise. Para a glicose, as concentrações obtidas foram iguais 1,02 g/L e 1,7 g/L para os processos usando as cargas enzimáticas 7,5 FPU/g_{celulose} e 12 FPU/g_{celulose}, respectivamente. A maior concentração de celobiose pode ser justificada por não ser usada a enzima β -glucosidase que hidrolisa a celobiose a glicose (Correia *et al.*, 2022).

Os açúcares resultantes do processo de hidrólise enzimática podem ser usados como fonte de carbono para obtenção de produtos de interesse industrial e também em pesquisas científicas. Por exemplo, Barros *et al.* (2017) utilizaram os açúcares provenientes de uma hidrólise enzimática na produção de etanol e Silva *et al.* (2018) utilizaram para a produção de hidrogênio por fermentação no escuro, em que ambos estudos utilizaram o bagaço de caju como matéria-prima.

Figura 25 - Perfil da digestibilidade da celulose na hidrólise enzimática do BC-PTA-10, usando o complexo enzimático celulase de *Trichoderma reesei* sob agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas: (A) 7,5 FPU/g_{celulose} e (B) 12 FPU/g_{celulose}.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na Figura 25 é possível observar que a digestibilidade aumentou ao longo da hidrólise, devido à quebra das ligações β -1,4-glicosídicas das moléculas de celulose, o que favoreceu o acesso das enzimas hidrolíticas ao substrato, favorecendo a digestão do bagaço (REIS *et al.*, 2017). No entanto a digestibilidade máxima alcançada foi usando a carga enzimática de 12 FPU/g_{celulose} que chegou a 33 %, uma digestibilidade baixa, que pode ter sido

ocasionada devido ao teor de lignina (26,56 %) presente no material precursor (BC-PTA-10) e a não suplementação com a enzima β -glucosidase (Correia *et al.*, 2022). Segundo Rocha *et al.* (2009) e Reshmy *et al.* (2022) a presença de quantidades significativas de lignina durante o processo de hidrólise enzimática pode, por vezes, constituir um obstáculo de acesso da celulase à celulose, dificultando o processo de hidrólise.

O outro fator citado, que pode ter afetado a baixa conversão em glicose, é que no complexo enzimático utilizado normalmente há uma baixa quantidade de enzimas β -glucosidase, que durante a hidrólise possui a função de conversão da molécula de celobiose em duas moléculas de glicose (CORREIA *et al.*, 2022; TEIXEIRA *et al.*, 2015). Nos resultados obtidos (vide Figura 24) é observado uma maior concentração de celobiose do que de glicose, identificando a baixa disponibilidade da β -glucosidase.

Na hidrólise enzimática o material que normalmente passa por um pré-tratamento para uma melhor eficiência da hidrólise é solubilizado na solução tampão com o complexo enzimático, que tem como função quebrar o polímero da celulose em polímeros menores. As endoglucanases possuem uma atividade relativamente moderada e realizam a hidrólise de regiões de celulose amorfa sem hidrólise completa para glicose, mas preservando o domínio de celulose cristalina de forma adequada (BHAT e BHAT, 1997; RIBEIRO *et al.*, 2019). Logo, é necessário um equilíbrio entre a carga enzimática, o tempo reacional e a composição do material para que ocorra a formação das nanoestruturas utilizando o método de hidrólise enzimática.

4.3 Processo de obtenção de nanocelulose usando como matéria-prima o bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (PT-HA)

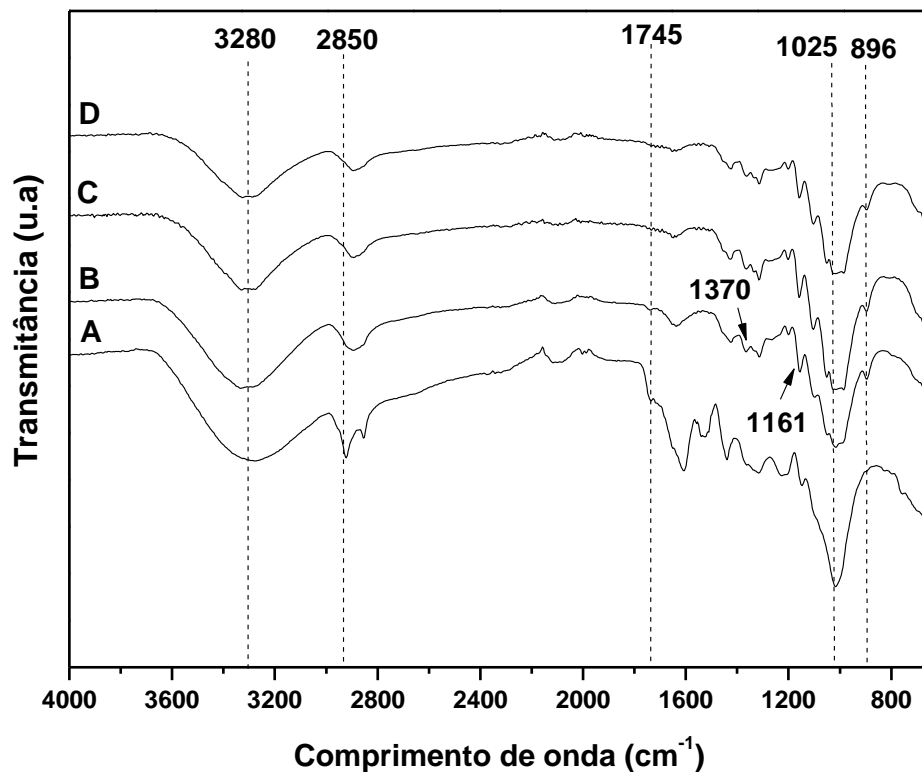
O bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) foi utilizado para produção de nanocelulose por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (métodos II e III), e também por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (métodos IV e V). Para o material resultante dos métodos II e III foram realizadas análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA), microscopia de varredura eletrônica (MEV) e por microscopia de força atômica (MFA). Os métodos realizados usando hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico resultam em uma fração líquida (detentora de carboidratos que foram lidos por cromatografia líquida de alta eficiência e estão representados no tópico 4.3.5) e uma

fração sólida (responsável pela obtenção de nanopartículas) que também foram caracterizadas por FTIR, TGA, MEV e MFA.

4.3.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As análises por transmissão na região do infravermelho foram realizadas para detectar a presença dos grupos químicos presentes na estrutura do bagaço de caju *in natura*, no bagaço de caju pré-tratado por ácido seguido de álcali (BC-PT-HA), e dos possíveis materiais nanométricos obtidos por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico conduzida pelos métodos II e III, e pelos métodos de hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, pelos métodos IV e V. Os espectrogramas obtidos para essas amostras podem ser observados na Figura 26.

Figura 26 – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju *in natura* (A), BC após pré-tratamento ácido seguido de alcali (BC-PT-HA) (B), e do material resultante da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, usando o método II NA-II-HA (C) e o método III – NA-III-HA (D).



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

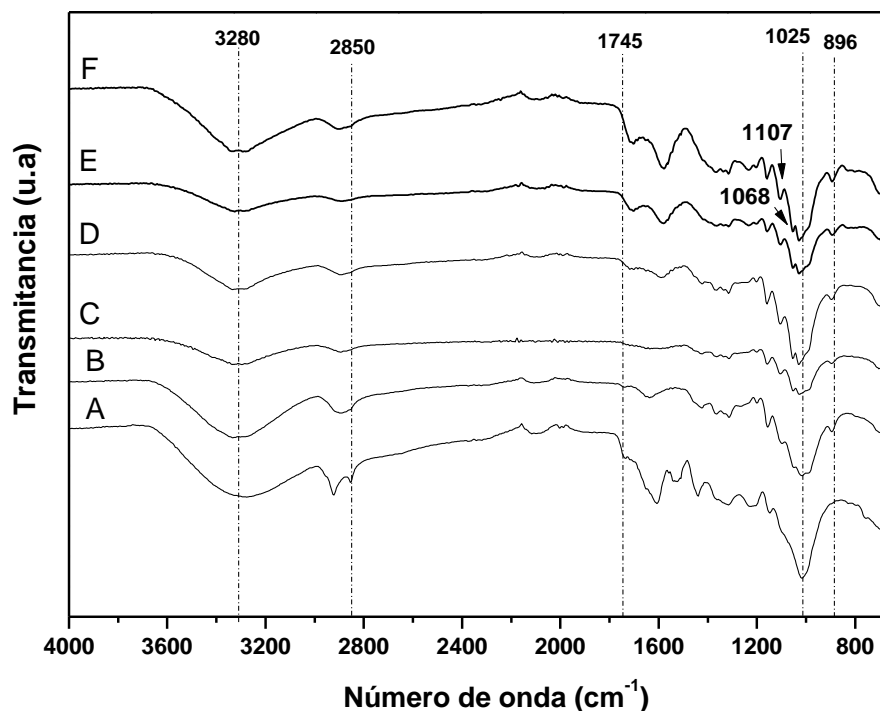
Algumas variações nos espectros de FTIR do bagaço de caju pré-tratado por álcali (BC-PTA-5 e BC-PTA-10) se repetiram no espectro de FTIR do material pré-tratado com ácido seguido de álcali (BC-PT-HA), como a presença da banda a 896 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-H de ligações β -glicosídicas. Também, a banda a 1161 cm^{-1} está bastante explícita no espectro B, a qual corresponde a uma ponte assimétrica que se estende em ligações de éster da celulose, assim como a banda 1370 cm^{-1} correspondente a vibração do grupo C-H, evidenciando que a celulose se tornou mais exposta após o pré-tratamento. Ressalta-se ainda a inexistência da banda a 1745 cm^{-1} relacionada ao éster ligado ao grupo acetil, furoilil e p-cumaril na estrutura do material BC-PT-HA (B), que caracteriza a lignina, mostrando, portanto, que o pré-tratamento PT-HA conseguiu remover lignina da estrutura do bagaço de caju.

Diante das considerações acerca das análises dos espectros de FTIR após o pré-tratamento, nota-se que os resultados corroboram com os dados da caracterização presentes na Tabela 3, em que o pré-tratamento avaliado foi capaz de remover parte dos biopolímeros de hemicelulose e lignina, aumentando a disponibilidade da celulose para obtenção do seu respectivo nanopolímero.

Após o BC-PT-HA ser submetido a hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (métodos II e III), cujo espectros (C) e (D) representam os materiais obtidos, respectivamente, pode ser observado o surgimento da banda 1647 cm^{-1} que pode ser atribuída a vibração de flexão dos grupos OH da celulose, estando mais bem definida que nos espectros anteriores (BENINI *et al.*, 2018).

Na Figura 27 estão representados os espectrogramas obtidos após o pré-tratamento ácido seguido de álcali e também o material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico conduzida pelos métodos IV e V.

Figura 27 – Espectrogramas obtidos no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do bagaço de caju *in natura* – BC (A), BC pré-tratado BC-PT-HA (B), e do material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando diferentes cargas enzimáticas: método IV - 7,5 FPU/g_{celulose} - NA-IV-7,5 (C) e 12 FPU/g_{celulose} (NA-IV-12) (D) com 24 h de hidrólise, e método V - 7,5 FPU/g_{celulose} - NA-V-7,5 (E) e 12 FPU/g_{celulose} - NA-IV-12 (F) com 48 h de hidrólise



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Ao observar os espectrogramas (Figura 27) é possível notar que a maioria das bandas já existentes no bagaço de caju após o tratamento PT-HA (ácido seguido de álcali) se mantiveram. A banda 1068 cm^{-1} que surgiu após os métodos (IV e V), pode estar associada ao efeito da ligação de éter (C – O – C) da vibração esquelética tanto da pentose quanto da hexose, sendo contribuição unitária de hemicelulose e celulose, respectivamente (LOPES *et al.*, 2013). No geral, todas as bandas mantiveram sua posição após a hidrólise enzimática e ultrassom. As absorções localizadas em 1107 , 1150 e 1161 cm^{-1} são atribuídas à estrutura glicosídicas (MAITI *et al.*, 2013).

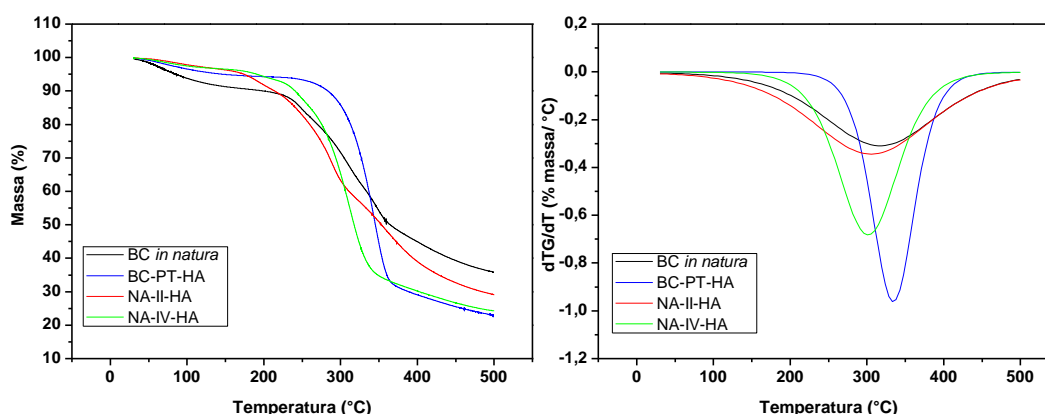
Ao comparar os espectrogramas obtidos da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico do BC tratado por álcali - BC-PTA-10 (vide Figura 11) é possível notar que as bandas existentes entre eles são as mesmas obtidas usando o BC tratado por ácido seguido álcali - BC-PT-HA (vide Figura 27). No entanto, as bandas atribuídas às estruturas glicosídicas estão melhores definidas quando a hidrólise teve duração de 48 h do que com 24

h, em que neste caso pode ter ocorrido uma hidrólise mais eficiente das frações de celulose, tornando os seus sinais mais evidentes.

