



OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE

Jamile Costa Cerqueira¹, Bruna Aparecida Souza Machado²

¹ Bolsista CNPq

² Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

E-mails: jamilecosta@msn.com, brunam@fieb.org.br

RESUMO

A celulose é um polissacarídeo linear de alto peso molecular, abundante e cuja estrutura é organizada em fibrilas, há uma forte tendência na celulose de se formar cristais insolúveis em água e na maioria dos solventes orgânicos. Nanocristais de celulose, comumente referidos como *nanowhiskers* ou nanocelulose, podem ser obtidos de várias fontes. O interesse por *nanowhiskers* de celulose provenientes de fontes renováveis tem crescido principalmente por causa das características mecânicas excepcionais desses materiais, bem como os benefícios ambientais, disponibilidade de biopolímeros, sua abundância na natureza e o baixo custo. No Brasil, o coco verde é a maior fonte de fibras vegetais ricas em celulose. As cascas de coco verde são resíduos da agricultura com alto potencial de aproveitamento, mas, infelizmente, com poucas ações implementadas no Brasil. Sua elevada disponibilidade, somada a necessidade de uma fonte renovável, abre uma grande oportunidade para avanços tecnológicos que não só agreguem valor para a agroindústria, mas, ao mesmo tempo, atuem na diminuição dos impactos ambientais.

1. INTRODUÇÃO

Novos materiais estão sendo desenvolvidos voltados para a diminuição dos problemas ambientais. Juntamente com o avanço da tecnologia, os cientistas estão sendo incentivados ao desenvolvimento de novos compósitos como carga de reforço. Uma opção promissora seria a utilização das fibras naturais, que além de serem de fontes renováveis, apresentarem menor custo do que as fibras sintéticas (ISHIZAKI et al., 2006).

Das fibras naturais se obtém a celulose, um biopolímero natural de maior abundância na natureza, portanto renovável e biodegradável, podendo ser adicionada a outros compostos a fim de aumentar sua biodegradabilidade. Esse material vem sendo alvo de inúmeras pesquisas em prol do desenvolvimento de materiais totalmente biodegradáveis, visando assim a substituição de materiais sintéticos (MACHADO et al., 2012).

As fibras lignocelulósicas naturais de origem vegetal são produzidas em praticamente por todo o país. Algumas fibras estão dispostas espontaneamente na natureza, outras são oriundas de atividades agrícolas e as demais são resíduos gerados, principalmente pela



agroindústria. Dentro desse contexto, têm-se a casca de coco verde como uma importante fonte para obtenção dessas fibras naturais.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de coco verde (SOUZA, 2007). Por ser um país tropical, o consumo crescente da água de coco (menos de 25% do fruto) gera uma grande quantidade de biomassa que é descartada (NASCIMENTO et al., 2013) trazendo como consequência uma grande produção de resíduo sólido formada pela suas cascas fibrosas. Assim, a casca do coco verde torna-se um material promissor na contribuição para a diminuição do lixo sólido, além do baixo custo desta matéria prima (ISHIZAKI et al., 2006).

Machado et al. (2012), em seus estudos, incorporaram, aos filmes de amido, nanopartículas obtidas da celulose de fibras naturais. As nanoceluloses são a parte cristalina celulósica, com elevada rigidez, alta cristalinidade e em escala manométrica, comumente referida como nanowhiskers ou nanocristais.

A celulose é um polissacarídeo de alto peso molecular composta pela união de duas moléculas de glicose através de ligações β -1,4-glicosídicas. Esta unidade repetitiva, conhecida como celobiose, tem uma estrutura linear ou fibrosa na qual contém seis grupos hidroxila que estabelecem interações do tipo ligações de hidrogênio intra e intermolecular (SILVA et al., 2009). Devido a essas ligações de hidrogênio há uma forte tendência de a celulose formar cristais que a tornam completamente insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos. As zonas cristalinas se alternam com zonas amorfas (SONESSO, 2011)

São obtidos através do processo de hidrólise ácida, onde a sua parte amorfa é dissolvida, restando apenas a cristalina. As nanopartículas de celulose em suspensão podem ser separadas por processos de concentração por diálise e centrifugação, possibilitando a incorporação como material de reforço em matrizes poliméricas conferindo a essa material melhor propriedade mecânica, de barreira, térmica, óptica e dielétrica. Quando essas nanopartículas são incorporadas em matrizes também de fontes renováveis, como o amido, originam-se nanobiocompósitos totalmente biodegradáveis. (SONESSO, 2011; MACHADO et al., 2012).