4.3.2 Análise Termogravimétrica (TGA)

Os termogramas do bagaço de caju *in natura*, do bagaço de caju pré-tratado por ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) e dos materiais obtidos pelo método II e por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método IV estão representados na Figura 28.

Figura 28 - Termogramas (esquerda: TG e direita: DTG) do BC *in natura*, ao bagaço pré-tratado BC-PT-HA e dos materiais obtidos por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico – método II (NA-II-HA) e por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico-método IV usando a carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} com 24 h de hidrólise (NA-IV-HA).



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O BC-PT-HA apresentou maior resistência a degradação térmica, atingindo o pico de aproximadamente 340 °C, quando comparado ao BC *in natura*, em que o maior pico de degradação ocorreu em aproximadamente 300 °C. O material (BC-PT-HA) também mostrou uma maior estabilidade térmica, que pode ter ocorrido devido ao seu alto percentual de celulose. De acordo com Meyabadi *et al.* (2014), fibras de celulose que são mais ordenadas acabam requerendo mais energia para a degradação do polímero, logo esta mudança é o resultado da maior cristalinidade (56,71 %) do material após o pré-tratamento, pois apresenta um maior percentual de celulose quando comparado ao BC *in natura*.

Após o procedimento da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, usando o método II, nota-se que o material obtido (NA-II-HA), possui uma estabilidade térmica inferior ao seu precursor (BC-PT-HA), que provavelmente pode ocorrer devido a introdução de grupos sulfato provenientes do ácido sulfúrico (MORIANA, VILAPLANA E EK, 2016).

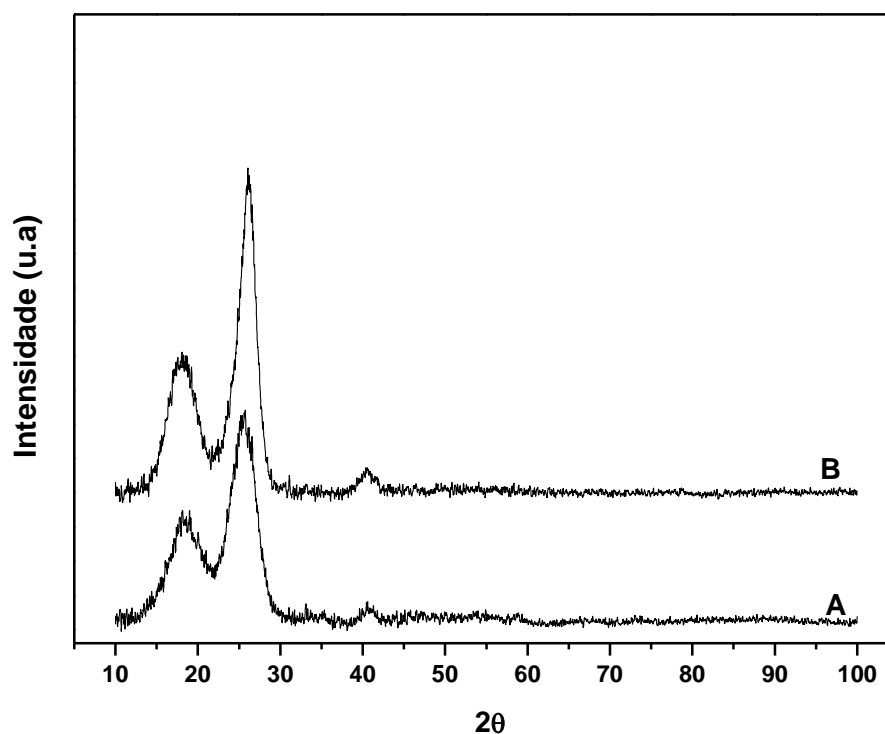
Comportamento semelhante aos termogramas apresentados na Figura 16, foram observados por Mandal e Chakrabarty (2011) que utilizaram o bagaço de cana de açúcar na produção de nanocelulose, e observou-se que após a remoção de hemicelulose e lignina as curvas TG e DTG adquiriram um perfil semelhante ao observado acima. O bagaço de cana não tratado iniciou a perda de massa em 273 °C e atingiu seu pico máximo a 363 °C, enquanto o tratado com álcali iniciou a 343 °C e a taxa de degradação atingiu o máximo a 370 °C. Ainda segundo os autores, no bagaço tratado com álcali, o qual apresentava um maior teor de celulose (celulose quase pura), a estrutura da celulose se torna mais densa e compacta, aumentando, portanto, sua temperatura inicial de degradação, após remoção de todos esses materiais não celulósicos.

O material obtido usando o método IV (NA-IV-HA) apresentou uma menor estabilidade térmica quando comparado ao BC-PT-HA, isso pode ter ocorrido devido a degradação dos materiais celulósicos. A maior diferença observada nos termogramas desses materiais (NA-IV-HA e BC-PT-HA) está entre a temperatura de 200 °C a 350 °C, ocorrendo nesta faixa de temperatura a degradação da hemicelulose e celulose. A curva do material após a hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (NA-IV-HA), deslocou-se mais para a esquerda do BC-PT-HA. Nesse caso a celulose está muito mais exposta e de fácil acesso para as enzimas do que o BC-PTA-10 estudado no tópico anterior, resultando em uma hidrólise mais eficiente, gerando maiores concentrações de açúcares redutores e produção de nanoestruturas, como será observado nas análises realizada por MFA e MEV (tópicos 4.3.4 e 4.3.5).

4.3.3 Difração de raios X (DRX)

A Figura 29 apresenta os difratogramas de raios x para o bagaço de caju *in natura* e do bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (BC-PT-HA), para analisar o índice de cristalinidade e as mudanças estruturais no material após o pré-tratamento.

Figura 29 - Difratomogramas de raios X do bagaço de caju *in natura* (A) e do bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (BC-PTA-HA) (B).



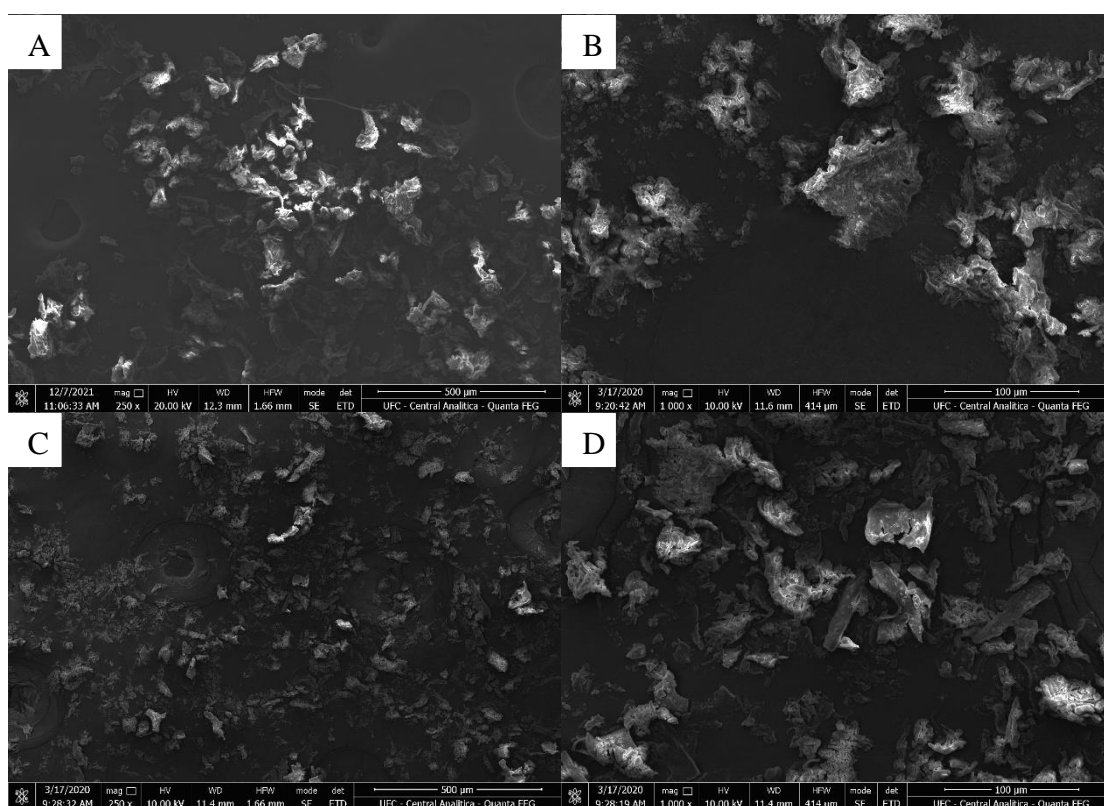
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Analisando os difratogramas é possível notar que ocorreu um aumento na intensidade dos picos nos ângulos característicos da celulose ($2\theta = 18^\circ$ e $2\theta = 25,7^\circ$) no BC-PT-HA, apresentando um índice de cristalinidade de 38,45 %, calculado a partir da Equação 9, ocasionando um aumento de 26 % do índice de cristalinidade ao comparar com o bagaço de caju *in natura*, sendo um resultado próximo aos obtidos com o bagaço de caju submetido aos pré-tratamentos alcalinos (BC-PTA-5 e BC-PTA-10). Como já mencionado anteriormente, esse aumento ocorre devido a solubilização das frações amorfas, não celulósicas, tornando a celulose mais exposta, sendo um resultado interessante para a produção de nanocelulose. Essa etapa do pré-tratamento melhora a acessibilidade e a reatividade da celulose, facilitando as etapas posteriores da produção de nanocelulose.

4.3.4 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

Na Figura 30 estão representadas as micrografias do material resultante das hidrólises ácidas conduzidas pelos métodos II e III para obtenção de nanocelulose usando o BC-PT-HA como precursor.

Figura 30 - Micrografia eletrônica de varredura do bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) e do material obtido da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método II (NA-II-HA): (A) 250 x e (B) 1000x, e pelo método (III) (NA-III-HA): (E) 250 x e (F) 1000x.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

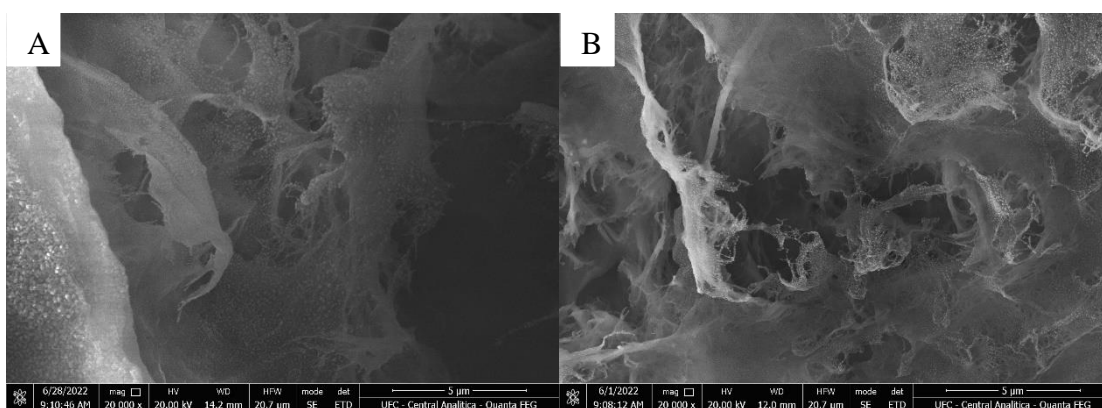
O processo de pré-tratamento ácido seguido de álcali promoveu uma maior exposição da celulose devido a solubilização da lignina e também da hemicelulose, como pode ser verificado pela composição do BC-PT-HA, precursor que apresentou o maior percentual de celulose (vide Tabela 3). Quando realizado a hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, pelo método II de obtenção da nanocelulose é possível notar que as estruturas expostas são semelhantes a hastes (vide Figuras 30A e 30B). Essa modificação pode ter ocorrido devido à quebra das ligações de hidrogênio e clivagem dos domínios amorfos da fibra para produzir bastões cristalinos bem definidos (GRISHKEWICH *et al.*, 2017), ou seja, ocorre

a decomposição do material amorfo que possui uma estrutura mais desordenada, deixando exposta a parte cristalina, a qual possui uma estrutura mais organizada e em forma de bastonetes, durante o processo de hidrólise ácida.

A Figura 30 apresenta as micrografias do material obtido após realizado o método III para a produção de nanocelulose. Ao comparar as estruturas dos materiais obtidos usando os métodos II (NA-II-HA) e III (NA-III-HA), observa-se que ocorreu uma hidrólise efetiva da estrutura dos materiais, havendo uma maior fragmentação e presença de partículas de diferentes formas, indicando que pode ter ocorrido formação de nanocelulose. Para uma melhor visualização da estrutura e comprovação da ocorrência de nanoestruturas foi realizado a microscopia de força atômica (MFA) das amostras (tópico 4.3.5).

Também, realizou-se análises de MEV com a fração sólida do material submetido a hidrólise enzimática pelos métodos IV e V (Figuras 31 e 32).

Figura 31 – Micrografia de varredura eletrônica (MEV) do material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (método IV), usando diferentes cargas enzimáticas: (A) NA-IV-7,5 (obtido pelo método IV - 7,5 FPU/g celulose) com magnitude de 20000x, (B) NA-IV-12 (obtido pelo método IV - 12 FPU/g celulose) com magnitude de 20000x.

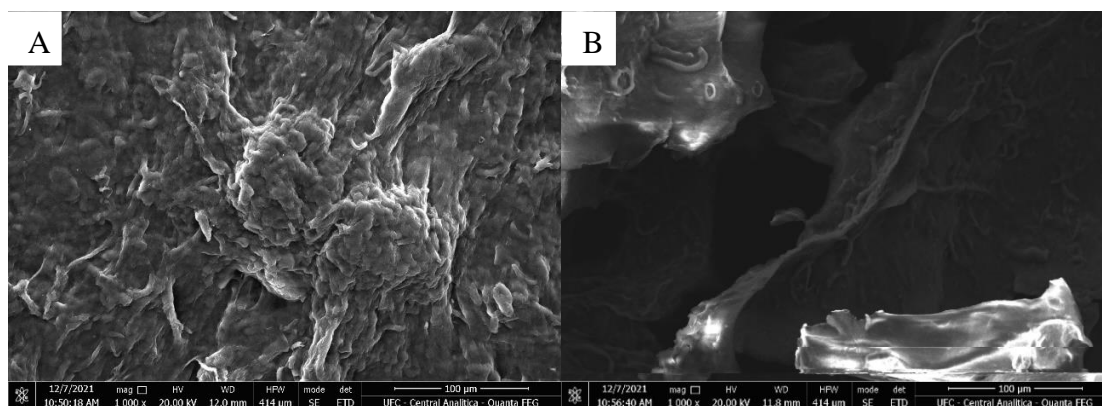


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A Figura 31A apresenta a microscopia do material resultante da hidrólise enzimática conduzida usando uma carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} durante 24 h (método IV), a qual é possível notar a presença de fibras finas e também algumas estruturas semelhantes a esferas, aparentemente em escala nanométrica. Já na Figura 31B existe uma presença ainda maior dessas fibras, parecem teias emaranhadas e também com a presença de estruturas semelhantes a esferas, como a carga enzimática utilizada foi maior, deve ter ocorrido também uma maior degradação da celulose. Para esse método optou-se por realizar a microscopia de força atômica do material NA-IV-7,5, pois devido a menor carga enzimática utilizada pode ter

ocorrido uma menor conversão da celulose em açúcares, podendo ter ocasionado formação de nanoestruturas.

Figura 32 – Microscopia de varredura eletrônica (MEV) do material obtido por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, conduzida usando a carga enzimática 7,5 FPU/g_{celulose}, (A) NA-V-7,5, e 12 FPU/g_{celulose}, (B) NA-IV-12, com magnificações de 1000 x.



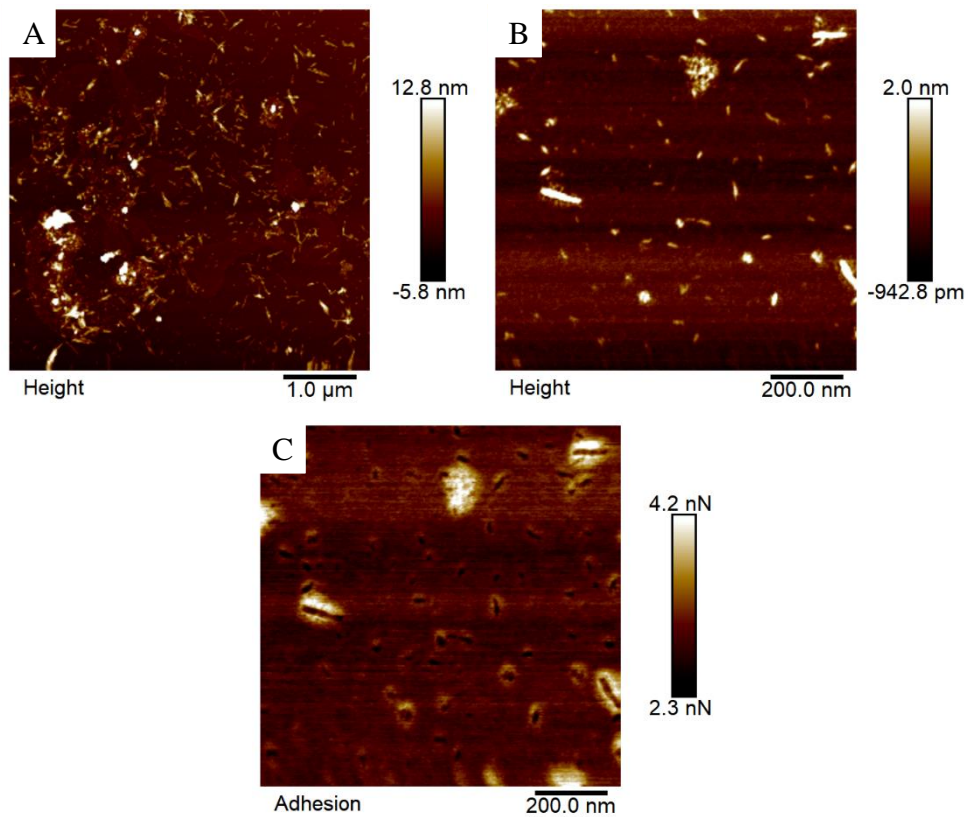
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O material resultante após o ataque enzimático possui uma superfície irregular e bastante rugosa que é uma característica da celulose de bagaço de caju (Figura 32A), também observada nas estruturas anteriormente analisadas. É possível observar que com o aumento da carga enzimática (Figuras 32B), observa-se estruturas menos uniformes e com mais aberturas, como se tivesse ocorrido uma degradação maior do material. A Figura 32B mostra algumas fibras mais finas quando comparadas as imagens presentes nas Figuras 32A.

4.3.5 Microscopia de força atômica (MFA)

A análise de microscopia de força atômica foi realizada com os materiais resultantes da hidrólise ácida usando os métodos II (NA-II-HA) e III (NA-III-HA) de obtenção de nanocelulose com o bagaço de caju pré-tratado por ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) e as micrografias estão apresentadas nas Figuras 33 e 34.

Figura 33 – Imagens de microscopia de força atômica (MFA) do material obtido do método II (NA-II-HA) usando o BC-PT-HA como precursor. (A e B) altura e (C) adesão.

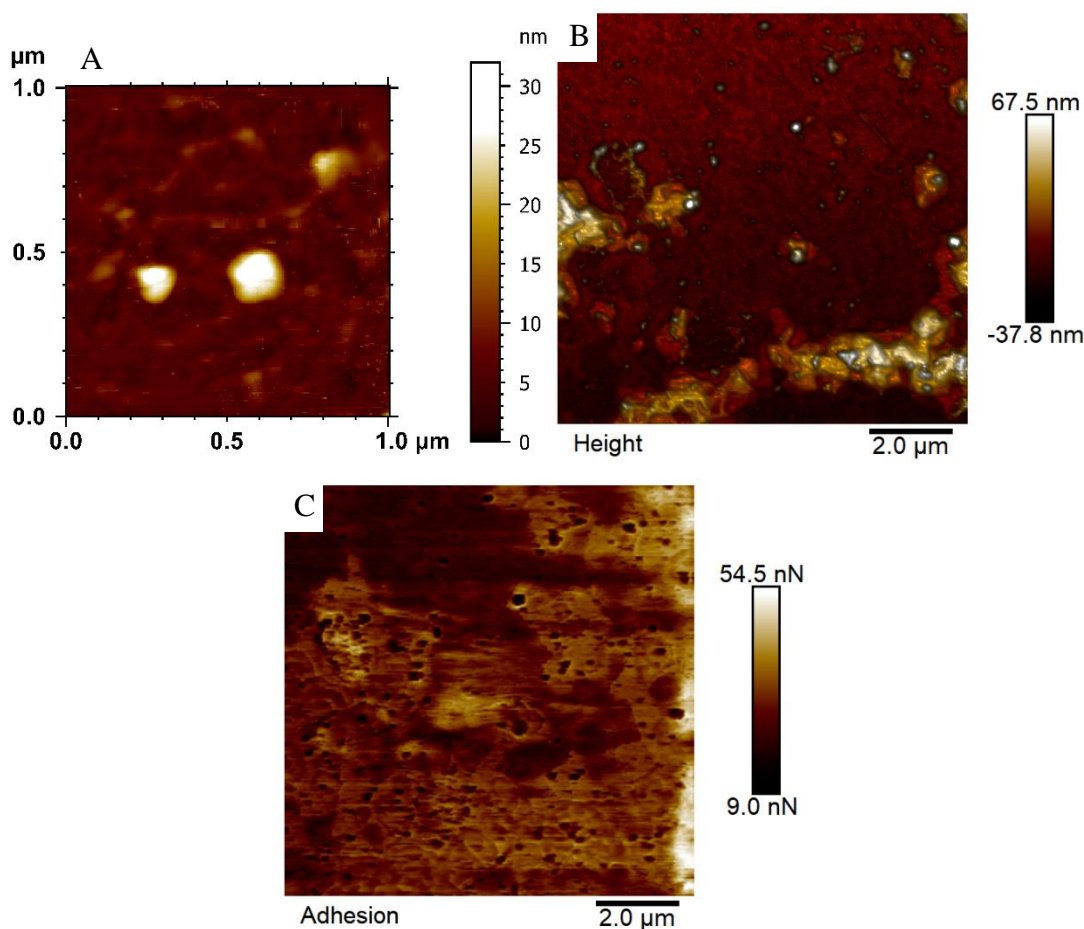


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

As micrografias mostradas na Figura 33 comprova que o material NA-II-HA apresenta estrutura em escala manométrica, com nanoestruturas em formato de agulhas de diâmetros entre 30 nm e 40 nm. Em apenas 1 h de hidrólise ácida foi possível obter nanocristais com diâmetros menores do que os resultantes da hidrólise ácida por 5 h do BC-PTA-5 e BC-PTA-10, que foram estudados no tópico anterior. Como o BC-PT-HA possui um maior teor de celulose, o ácido consegue acessar a celulose mais rapidamente e de forma mais eficiente, conseguindo degradar a região amorfa da celulose e produzir nanocristais com menores dimensões.

A Figura 34 representa as micrografias de força atômica utilizando do material obtido por hidrólise ácida conduzida pelo método III usando o BC-PT-HA para obtenção de nanocelulose.

Figura 34 – Imagens de microscopia de força atômica (MFA) do material resultante da hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, conduzida pelo método III usando o BC-PT-HA como precursor para obtenção de nanocelulose (NA-III-HA). (A e B) Altura e (C) adesão.

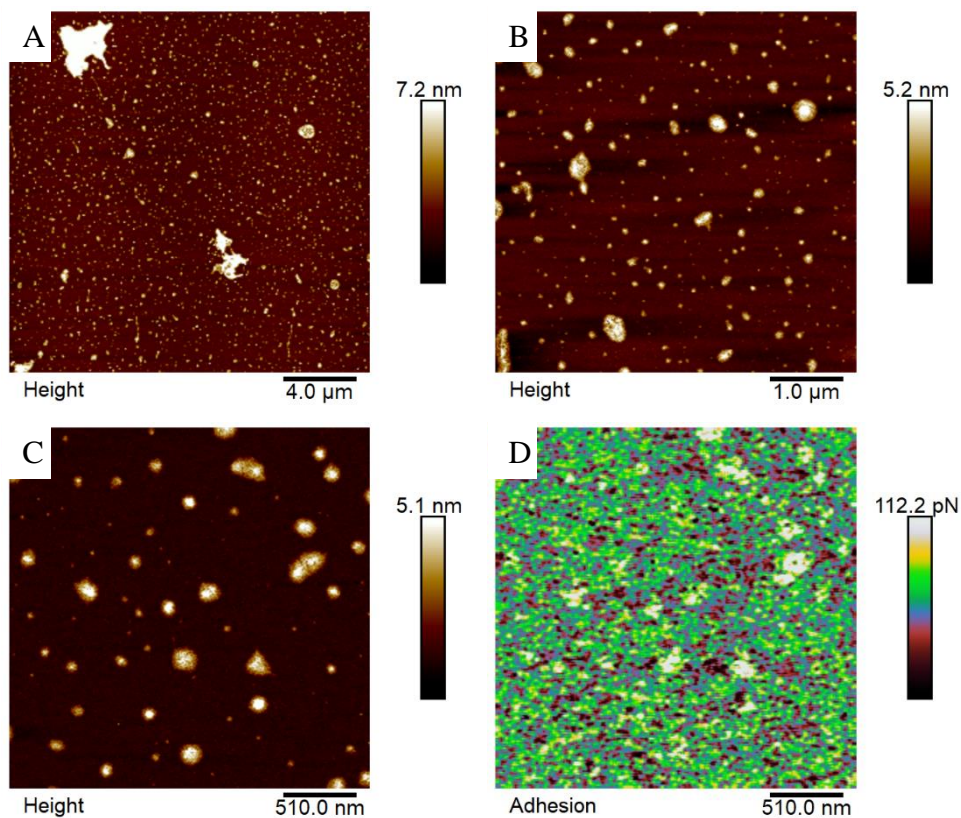


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na Figura 34, analisando todas as micrografias (A a C), observa-se que não foi possível haver formação de cristais ou fibras de nanocelulose, mostrando que o tempo de produção de nanocelulose é fator crítico capaz de definir a formação ou não das nanoestruturas, ou seja, comparando-se o método II com III, os quais foram conduzidos com 1 h e 5 h, respectivamente, é possível perceber que com o maior tempo reacional ocorreu uma degradação bastante intensa tanto da estrutura amorfa quanto da cristalina, não conseguindo haver formação de nanocristais de celulose. Comparando os materiais precursores, BC-PTA e BC-PT-HA, observa-se que este último foi mais eficiente na obtenção de nanopartículas, provavelmente por possuir um maior percentual de celulose e menor quantidade de hemicelulose e lignina (vide Tabela 3).

Na Figura 35 está representado as micrografias obtidas por microscopia de força atômica para o material submetido a hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando BC-PT-HA e 7,5 FPU/ g celulose durante 24 h (NA-IV-7,5), ressalta-se novamente, que apenas este material obtido por hidrólise enzimática do BC-PT-HA foi realizada a análise de MFA.

Figura 35 – Imagens de microscopia de força atômica (MFA) do material resultante após pré-tratamento ácido seguido de álcali e hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico IV (NA-IV-7,5). (A); (B) e (C) altura; (D) adesão.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

É possível notar nas micrografias (Figura 35A, 35B e 35C) que ocorreu produção de nanoestruturas com formatos globulares que possuem valor mínimo de diâmetro igual a 57,26 nm e máximo de 220,66 nm. Também, pode ser observado na Figura 35 D que as nanoestruturas possuem baixa adesão entre elas.

As nanopartículas de celulose com morfologia esférica também foram estudadas por Meyabadi *et al.* (2014), que obtiveram nanoesferas de celulose através da hidrólise enzimática de resíduos de fibras de algodão (teor de celulose > 95 %) e tratamento usando

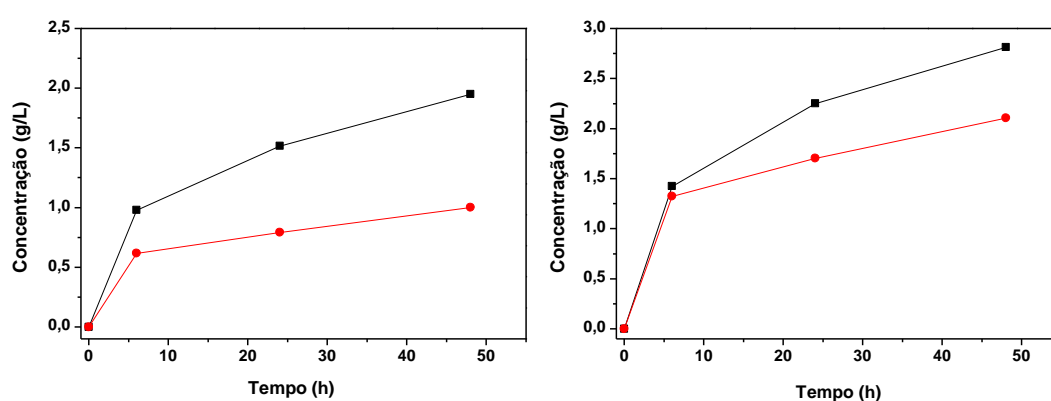
sonicação. Os autores Li *et al.* (2020) usando o pré-tratamento em duas etapas, tratamento enzimático e subsequente homogeneização de alta pressão (HPH), que levou a expor regiões mais amorfas em fibras de bambu e conseqüentemente melhorar a eficiência da hidrólise, obtiveram nanoesferas de celulose usando baixa concentração de H_2SO_4 (45 % p/v).

A fração líquida resultante do processo de hidrólise enzimática que contém teores de açúcares redutores foi analisada, e os perfis das concentrações dos açúcares e da digestibilidade da celulose durante a hidrólise enzimática podem ser observados nas Figuras 36 e 37, respectivamente.

4.3.6 Determinação da concentração de carboidratos

A Figura 36 apresenta os perfis dos carboidratos obtidos da hidrólise enzimática, utilizando diferentes cargas enzimáticas do complexo celulase de *Trichoderma reesei* ATCC 26921, 7,5 FPU/ g_{celulose} e 12 FPU/g_{celulose}.

Figura 36 - Perfil das concentrações de celobiose e glicose na hidrólise enzimática do BC-PTA-HA, usando o complexo enzimático celulase de *Trichoderma reesei* sob agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas: (A) 7,5 FPU/g_{celulose} e (B) 12 FPU/g_{celulose}. (■) celobiose e (●) glicose.



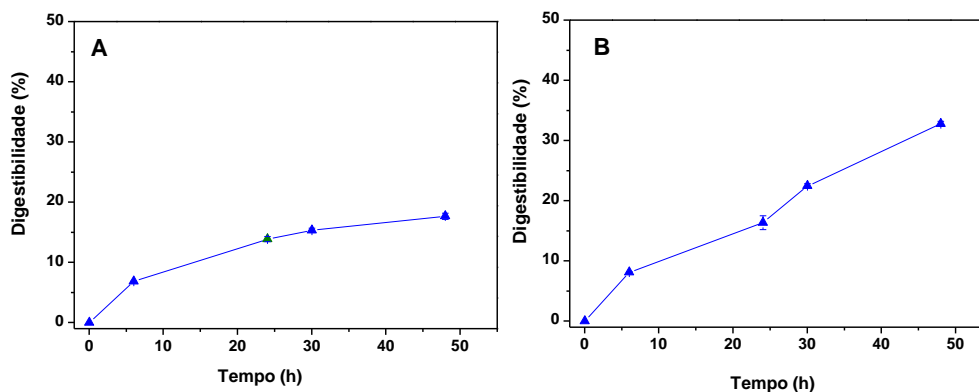
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Para ambas as cargas enzimáticas avaliadas ocorreu um aumento expressivo das concentrações de açúcares redutores totais com o tempo de hidrólise. O açúcar que obteve a maior concentração foi a celobiose sendo obtido 1,95 g/L e 2,8 g/L usando as cargas

enzimáticas de 7,5 FPU/g_{celulose} e 12 FPU/g_{celulose}, respectivamente. As concentrações de glicose obtidas foram 1,0 g/L e 2,1 g/L, usando as cargas 7,5 FPU/g_{celulose} e 12 FPU/g_{celulose}, respectivamente. Nos ensaios em que se utilizou uma maior carga enzimática foram obtidas maiores concentrações de açúcares, o que já era esperado, devido a maior quantidade de enzimas disponíveis para atuarem na hidrólise da celulose.

Na produção de nanocelulose por hidrólise enzimática, os resultados da Figura 36 indicam que houve a solubilização de parte da estrutura da celulose pela presença de glicose e celobiose no hidrolisado enzimático. Esse processo pode resultar não só no rompimento da estrutura cristalina da celulose como também na produção de nanopartículas. Essa fração líquida (açúcares redutores) da hidrólise enzimática por sua vez, já é bastante utilizada pelo grupo de pesquisa GPBio para produção de bioetanol (BARROS *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2016). Na Figura 37 está representado o perfil de digestibilidade da celulose durante a hidrólise enzimática.

Figura 37 - Perfil da digestibilidade da celulose na hidrólise enzimática do BC-PTA-HA, usando o complexo enzimático celulase de *Trichoderma reesei* sob agitação constante de 200 RPM a 50 °C, com diferentes cargas enzimáticas: (A) 7,5 FPU/ g_{celulose} e (B) 12 FPU/g_{celulose}.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O BC-PT-HA apresentou valores de digestibilidade maiores do que os obtidos utilizando o BC-PTA-10, no entanto a maior digestibilidade encontrada foi de 40 % para a carga enzimática de 12 FPU/g_{celulose}, digestibilidade ainda baixa, apesar do maior teor de celulose presente no BC-PT-HA, indicando que a digestibilidade pode ter sido afetada não somente pelo teor de lignina, mas também pela falta de suplementação da enzima β -glucosidase. Essa enzima normalmente vem com baixa atividade nos complexos enzimáticos de celulase. Logo, essa suplementação teria convertido de forma mais eficaz as moléculas de celobiose em glicose, tornando as concentrações de glicose maiores e como consequência uma maior digestibilidade.

Alguns estudos utilizam a suplementação da β -glicosidase, a exemplo Barros *et al.* (2017) e Rodrigues *et al.* (2011) que utilizaram os extratos enzimáticos comerciais, Celuclast 1,5 L e β -glicosidase (NS 50010), para uma melhor conversão da celulose em glicose. No entanto, essa suplementação pode interferir negativamente na formação de nanocelulose, por isso não foi adicionada a enzima β -glicosidase na obtenção da nanocelulose.

Essa explicação pode ser evidenciada pelos resultados obtidos por MFA (vide Figura 37) mostraram que usando a carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} e o tempo de 24 h (método IV) foi possível obter estruturas nanométricas, indicando que para o estudo de produção de nanocelulose essa baixa digestibilidade da celulose em açúcares redutores favorece a produção de nanoestruturas. E os açúcares resultantes, apesar de em baixas concentrações podem ser aplicado na produção de outros bioprodutos.

4.4 Rendimento de nanocelulose pelos diferentes métodos e pré-tratamentos avaliados

Os rendimentos das nanoestruturas obtidas por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (métodos II e III), e hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (IV), estão representados na Tabela 6, os quais foram conduzidos usando o bagaço de caju pré-tratado BC-PTA-10 e BC-PT-HA como precursores, sendo os rendimentos calculados com relação a massa de bagaço pré-tratado.

Tabela 6 - Rendimentos de nanocelulose obtidos por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico (métodos II e III), e por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (método IV).

Amostra	R_{BT} (%)
NA-II-HA	4,25 \pm 0,25
NA-III-5	7,35 \pm 0,15
NA-III-10	7,55 \pm 1,22
NA-IV-7,5	65,12 \pm 2,90

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Todas as amostras obtidas por hidrólise ácida (NA-III-10, NA-III-5 e NA-II-HA) apresentaram rendimentos entre 7 % a 10 %. Esses rendimentos são superiores aos encontrados por Filson E Dawson-Andoh (2009), que investigaram a obtenção de nanocristais de celulose a

partir de celulose de madeira microcristalina (Avicel) e polpa reciclada de madeira por hidrólise sono-química assistida, usando ácido maléico, reportando rendimentos em relação à fração inicial do material de partida iguais a 3 % e 5 % para Avicel e para a polpa reciclada, respectivamente.

Pode ser observado também que as amostras com maior teor de lignina (NA-III-5 e NA-III-10) propiciaram um maior rendimento, o qual provavelmente foi influenciado pela lignina impregnada com as nanoestruturas de celulose. Além disso, no caso do nanomaterial NC-II-HA, em que a celulose está mais exposta, fica mais acessível para o ácido degradá-la, o que deve ter diminuído o rendimento pela conversão dos nanocristais nas moléculas dos açúcares.

O material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico (NA-IV-7,5), que foi realizada usando concentração de substrato de 0,5 % (m/v), carga enzimática de 7,5 FPU/g_{celulose} da enzima celulase de *trichoderma reesei*, e tempo reacional de 24 h, apresentou um rendimento igual a 65,12%. Meyabadi *et al.* (2014) produziram nanopartículas usando o algodão como matéria-prima, e também utilizaram o método de hidrólise enzimática, sob as condições: 2,3% de enzima celulase e concentração de substrato de 5 g/L por 175 h, e conseguiram um rendimento inferior a 20 %. Justificaram o baixo rendimento encontrado ao fato de que a enzima converte uma quantidade significativa de celulose em glicose, celobiose, celotriose e celotetraose. Logo, quando se tem uma maior conversão de celulose em açúcares, conseqüentemente apresenta um menor rendimento de nanopartículas. O maior rendimento de nanopartículas que foi obtido neste estudo, pode estar associado ao tempo reacional da hidrólise enzimática, que foi de 24 h enquanto Meyabadi *et al.* (2014) submeteu a matéria-prima (algodão) a 175 h de hidrólise, esse maior tempo aliado a alta concentração de celulose presente no algodão, pode ter contribuído para maior conversão de celulose em açúcares e diminuído o rendimento em nanopartículas.

4.5 Produção de filmes

Os polímeros biodegradáveis tornaram-se matrizes poliméricas que despertam bastante interesse principalmente devido às preocupações ambientais. Portanto, há uma necessidade urgente em gerar biopolímeros, baseados em fontes renováveis (KARGARZADEH *et al.*, 2018). Como observado ao longo dos tópicos anteriores, foram realizados métodos para obtenção de nanoestruturas usando hidrólise enzimática e hidrólise ácida. O uso de métodos enzimáticos para síntese de nanoestruturas oferece diversos benefícios,

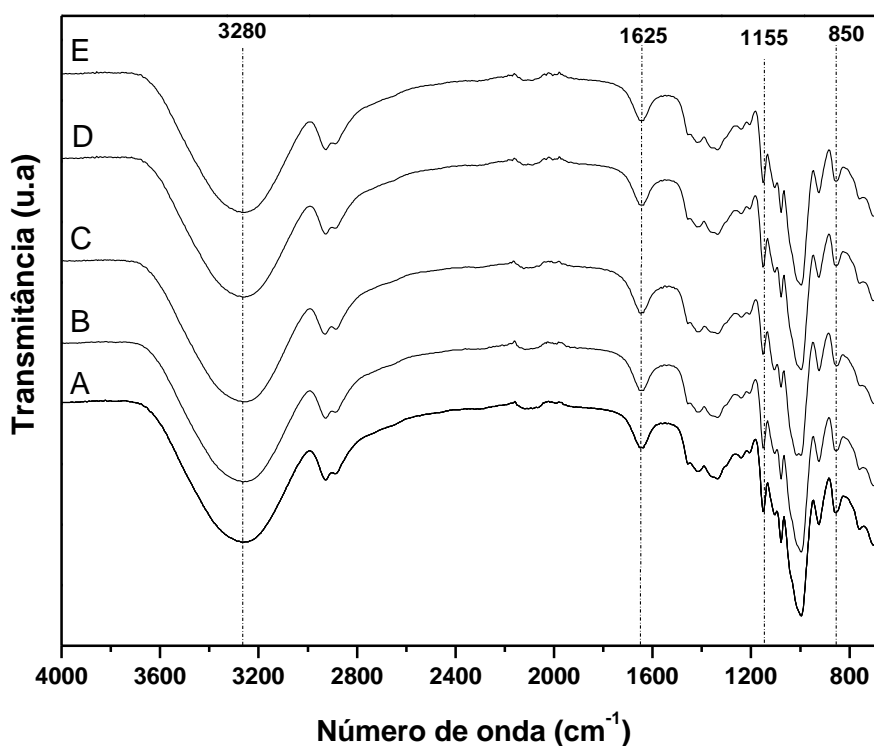
como o não uso de agentes corrosivos, podendo gerar uma diminuição no potencial de toxicidade para o corpo humano, permitindo um uso mais difundido em nanomedicina, alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (RESHMY *et al.*, 2022).

Além disso, o NA-IV-7,5 resultante da hidrólise enzimática (método IV), apresentou o maior rendimento, quando comparado aos demais métodos. Dessa maneira, optou-se por utilizar esse material para produção de filmes, juntamente com o NA-IV-7,5 também resultante do método IV, no entanto como resultado prevaleceu a formação de microestruturas. Os dois materiais foram escolhidos com o intuito de analisar a diferença nas propriedades que os filmes irão obter quando as estruturas nanométricas e as em escala de micrômetros contendo lignina residual, vão ocasionar quando incorporadas ao filme controle.

4.5.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 38 está representado o espectrograma do filme controle e dos filmes obtidos após adição de diferentes percentuais dos materiais resultante da hidrólise enzimática (NA-IVA-7,5 e NA-IV-7,5).

Figura 38 – Espectros obtido por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier do (A) filme controle; (B) F-5NA-IVA; (C) F-7NA-IVA; (D) F-5NA-IV; (E) F-7NA-IV.



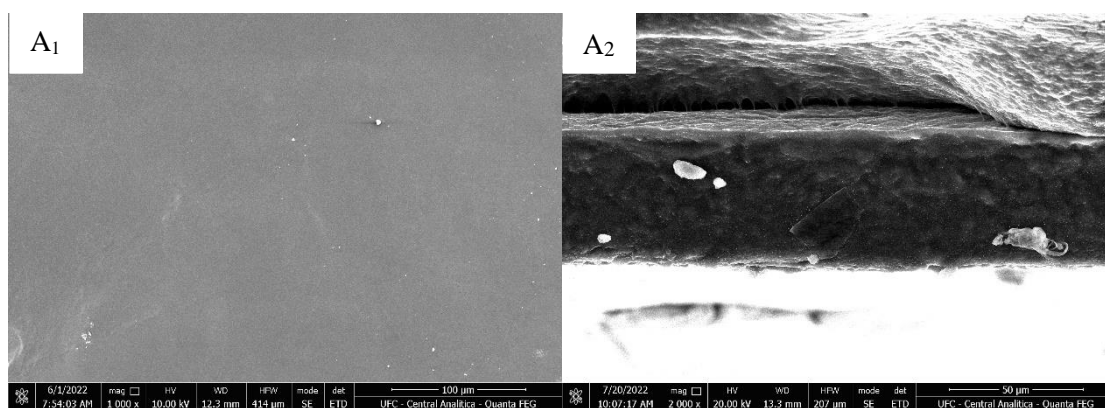
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

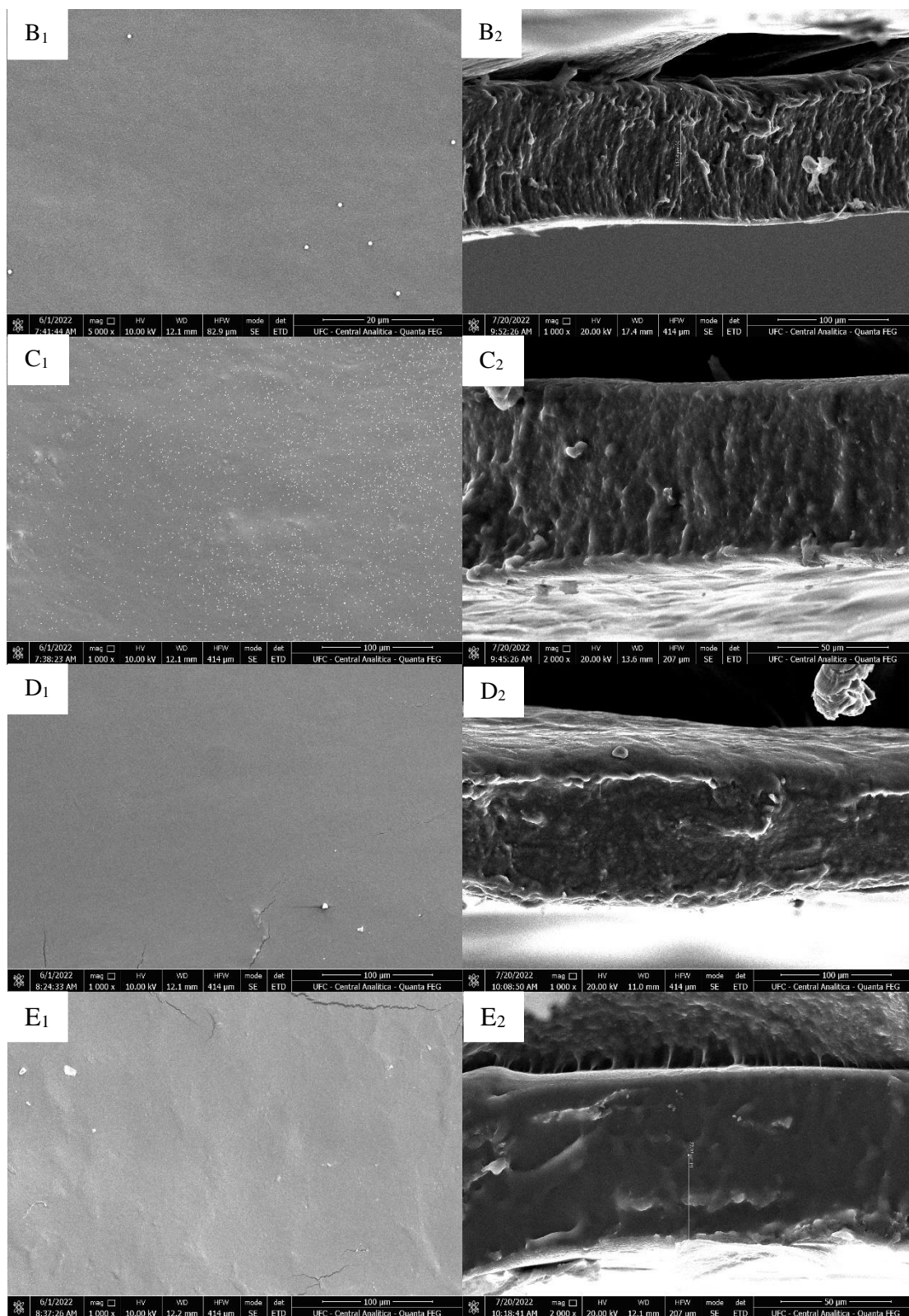
O filme controle está representado no espectrograma (A) que é composto por glicerol e amido. Quando se compara esse espectrograma com os demais não é possível observar modificações, como o surgimento ou desaparecimento de bandas, mesmo após a adição do material celulósico obtido do bagaço de caju (NA-IV-7,5 e NA-IVA-7,5). Uma possível explicação para isso é que a estrutura química do amido e da celulose são bastante parecidas. Segundo Builders e Arhewoh (2016), o amido consiste em dois polímeros de alto peso molecular, amilose e amilopectina, sendo que ambos consistem em uma única unidade de repetição de carboidrato de D-glicose, sendo a amilose unida por ligações α -1,4 e a amilopectina por ligações α -1,6 glicosídicas. Enquanto que a celulose é um homopolímero linear composto de unidades de glicose ligadas através de ligações β -1,4- glicosídicas (MISHRA, SABU e TIWARI, 2018). Então, com base na estrutura desses polímeros, o que difere o amido da celulose são as ligações α -glicosídicas e β -glicosídicas, possuindo os mesmos grupamentos funcionais, logo utilizando a técnica de FTIR torna-se bastante difícil identificar a inserção dos materiais a base de celulose.

4.5.2 Microscopia de Varredura Eletrônica

Na Figura 39 estão representadas as micrografias dos filmes obtidos usando os percentuais de 5 % e 7 % dos materiais NA-IVA-7,5 e NA-IV-7,5, para que seja possível analisar a estrutura dos materiais obtidos.

Figura 39 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície (imagens com números 1) e da espessura (imagens com números 2) dos filmes: (A1 e A2) controle; (B1 e B2) F-5NA-IVA; (C1 e C2) F-7NA-IVA; (D1 e D2) F-5NA-IV; (E1 e E2) F-7NA-IV.





Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O filme controle, composto apenas por amido e glicerol, apresentou uma superfície bastante lisa e uniforme e nos filmes obtidos com a incorporação das micro e nanoestruturas (NA-IV-7,5 e NA-IVA-7,5) é observado em suas superfícies, estruturas esféricas (Figura 39).

Além disso, observa-se nos filmes, que a interface entre a matriz e as partículas é lisa, e que não há espaços entre elas, podendo indicar uma boa compatibilidade do material (ALI *et al.*, 2017).

Pelas análises de espessura dos filmes, é possível notar que se trata de um material homogêneo, além disso também foi possível identificar o valor da espessura dos filmes. O filme controle tem espessura igual a 48,43 μm . Nas demais micrografias, dos filmes (F-5NA-IVA; F-7NA-IVA e F-5NA-IV; F-7NA-IV), que foram formados com a incorporação do NA-IVA-7,5 e NA-IV-7,5, ocorreu um aumento da espessura do material que variou de 117,2 μm a 122,4 μm , o que pode ser outro indício da incorporação do material celulósico, já que o volume da solução usada para preparar os filmes foi padronizado.

4.5.3 Capacidade de retenção de água

Na Tabela 7 estão apresentados os valores da capacidade de retenção da água dos filmes preparados, tratando-se de uma propriedade bastante importante para a escolha da aplicação dos filmes. Um filme com alto teor de retenção de água pode ser danificado durante sua aplicação, desde que em contato com materiais com alto teor de umidade em sua estrutura (KHURSHID *et al.*, 2022).

Tabela 7 – Análise da capacidade de retenção de água realizada nos filmes.

Amostras	WHC (%)
Filme controle	28,07 \pm 3,6
F-5NA-IVA	41,80 \pm 2,6
F-7NA-IVA	50,30 \pm 3,7
F-5NA-IV	47,77 \pm 4,0
F-7NA-IV	47,88 \pm 2,9

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Ao compararmos os valores expostos na Tabela 7 é possível perceber, que após adição do material celulósico em diferentes percentuais ocorreu um aumento na capacidade de retenção de água pelos filmes. Para os filmes F-5NA-IVA e F-7NA-IVA, produzidos com micro estruturas celulósicas obtidas a partir do NA-IVA-7,5 (precursor BC-PTA-10), obtém-se uma

maior retenção de água, e quanto maior o percentual de incorporação destas estruturas, maior a retenção de água. No entanto, para os filmes contendo nanoestruturas celulósicas, obtidas a partir do NA-IV-7,5 (sendo o precursor BC-PTA-HA) não ocorreu uma variação significativa no índice de retenção de água, quando aumentou o percentual destas estruturas incorporadas ao filme.

Galarza *et al.* (2017) produziram filmes a base de amido e glicerol e em seguida incorporaram a matriz polimérica diferentes percentuais de farinha e amido de arroz vermelho (*Oryza glaberrima*). Esses autores reportaram valores de capacidade de retenção de água em intervalos de 49,49 % a 51,92 % para os filmes, valores que se assemelham aos encontrados neste estudo.

O aumento na capacidade de retenção de água do material pode ter ocorrido devido a incorporação das estruturas celulósicas que possuem um elevado número de grupos hidroxilas que são bastante hidrofílicas. Segundo Jasmani e Adnan (2017), a celulose possui natureza altamente hidrofílica. A capacidade de retenção de água é uma propriedade de bastante interesse na aplicação de mascaras cosméticas e material para cicatrização de feridas. Além disso, devido a composição do filme obtido ser basicamente de amido e estruturas que tendem a ser não tóxicas, temos um material que possui potencial para aplicação em embalagens de alimentos.

4.4.4 Avaliação da biodegradação dos filmes no solo







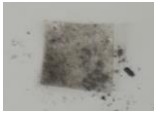




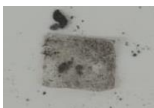
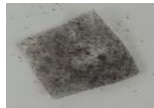





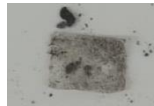
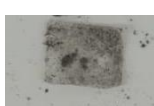

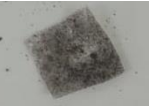







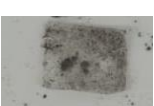
As análises de biodegradabilidade dos filmes foram realizadas usando o método de enterramento no solo. Na Tabela 8 pode ser visualizado o processo de biodegradação dos filmes em solo, e na Figura 40 está a representação gráfica da taxa de decomposição dos filmes com o tempo.

Ao observar as imagens apresentadas na Tabela 8, não é possível visualizar a decomposição dos filmes, porém, ao acompanhar a taxa de decomposição (vide Figura 40) observa-se que ocorreu uma degradação dos filmes de aproximadamente 30 % com 35 dias de enterramento no solo. O solo utilizado para esse experimento apresentou um teor de umidade igual a $2,55 \pm 0,05$ %, esse baixo teor de umidade, aliado a ausência de outras condições que acabam favorecendo a degradação de um polímero como a flora microbiana, o vento, incidência de chuva e variação de temperatura, pois os filmes estão sendo expostos ao solo (bastante arenoso e com baixo teor de umidade) em condições de laboratório, pode ter impactado no processo de biodegradação dos mesmos, bem como o tempo de biodegradação que foi de apenas

35 dias. De acordo com Attallah *et al.* (2021), fatores ambientais externos, como umidade, temperatura e população microbiana também afetam a degradabilidade dos biopolímeros.

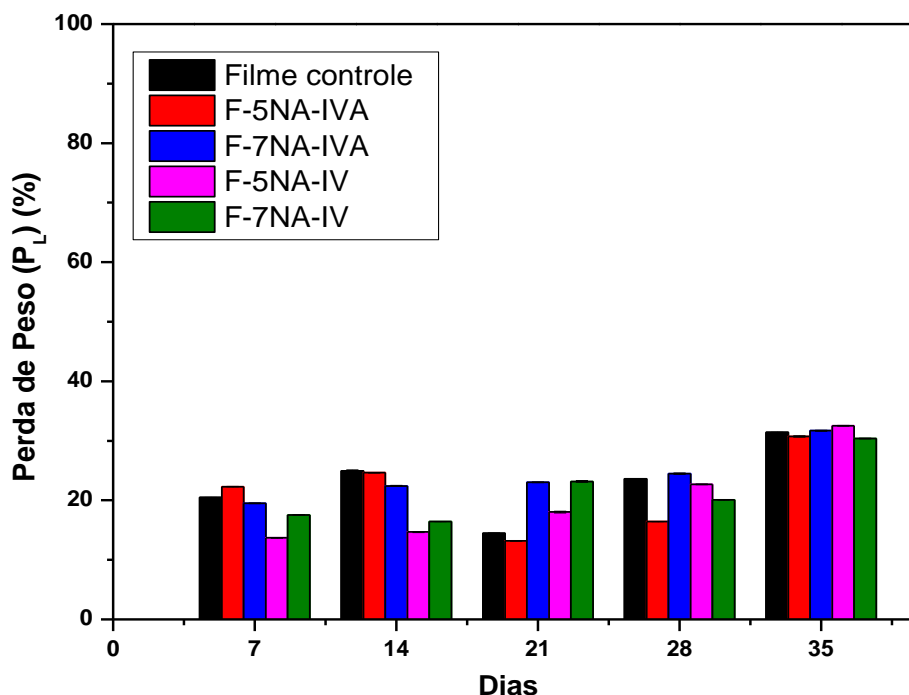
Um estudo realizado por Teramoto *et al.* (2004) investigou o efeito da carga de fibra de abacá tratada e não tratada na biodegradabilidade do poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV) ao ser submetido a um ambiente de enterramento de solo por um período de 180 dias. O PHBV puro exibiu a menor biodegradabilidade com apenas cerca de 29 % de perda de peso, seguido por PHBV/AA - abacá com cerca de 48 % de perda de peso e, por último, PHBV/abacá não tratado com a maior biodegradabilidade, que pode ser vista no alto grau de fragmentação após 60 dias, sendo o período de degradação maior que o realizado neste estudo. Altaee *et al.* (2016) conduziram um estudo sobre a biodegradação de compósitos de PHB (polihidroxibutirato) e óxido de titânio (PHB-TiO₂) em um ambiente de enterro de solo com pH 7,30 e umidade de 80 % a 30 °C e descobriram que o PHB-TiO₂ apresenta uma perda de peso menor de apenas ~51 % após três semanas em comparação com ~ 62 % de perda de peso de PHB puro durante a mesma duração. Como pode ser observado, todos os estudos citados precisaram de uma quantidade superior a 35 dias para que ocorra a degradação dos filmes e biofilmes, além disso o solo a que foram submetidos possuíam um teor de umidade superior ao solo utilizado neste estudo. Indicando que esses fatores podem ter afetado o processo de biodegradação total dos filmes analisados (filme controle, F-7NA-IVA, F-5NA-IVA, F-7NA-IV e F-5NA-IV).

Tabela 8 - Análise visual da biodegradação de filmes em solo.

Dias	Filme controle	F-7NA-IVA	F-5NA-IVA	F-7NA-IV	F-5NA-IV
1					
7					
14					
21					
28					
35					

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Figura 40 - Perda de peso percentual dos filmes por um período de 35 dias.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Os filmes obtidos com a incorporação de diferentes percentuais de microestruturas e nanoestruturas apresentaram características biodegradáveis. No entanto precisam de um maior tempo para decomposição total do filme, sendo um fator que impacta no aumento da espessura pela incorporação do material celulósico (NA-IVA-7,5 e NA-IV-7,5). Além disso, os filmes mostraram valores de capacidade de retenção de água que estão dentro dos padrões de filmes que possuem elevado potencial para aplicação em embalagens de alimentos, como os obtidos por (GALARZA *et al.*, 2017). Porém, para definirmos uma aplicação exata, é necessário explorar melhor as propriedades dos filmes obtidos.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que nanoceluloses podem ser obtidas por hidrólise ácida e enzimática, ambas sequencial com processo ultrassônico, usando o bagaço de caju pré-tratado. O pré-tratamento em que a biomassa é submetida influencia não somente no percentual de celulose disponível, como também na escolha do método para obtenção das nanoceluloses.

O bagaço de caju pré-tratado por álcali, apresentou o maior teor de lignina residual, e foi necessário um maior tempo reacional de hidrólise ácida para a obtenção de nanopartículas, as quais apresentaram a maior estabilidade térmica, quando comparadas as nanoestruturas obtidas usando o bagaço de caju pré-tratado com ácido seguido de álcali. No entanto, usando o pré-tratamento alcalino não foi possível obter nanopartículas pelo método da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, sendo necessário um maior tempo reacional ou uma maior carga enzimática para obtenção de nanoestruturas.

O bagaço de caju após pré-tratamento ácido seguido de álcali (BC-PT-HA) apresentou o maior índice de cristalinidade e o maior teor de celulose em sua estrutura, e a partir dele foi possível obter nanopartículas em forma de hastes por hidrólise ácida sequencial com o processo ultrassônico, com tempo reacional de apenas 1 h. Também foi obtido nanoestruturas por hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, com formatos esféricos, e contou-se que o tempo reacional, o tipo de pré-tratamento e a carga enzimática são parâmetros que influenciam na obtenção de nanocelulose via hidrólise enzimática.

O material resultante da hidrólise enzimática sequencial com o processo ultrassônico, usando a carga de 7,5 FPU/g_{celulose} e tempo reacional de 24 h, foi utilizado na produção de biofilmes, que apresentaram melhores resultados de retenção de água em comparação ao filme controle, apresentaram características biodegradáveis e possuem potencial para aplicação em embalagens de alimentos, porém é necessário explorar melhor suas propriedades. Além disso, o processo de hidrólise enzimática é uma alternativa sustentável aos processos químicos convencionais, na obtenção de nanopartículas, além de ser uma rota em que ocorre um aproveitamento integrado do processo, estimulando o uso do bagaço de caju como uma nova fonte renovável para a produção de nanocelulose.

REFERÊNCIAS

- ACHABY, M. EL; MIRI, N. EL; HANNACHE, H.; GMOUH, S.; BEN, H.; ABOULKAS, A. Production of cellulose nanocrystals from vine shoots and their use for the development of nanocomposite materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, Casablanca, v. 117, p. 592–600, 2018.
- ALBUQUERQUE, T. L. **Produção Biotecnológica de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de caju**. 2014. 144f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.
- ALBUQUERQUE, T. L. DE; GOMES, S. D. L.; MARQUES, J. E.; SILVA, I. J. DA; ROCHA, M. V. P. Xylitol production from cashew apple bagasse by *Kluyveromyces marxianus* CCA510. **Catalysis Today**, Fortaleza, v. 255, p. 33–40, 2015.
- ALBUQUERQUE, T. L. DE; SILVA, J. D. S.; MACEDO, A. C. DE; ROCHA, L.; GONÇALVES, B. **Biotechnological Strategies for the Lignin-Based Biorefinery Valorization**, [s.l.], Elsevier Inc., 2019.
- ALI, A.; YU, L.; LIU, H.; KHALID, S.; MENG, L.; CHEN, L. Preparation and characterization of starch-based composite films reinforced by corn and wheat hulls. **applied Polymer science**, [s.l.], v. 45159, p. 1–9, 2017.
- ALINE, J.; COSTA, D. A. **Produção de etanol por sacarificação e fermentação simultânea da fibra de caju pré-tratada com peróxido de hidrogênio alcalino**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
- ALMEIDA, R. O.; RAMOS, A.; ALVES, L.; POTSI, E.; FERREIRA, P. J. T.; CARVALHO, M. G. V. S.; RASTEIRO, M. G.; GAMELAS, J. A. F. Production of nanocellulose gels and films from invasive tree species. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 188, n. April, p. 1003–1011, 2021.
- ALTAEI, N.; EL-HITI, G. A.; FAHDIL, A.; SUDESH, K.; YOUSIF, E. Biodegradation of different formulations of polyhydroxybutyrate films in soil. **SpringerPlus**, [s.l.], v. 5, n. 1, 2016.
- ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 101, n. 13, p. 4851–4861, 2010.
- AMANI, F.; SAMI, M.; REZAEI, A. Characterization and Antibacterial Activity of Encapsulated Rosemary Essential Oil within Amylose Nanostructures as a Natural Antimicrobial in Food Applications. **Applied Polymer science**, [s.l.], v. 2100021, p. 1–9, 2021.
- ARANTES, Valdeir. Nanocelluloses From Sugarcane Biomass. *In*: ARANTES, Valdeir; PEREIRA, B. **Advances in Sugarcane Biorefinery**. São Paulo: ResearchGate. 2018. p. (179)-(196).
- ATTALLAH, O. A.; MOJICEVIC, M.; GARCIA, E. L.; AZEEM, M.; CHEN, Y.; ASMAWI, S.; FOURNET, M. B. Macro and Micro Routes to High Performance Bioplastics : Properties. **Polymers**, [s.l.], v. 13, p. 1–25, 2021.
- AZRINA, Z. A. Z.; BEG, M. D. H.; ROSLI, M. Y.; RAMLI, R.; JUNADI, N.; ALAM, A. K.

- M. M. Spherical nanocrystalline cellulose (NCC) from oil palm empty fruit bunch pulp via ultrasound assisted hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 162, p. 115–120, 2017.
- BABICKA, M.; WO, M.; SZENTNER, K.; BARTKOWIAK, M.; PEPLI, B. Nanocellulose Production Using Ionic Liquids with Enzymatic Pretreatment. **Materials**, [s.l.], v. 14, 3264, 1-14, 2021.
- BARROS, E. M.; CARVALHO, V. M.; RODRIGUES, T. H. S.; ROCHA, M. V. P.; GONÇALVES, L. R. B. Comparison of strategies for the simultaneous saccharification and fermentation of cashew apple bagasse using a thermotolerant *Kluyveromyces marxianus* to enhance cellulosic ethanol production. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 307, p. 939–947, 2017.
- BARROS, E. M.; RODRIGUES, T. H. S.; PINHEIRO, A. D. T.; ANGELIM, A. L.; MELO, V. M. M.; ROCHA, M. V. P. A Yeast Isolated from Cashew Apple Juice and Its Ability to Produce First- and Second-Generation Ethanol. **Appl Biochem Biotechnol**, [s.l.], p. 2762–2776, 2014.
- BENINI, K. C. C. DE C.; VOORWALD, H. J. C.; CIOFFI, M. O. H.; REZENDE, M. C.; ARANTES, V. Preparation of nanocellulose from *Imperata brasiliensis* grass using Taguchi method. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 192, n. March, p. 337–346, 2018.
- BERGLUND, L.; NOËL, M.; AITOMÄKI, Y.; ÖMAN, T.; OKSMAN, K. Production potential of cellulose nanofibers from industrial residues: Efficiency and nanofiber characteristics. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 92, p. 84–92, 2016.
- BHAT, M. .; BHAT, S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. **Biotechnology Advance**, [s.l.], v. 15, p. 583–620, 1997.
- BI, Q.; DONG, S.; SUN, Y.; LU, X.; ZHAO, L. An electrochemical sensor based on cellulose nanocrystal for the enantioselective discrimination of chiral amino acids. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 508, 50-57, 2016.
- BONDANCIA, T. J.; FLORENCIO, C.; BACCARIN, G. S.; FARINAS, C. S. Cellulose nanostructures obtained using enzymatic cocktails with different compositions. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 207, n. March, p. 299–307, 2022.
- BORRERO-L, A. M.; VALENCIA, C.; FRANCO, J. M. Lignocellulosic Materials for the Production of Biofuels, Biochemicals and Biomaterials and Applications of Lignocellulose-Based Polyurethanes: A Review. **Polymers**, [s.l.], v. 14, 1-42, 2022.
- BOUYAN, A.; LIYANAGE, S.; HEQUET, E.; MOUSTAID-MOUSSA, N. Review of FTIR microspectroscopy applications to investigate biochemical changes in *C. elegans*. **Vibrational Spectroscopy**, [s.l.], v. 96, p. 74–82, 2018.
- BRAINER, M. SIMONE DE C. P. Panorama Da Cajucultura No Mundo. **Caderno Setorial ETENE**, [s.l.], v. 7, p. 1–19, 2022.
- BUILDERS, P. F.; ARHEWOH, M. I. Pharmaceutical applications of native starch in conventional drug delivery. **Starch**, [s.l.], v. 68, p. 864–873, 2016.
- CAVALHEIRO, E.T.G.; DENARI, G. B. **Princípios e Aplicação de análise térmica**. São Carlos: IQSC, 40 p., 2012.
- COSTA CORREIA, J. A. DA; SOUSA SILVA, J. DE; GONÇALVES, L. R. B.; ROCHA, M. V. P. Different design configurations of simultaneous saccharification and fermentation to enhance ethanol production from cashew apple bagasse pretreated with alkaline hydrogen

peroxide applying the biorefinery concept. **Biomass Conversion and Biorefinery**, [s.l.], v. 12, n. 7, p. 2767–2780, 2022.

CHAKER, A.; ALILA, S.; MUTJE, P.; REI, M.; SAMI, V. Key role of the hemicellulose content and the cell morphology on the nanofibrillation effectiveness of cellulose pulps. **Cellulose**, [s.l.], v.20, p. 2863–2875, 2013.

CHEN, H.; NAIR, S. S.; CHAUHAN, P.; YAN, N. Lignin containing cellulose nano fi bril application in pMDI wood adhesives for drastically improved gap- fi lling properties with robust bondline interfaces. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 360, p. 393–401, 2019.

CHEN, Y. W.; HASANULBASORI, M. A.; CHIAT, P. F.; LEE, H. V. Pyrus pyrifolia fruit peel as sustainable source for spherical and porous network based nanocellulose synthesis via one-pot hydrolysis system. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 123, p. 1305–1319, 2019.

CHENG, M.; QIN, Z.; CHEN, Y.; HU, S.; REN, Z.; ZHU, M. E ffi cient Extraction of Cellulose Nanocrystals through Hydrochloric Acid Hydrolysis Catalyzed by Inorganic Chlorides under Hydrothermal Conditions. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 170, 113745, 2017.

CORREIA, J. A. DA C.; JÚNIOR, J. E. M.; GONÇALVES, L. R. B.; ROCHA, M. V. P. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of cashew apple bagasse for ethanol production: Study of parameters. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 139, p. 249–256, 2013.

CORREIA, J. A. DA COSTA; MARQUES, J. E.; GONÇALVES, L. R. B.; ROCHA, M. V. P. Enhanced enzymatic hydrolysis and ethanol production from cashew apple bagasse pretreated with alkaline hydrogen peroxide. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 179, p. 249–259, 2015.

EWULONU, C. M.; LIU, X.; WU, M.; YONG, H. Lignin-Containing Cellulose Nanomaterials : A Promising New Nanomaterial for Numerous Applications. **Journal of Bioresources and Bioproducts**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 3–10, 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). **Production**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 20 nov. 2022.

FANG, Z.; HOU, G.; CHEN, C.; HU, L. Nanocellulose-based films and their emerging applications. **Current Opinion in Solid State & Materials Science**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 1-15, 2019.

FATTAHI MEYABADI, T.; DADASHIAN, F.; MIR MOHAMAD SADEGHI, G.; EBRAHIMI ZANJANI ASL, H. Spherical cellulose nanoparticles preparation from waste cotton using a green method. **Powder Technology**, [s.l.], v. 261, p. 232–240, 2014.

FERREIRA, V. F.; ROCHA, D. R. DA; SILVA, F. DE C. DA. Potencialiades e oportunidades na Química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, Niterói, v. 32, p. 623–638, 2009.

CAMPOS FILHO, Múcio Costa. **Estudo das propriedades dielétricas e ópticas n na matriz cerâmica CaBi₄Ti₄O₁₅ com adição de V₂O₅, Er₂O₃ e e Yb₂O₃**. 2015. 170f. Tese (Doutorado em Física), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2015.

FILSON, P. B.; DAWSON-ANDOH, B. E. Bioresource Technology Sono-chemical preparation of cellulose nanocrystals from lignocellulose derived materials. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 7, p. 2259–2264, 2009.

- FRANCE, K. J. DE; HOARE, T.; CRANSTON, E. D. Review of Hydrogels and Aerogels Containing Nanocellulose. **Chemistry of materials**, Ontário, v. 29, p. 4609–4631, 2017.
- FREITAS, M. DE F. M. DE. **Produção de Lipases por leveduras isoladas do bagaço de caju utilizando fontes alternativas de carbono e nitrogênio**. 2017. 103f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2017.
- GALARZA, C.; MARIA, T.; COSTA, H.; OLIVEIRA, A. DE; HICKMANN, S. Comparative study on the properties of films based on red rice (*Oryza glaberrima*) flour and starch. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 65, p. 96–106, 2017.
- GARCÍA, A.; GANDINI, A.; LABIDI, J.; BELGACEM, N.; BRAS, J. Industrial and crop wastes: A new source for nanocellulose biorefinery. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 93, p. 26–38, 2016.
- GEORGE, T. S.; PARAMBATH, B.; TEXIN, K.; DOMINIC, M.; DOMINIC, C.; GEORGE, N.; BALACHANDRAKURUPP, V.; JOHN, H. Isolation of high crystalline nanocellulose from *Mimosa pudica* plant fibres with potential in packaging applications. **Packaging Technology and science**, [s.l.], v.35, p. 163–174, 2022.
- GOLMOHAMMADI, H.; MORALES-NARVÁEZ, E.; NAGHDI, T.; MERKOÇI, A. Nanocellulose in (bio) sensing Nanocellulose in (bio) sensing. **Chemistry of materials**, [s.l.], v.13, p. 5426–5446, 2017.
- GRISHKEWICH, N.; MOHAMMED, N.; TANG, J.; TAM, K. C. Recent advances in the application of cellulose nanocrystals. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, [s.l.], v. 29, p. 32–45, 2017.
- HONG, S.; SONG, Y.; YUAN, Y.; LIAN, H.; LIIMATAINEN, H. Production and characterization of lignin containing nanocellulose from luffa through an acidic deep eutectic solvent treatment and systematic fractionation. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 143, n. July 2019, p. 111913, 2020.
- HU, Z.; MARWAY, H. S.; KASEM, H.; PELTON, R.; CRANSTON, E. D. Dried and Redispersible Cellulose Nanocrystal Pickering Emulsions. **ACS publications**, [s.l.], v. 5, p. 185–189. 2016.
- JASMANI, L.; ADNAN, S. Preparation and characterization of nanocrystalline cellulose from *Acacia mangium* and its reinforcement potential. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 161, p. 166–171, 2017.
- KALITA, E.; NATH, B. K.; AGAN, F.; MORE, V.; DEB, P. Isolation and characterization of crystalline, autofluorescent, cellulose nanocrystals from saw dust wastes. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 26, p. 2–7, 2014.
- KARGARZADEH, H.; HUANG, J.; LIN, N.; AHMAD, I.; MARIANO, M.; DUFRESNE, A.; THOMAS, S.; GAŁĘSKI, A. Recent developments in nanocellulose-based biodegradable polymers, thermoplastic polymers, and porous nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, v. 87, p. 197–227, 2018.
- KARIM, Z.; AFRIN, S.; HUSAIN, Q.; DANISH, R. Necessity of enzymatic hydrolysis for production and functionalization of nanocelluloses. **Taylor & Francis**, [s.l.], v. 37, n. 3, p. 355–370, 2017.
- KAUR, N.; SINGH, G.; KHATRI, M.; KUMAR, S. Review on neoteric biorefinery systems from detritus lignocellulosic biomass : A profitable approach. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 256, p. 120607, 2020.

- KHURSHID, S.; ARIF, S.; ALI, T. M.; IQBAL, H. M.; SHAIKH, M. Effect of Silver Nanoparticles Prepared from *Saraca asoca* Leaf Extract on Morphological , Functional , Mechanical , and Antibacterial Properties of Rice Starch Films. **Advanced science news**, [s.l.], v. 2100228, p. 1–9, 2022.
- KIM, S.; PARK, J. M.; SEO, J. W.; KIM, C. H. Sequential acid-/alkali-pretreatment of empty palm fruit bunch fiber. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 109, p. 229–233, 2012.
- KLEMM, D. *et al.* Nanocellulose as a natural source for groundbreaking applications in materials science : Today ' s state. **Materials Today**, [s.l.], v. 21, n. 7, p. 720–748, 2018.
- KUMAR, V.; PATHAK, P.; KANT, N. Waste paper : An underutilized but promising source for nanocellulose mining. **Waste Management**, [s.l.], v. 102, p. 281–303, 2020.
- LI, X.; WANG, N.; ZHANG, X.; CHANG, H.; WANG, Y.; ZHANG, Z. Optical haze regulation of cellulose nanopaper via morphological tailoring and nano-hybridization of cellulose nanoparticles. **Cellulose**, [s.l.], v. 27, n. 3, p. 1315–1326, 2020.
- LIU, C. P.; HSU, P. K.; LIU, L. Y.; CHANG, C. H.; YANG, S. S. Protein enrichment and digestion improvement of napiergrass and pangolagrass with solid-state fermentation. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, [s.l.], v. 46, n. 3, p. 171–179, 2013.
- LIU, Y.; AHMED, S.; SAMEEN, D. E.; WANG, Y.; LU, R.; DAI, J.; LI, S.; QIN, W. A review of cellulose and its derivatives in biopolymer-based for food packaging application. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 112, n. April, p. 532–546, 2021.
- LOPES, A. M. C.; JOÃO, K. G.; RUBIK, D. F.; BOGEL-ŁUKASIK, E.; DUARTE, L. C.; ANDREAUS, J.; BOGEL-ŁUKASIK, R. Bioresource Technology Pre-treatment of lignocellulosic biomass using ionic liquids : Wheat straw fractionation. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 142, p. 198–208, 2013.
- LU, P.; HSIEH, Y. Preparation and properties of cellulose nanocrystals : Rods , spheres , and network. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 82, n. 2, p. 329–336, 2010.
- LUO, J.; SU, Y.; CHEN, J.; WANG, X.; LIU, J. Pretreatment of lignin-containing cellulose micro/nano-fibrils (LCMNF) from corncob residues. **Cellulose**, [s.l.], v. 28, n. 8, p. 4671–4684, 2021.
- MAITI, S.; JAYARAMUDU, J.; DAS, K.; MOHAN, S.; SADIKU, R.; SINHA, S.; LIU, D. Preparation and characterization of nano-cellulose with new shape from different precursor. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 98, n. 1, p. 562–567, 2013.
- MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 86, n. 3, p. 1291–1299, 2011.
- MARCOS, R.; PIRES, W.; NETO, F.; ALVES, H.; FERREIRA, D.; OLIVEIRA, N.; PASQUINI, D. Cellulose nanocrystals from pineapple leaf , a new approach for the reuse of this agro-waste. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 50, p. 707–714, 2013.
- MARQUES JÚNIOR, J. E.; ROCHA, M. V. P. Development of a purification process via crystallization of xylitol produced for bioprocess using a hemicellulosic hydrolysate from the cashew apple bagasse as feedstock. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s.l.], v. 44, n. 4, p. 713–725, 2021.
- MATEO, S.; PEINADO, S.; MORILLAS-GUTIÉRREZ, F.; RUBIA, M. D. LA; MOYA, A. J. Nanocellulose from Agricultural Wastes : Products and Applications — A Review.

Processes, [s.l.], v. 9, 1594, p. 1-22, 2021.

MAZELA, B.; PERDOCH, W.; PEPLINSKA, B.; ZIELINSKI, M. Influence of Chemical Pre-Treatments and Ultrasonication on the Dimensions and Appearance of Cellulose Fibers. **Materials**, [s.l.], 13, 5274, 1-17, 2020.

MEEREBOER, K. W.; MISRA, M.; MOHANTY, A. K. Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites. **Green Chemistry**, [s.l.], v. 22, p. 5519-5558, 2020.

MEYABADI, T. F.; DADASHIAN, F. Optimization of enzymatic hydrolysis of waste cotton fibers for nanoparticles production using response surface methodology. **Fibers and Polymers**, [s.l.], v. 13, p. 313–321, 2012.

MISHRA, R. K.; SABU, A.; TIWARI, S. K. Materials chemistry and the futurist eco-friendly applications of nanocellulose: Status and prospect. **Journal of Saudi Chemical Society**, [s.l.], v.22, p. 949-978, 2018.

MORIANA, R.; VILAPLANA, F.; EK, M. Cellulose Nanocrystals from Forest Residues as Reinforcing Agents for Composites: A Study from Macro- to Nano-Dimensions. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 139, p. 139–149, 2016.

NEMOTO, J.; SAITO, T.; ISOGAI, A. Simple Freeze-Drying Procedure for Producing Nanocellulose Aerogel-Containing, High-Performance Air Filters. **ACS Applied Materials and Interfaces**, [s.l.], v. 35, p. A-G, 2015.

NETO, W. P. F. **Morphological investigation of cellulose nanocrystals and nanocomposite applications**. 2017. 162f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2017.

NOREMYLIA, M. B.; ZAKI, M.; ISMAIL, Z. Macromolecules Recent advancement in isolation , processing , characterization and applications of emerging nanocellulose : A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 206, n. March, p. 954–976, 2022.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. F. Hidrólise Enzimática De Biomassa. **Química Nova**, [s.l.], v. 33, n. 7, p. 1549–1558, 2010.

OKENWA, C.; OBIOZO, V.; FAISAL, M.; OLUWALOWO, A.; GYU, J.; OKOLI, O. I.; WANG, H. International Journal of Biological Macromolecules Evaluation of the inter-particle interference of cellulose and lignin in lignocellulosic materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 147, p. 762–767, 2020.

PADILHA, C. E. DE A.; CLEITIANE DA COSTA NOGUEIRA, MARCOS ANTONIO OLIVEIRA FILHO, DOMINGOS FABIANO DE SANTANA SOUZA, JACKSON ARAUJO DE OLIVEIRA, E. S. DOS S. Valorization of cashew apple bagasse using acetic acid pretreatment : Production of cellulosic ethanol and lignin for their use as sunscreen ingredients. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 91, n. May 2019, p. 23–33, 2020.

PHANTHONG, P.; REUBROYCHAROEN, P.; HAO, X.; XU, G.; ABUDULA, A.; GUAN, G. Nanocellulose: Extraction and application. **Carbon Resources Conversion**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 32–43, 2018.

PHANTHONG, P.; REUBROYCHAROEN, P.; KONGPARAKUL, S.; SMART, C. Fabrication and evaluation of nanocellulose sponge for oil / water separation. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 190, n. February, p. 184–189, 2018.

- PRADHAN, D.; JAISWAL, A. K.; JAISWAL, S. Emerging technologies for the production of nanocellulose from lignocellulosic biomass. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 285, p. 119258, 2022.
- QIAN, M.; LEI, H.; VILLOTA, E.; ZHAO, Y.; WANG, C.; HUO, E.; ZHANG, Q.; MATEO, W.; LIN, X. High yield production of nanocrystalline cellulose by microwave-assisted dilute-acid pretreatment combined with enzymatic hydrolysis. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, [s.l.], v. 160, n. July 2020, p. 108292, 2021.
- REIS, C. L. B.; MARA, L.; HELENA, T.; RODRIGUES, S.; KAMILLY, A.; FÉLIX, N.; SANTIAGO-AGUIAR, R. S. DE; MARQUES, K.; VALDEREZ, M.; ROCHA, P. Bioresource Technology Pretreatment of cashew apple bagasse using protic ionic liquids : Enhanced enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 224, p. 694–701, 2017.
- RESHMY, R.; MADHAVAN, A.; PHILIP, E.; PAUL, S. A.; SINDHU, R.; BINOD, P.; PUGAZHENDHI, A.; SIROHI, R.; PANDEY, A. Sugarcane bagasse derived nanocellulose reinforced with frankincense (*Boswellia serrata*): Physicochemical properties, biodegradability and antimicrobial effect for controlling microbial growth for food packaging application. **Environmental Technology and Innovation**, [s.l.], v. 21, p. 1-10, 2021.
- RESHMY, R.; PHILIP, E.; MADHAVAN, A.; TARFDAR, A.; SINDHU, R.; BINOD, P.; SIROHI, R.; KUMAR, M.; PANDEY, A. Biorefinery aspects for cost-effective production of nanocellulose and high value-added biocomposites. **Fuel**, [s.l.], v. 311, p. 1-13, 2022.
- RESHMY, R.; PHILIP, E.; PAUL, S. A.; MADHAVAN, A.; SINDHU, R.; BINOD, P.; PANDEY, A. Correction to: A green biorefinery platform for cost-effective nanocellulose production: investigation of hydrodynamic properties and biodegradability of thin films. **Biomass Conversion and Biorefinery**, [s.l.], v. 11, n. 3, p. 1-13, 2020.
- RIBEIRO, R. S. A.; POHLMANN, B. C.; CALADO, V.; BOJORGE, N.; PEREIRA, N. Production of nanocellulose by enzymatic hydrolysis: Trends and challenges. **Engineering in Life Sciences**, [s.l.], v. 19, n. 4, p. 279–291, 2019.
- RICO-GARC, D.; RUIZ-RUBIO, L.; LEYRE, P. Lignin-Based Hydrogels : Synthesis and Applications. **Polymers**, [s.l.], v. 22, p. 1–23, 2020.
- ROCHA, M. V. P. **Produção de Bioetanol a partir de pendúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.) por fermentação submersa**. 2010. 162f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2010.
- ROCHA, M. V. P.; RODRIGUES, T. H. S.; MACEDO, G. R. DE; GONÇALVES, L. R. B. Enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated cashew apple bagasse with alkali and diluted sulfuric acid for bioethanol production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s.l.], v. 155, n. 1–3, p. 407–417, 2009.
- RODRIGUES, T. H. S. **Estudo comparativo da produção de etanol por processos de shf (fermentação e hidrólise separadas) e ssf (fermentação e hidrólise simultâneas) de bagaço de caju (*anacardium occidentale* L.)**. 2014. 93f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2014.
- RODRIGUES, T. H. S.; BARROS, E. M. DE; BRÍGIDO, J. D. S.; GONÇALVES, L. R. B. The Bioconversion of Pretreated Cashew Apple Bagasse into Ethanol by SHF and SSF Processes. **Biotechnology**, [s.l.], v. 178, p. 1167–1183, 2016.
- RODRIGUES, T. H. S.; ROCHA, M. V. P.; MACEDO, G. R. DE; GONÇALVES, L. R. B. Ethanol Production from Cashew Apple Bagasse : Improvement of Enzymatic Hydrolysis by

- Microwave-Assisted Alkali Pretreatment. **Biotechnology**, [s.l.], v. 286, p. 929–943, 2011.
- ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. 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.
- SADARE, O. O.; EJEKWU, O.; MOSHOKOA, M. F.; JIMOH, M. O.; DARAMOLA, M. O. Membrane purification techniques for recovery of succinic acid obtained from fermentation broth during bioconversion of lignocellulosic biomass: Current advances and future perspectives. **Sustainability**, [s.l.], v. 13, p. 1-30, 2021.
- SADARE, O. O.; YORO, K. O.; MOOTHI, K.; DARAMOLA, M. O. Lignocellulosic Biomass-Derived Nanocellulose Crystals as Fillers in Membranes for Water and Wastewater Treatment : A Review. **Membranes**, [s.l.], v. 12, p. 1-27, 2022.
- SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, M.; ESPINOSA, E.; BASCÓN-VILLEGAS, I.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; CARRASCO, E.; RODRÍGUEZ, A. Production of cellulose nanofibers from olive tree harvest - A residue with wide applications. **Agronomy**, [s.l.], v. 10, p. 1–14, 2020.
- SÁNCHEZ, R.; ESPINOSA, E.; DOMÍNGUEZ-ROBLES, J.; MAURICIO, J.; RODRÍGUEZ, A. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 1025–1033, 2016.
- SANTANA, N. B.; DIAS, T.; REZENDE, R. P.; FRANCO, M.; KAREN, L.; OLIVEIRA, S.; SOUZA, L. O. Production of xylitol and bio-detoxification of cocoa pod husk hemicellulose hydrolysate by *Candida boidinii* XM02G. **PLOS one**, v. 13, p. 1–15, 2018.
- SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, [s.l.], v. 29, n. 10, p. 786–794, 1959.
- SERPA, J. D. F. **Cashew apple bagasse lignin as support for immobilization of lipase b from *candida antarctica***. 2020. 99f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2020.
- SERPA, J. D. F.; SOUSA, J. DE; LUZIA, C.; REIS, B.; MICOLI, L.; MARA, L.; MARQUES, K. Extraction and characterization of lignins from cashew apple bagasse obtained by different treatments. **Biomass and Bioenergy journal**, Fortaleza, v. 141, p. 1-11, 2020.
- SERPA, J. DE F.; MATIAS, G. A. B.; FECHINE, P. B. A.; COSTA, V. M. DA; FREIRE, R. M.; DENARDIN, J. C.; GONÇALVES, L. R. B.; MACEDO, A. C. DE; ROCHA, M. V. P. New nanocomposite made of cashew apple bagasse lignin and Fe₃O₄ for immobilizing of lipase B from *Candida antarctica* aiming at esterification. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Fortaleza, v. 96, p. 2472–2487, 2021.
- SHU, F.; GUO, Y.; HUANG, L.; ZHOU, M.; ZHANG, G.; YU, H.; ZHANG, J.; YANG, F. Industrial Crops & Products Production of lignin-containing nanocellulose from poplar using ternary deep eutectic solvents pretreatment. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 177, p. 114404, 2022.
- SILVA, N. C. G.; SOUZA, M. C. M.; JR, I. J. S.; SANTOS, Z. M.; ROCHA, M. V. P. Removal of Reactive Turquoise Blue Dye from Aqueous Solution Using a Non-Conventional

- Natural Adsorbent. **Separation science and Technology**, [s.l.], v. 50, p. 1616–1628, 2015.
- SILVA, J. S.; MENDES, J. S.; CORREIA, J. A. C.; ROCHA, M. V. P.; MICOLI, L. Cashew apple bagasse as new feedstock for the hydrogen production using dark fermentation process. **Journal of Biotechnology**, [s.l.], v. 286, p. 71–78, 2018.
- SIQUEIRA, G. A.; DIAS, I. K. R.; ARANTES, V. Exploring the action of endoglucanases on bleached eucalyptus kraft pulp as potential catalyst for isolation of cellulose nanocrystals. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 133, p. 1249–1259, 2019.
- SLUITER, A.; HAMES, B.; HYMAN, D.; PAYNE, C.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, A.; SLUITER, J.; TEMPLETON D.; WOLFE, J. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 3/31/2008. **Technical Report NREL/TP-510-42621**. Revised March 2008a.
- SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 4/25/2008. **Technical Report NREL/TP-510-42618**. Revised April 2008b.
- SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. Determination of Extractives in Biomass Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 7/17/2005, **Technical Report NREL/TP-510-42619**, january 2008c.
- SOUZA, A. G. DE; ROCHA, D. B.; KANO, F. S.; ROSA, S. Valorization of industrial paper waste by isolating cellulose nanostructures with different pretreatment methods. **Resources, Conservation & Recycling**, [s.l.], v. 143, p. 133–142, 2019.
- SOUZA, T. C. **Uso do bagaço de Caju como suporte para imobilização de Lipase do tipo B de Candida antarctica: Aplicação na síntese de R-Idanol**. 2016. 157f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2016
- SOUZA, T. C. DE; FONSECA, T. S. DE; COSTA, J. A. DA; ROCHA, M. V. P.; MATTOS, M. C. DE; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; GONÇALVES, L. R. B.; SANTOS, J. C. S. DOS. Cashew apple bagasse as a support for the immobilization of lipase B from *Candida antarctica*: Application to the chemoenzymatic production of (R)-Indanol. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [s.l.], v. 130, p. 58–69, 2016.
- STELTE, W.; SANADI, A. R. Preparation and Characterization of Cellulose Nanofibers from Two Commercial Hardwood and Softwood Pulp. **ACS publications**, [s.l.], v. 24, p. 11211–11219, 2009.
- SUN, SHAONI; SUN, SHAOLONG; CAO, X.; SUN, R. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 199, p. 49–58, 2016.
- TANPICHAI, S.; OKSMAN, K. Cross-linked nanocomposite hydrogels based on cellulose nanocrystals and PVA: Mechanical properties and creep recovery. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, [s.l.], v. 88, p. 226–233, 2016.
- TEIXEIRA, R. S. S.; SANT, A.; JANG, J.; KIM, H.; ISHIKAWA, K.; ENDO, T.; LEE, S.; BON, E. P. S. Combining biomass wet disk milling and endoglucanase / α -glucosidase hydrolysis for the production of cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 128, p. 75–81, 2015.
- TERAMOTO, N.; URATA, K.; OZAWA, K.; SHIBATA, M. Biodegradation of aliphatic

polyester composites reinforced by abaca fiber. **Polymer Degradation and Stability**, [s.l.], v. 86, n. 3, p. 401–409, 2004.

THEIVASANTHIA, T.; CHRISTMAB, F. L. A.; TOYINC, A. J.; GOPINATHD, S. C. B.; RAVICHANDRANF, R. Synthesis and characterization of cotton fiber-based nanocellulose. **Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 44, p. 832–836, 2018.

THOMAS, B.; RAJ, M. C.; ATHIRA, B. K.; RUBIYAH, H. M.; JOY, J.; MOORES, A.; DRISKO, G. L.; SANCHEZ, C. Nanocellulose, a Versatile Green Platform: From Biosources to Materials and Their Applications. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 118, n. 24, p. 11575–11625, 2018.

TIAN, W.; GAO, X.; ZHANG, JINMING; YU, J.; ZHANG, JUN. Cellulose nanosphere: Preparation and applications of the novel nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 277, n. October 2021, p. 118863, 2022.

TRACHE, D.; TARCHOUN, A. F.; DERRADJI, M.; HAMIDON, T. S.; MASRUCHIN, N.; BROSSE, N.; HUSSIN, M. H. Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications. **Frontiers in Chemistry**, [s.l.]. v. 8, p. 1-33, 2020.

USMAN, M.; KIAER, B. Lignin degradation under anaerobic digestion : In fl uence of lignin modi fi cations -A review. **Biomass and Bioenergy**, [s.l.], v. 128, p. 1-25. 2019.

VASCONCELOS, N. F.; FEITOSA, J. P. A.; GAMA, F. M. P. DA; MORAIS, J. P. S.; ANDRADE, F. K.; SOUZA FILHO, M. DE S. M. DE; ROSA, M. DE F. Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: Properties and morphological features. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 155, p. 425–431, 2017.

VIEIRA, A. N. **Produção de nanocelulose a partir da casca de eucalipto iodegradada por “*pycnoporus sanguineus*”**. 2018. 81f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2018.

WANG, L.; LI, K.; COPENHAVER, K.; MACKAY,S.; LAMM, M. E.; ZHAO, X.; DIXON, B.; WANG,J.; HAN, Y.; NEIVANDT, D.; JOHNSON, D.J.; WALKER, C.C.; OZCAN, S. and GARDNER, D. J. Review on Nonconventional Fibrillation Methods of Producing Cellulose Nano fi brils and Their Applications. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 22, p. 4037–4059, 2021

WOOD, J.; TAKEDA, Y.; TOBIMATSU, Y.; YAMAMURA, M.; TAKANO, T.; SAKAMOTO, M. Comparative evaluations of lignocellulose reactivity and usability in transgenic rice plants with altered lignin composition. **Journal of Wood Science**, [s.l.], v. 65, p.1-11, 2019.

XU, R.; DU, H.; WANG, H.; ZHANG, M.; WU, M.; LIU, C.; YU, G.; ZHANG, X.; SI, C.; CHOI, S. E.; LI, B. Valorization of Enzymatic Hydrolysis Residues from Corn cob into Lignin-Containing Cellulose Nanofibrils and Lignin Nanoparticles. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [s.l.], v. 9, p. 1–10, 2021.

XU, X.; LIU, F.; JIANG, L.; ZHU, J. Y.; HAAGENSON, D.; WIESENBORN, D. P. Cellulose Nanocrystals vs. Cellulose Nano fi brils: A Comparative Study on Their Microstructures and E ff ects as Polymer Reinforcing Agents. **ACS Applied Materials e Interfaces**, [s.l.], v. 5, p. 2999-3009, 2013.

YANG, H.; YAN, R.; CHEN, H.; LEE, D. H.; ZHENG, C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 86, p. 1781–1788, 2007.

YOKOTA, S.; KAMADA, K.; SUGIYAMA, A.; KONDO, T. Pickering emulsion stabilization by using amphiphilic cellulose nanofibrils prepared by aqueous counter collision. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 226, p. 115293, 2019.

YONG, L.; JUN, T.; YIN, C.; KAR, C.; AMELIA, M. A review on cellulose nanocrystals production and characterization methods from *Elaeis guineensis* empty fruit bunches. **Arabian Journal of Chemistry**, [s.l.], v. 14, p. 103339,1-25, 2021.

YU, H.; YAN, C. Mechanical Properties of Cellulose Nanofibril (CNF) - and Cellulose Nanocrystal (CNC), *In*: YU, H.; YAN, C. **Handbook of nanocellulose Nanocomposites**. [s.l.]: Online Library, 2017.p. (393) - (443).

YUAN, Y.; CHEN, H. Preparation and characterization of a biodegradable starch-based antibacterial film containing nanocellulose and polyhexamethylene biguanide. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 30, n. April, p. 100718, 2021.

ZHANG, M.; WANG, F.; SU, R.; QI, W.; HE, Z. Ethanol production from high dry matter corncob using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation after combined pretreatment. **Bioresource Technology**, [s.l.] v. 101, n. 13, p. 4959–4964, 2010.

ZHANG, Q.; ZHANG, L.; WU, W.; XIAO, H. Methods and applications of nanocellulose loaded with inorganic nanomaterials : A review. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 229, n. September 2019, p. 115454, 2020.

ZHONG, T.; DHANDAPANI, R.; LIANG, D.; WANG, J.; WOLCOTT, M. P.; FOSSEN, D. VAN; LIU, H. Nanocellulose from recycled indigo-dyed denim fabric and its application in composite films. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 240, n. April, p. 116283, 2020.

ZHU, Z.; ZHANG, E.; ZENG, Q.; RAO, J. Graphene Oxide Functionalized Cottonseed-Lignin Resin with Enhanced Wet Adhesion for Woody Composites Application. **polymers**, [s.l.], v. 14, p. 1–10, 2022.