A Figura 1 mostra o produto da hidrólise seletiva, que consiste na destruição das regiões amorfas ao redor e entre as microfibrilas de celulose, enquanto os segmentos cristalinos continuam intactos (SAMIR et al, 2005), resultando assim na formação dos cristais de nanocelulose.

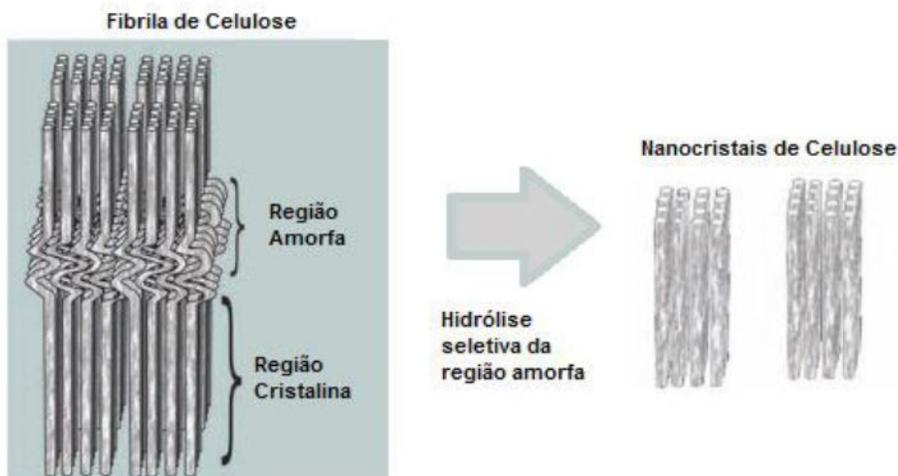


Figura 1- Obtenção de nanocristais a partir da hidrólise seletiva (Fonte: Silva *et al.*, 2009)

Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho é obter por hidrólise ácida nanocristais de celulose a partir da fibra de coco verde, bem como, realizar a caracterização dos mesmos através de análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e análises de birrefringência.

2. METODOLOGIA

Extração da celulose da fibra de coco

A metodologia para extração da polpa de celulose foi adaptada da literatura, utilizando como referência os trabalhos realizados por Rosa *et al.* (2010) e Samir *et al.* (2005). As fibras de coco foram secas em estufa e trituradas em liquidificador para obtenção de um fino particulado. Em seguida foram lavadas (30 gramas) com solução de NaOH 2% (1.200 ml), durante 4 horas sob agitação constante a uma temperatura de 80°C. O processo foi repetido 4 vezes para a remoção total dos agentes solúveis em água. A solução resultante foi lavada com água para a obtenção da polpa. O processo de lavagem foi repetido por quatro vezes para a remoção completa dos agentes solúveis em água.

Após a lavagem das fibras, realizou-se o processo de deslignificação da polpa, por meio do processo de branqueamento utilizando uma mistura de hipoclorito de sódio 1,7% (300 ml) e solução tampão (300 ml). A solução resultante foi colocada sob agitação constante numa temperatura de 80°C por 6 horas, filtrada e seca em estufa, obtendo-se assim a polpa de celulose. Em seguida a celulose obtida foi pulverizada em moinho Cadense Ltda, Brasil.

Preparação dos nanocristais de celulose da fibra de coco

Os nanocristais de celulose foram preparados por hidrólise ácida utilizando H₂SO₄ 64%. Um total de 12 ml/g de polpa de celulose foi submetido à agitação constante durante um período de 5 minutos, numa temperatura de 50°C. Após o tratamento de hidrólise ácida, as amostras foram filtradas, avolumadas e centrifugadas durante 10 minutos a 4400 rpm numa temperatura de 10°C, para separar os cristais da solução por centrifugação. Este procedimento foi repetido até não apresentar mais sobrenadante (uma média de 8 a 10 vezes). Em seguida as suspensões foram submetidas à diálise, até atingir o pH entre 7.



Após atingir o pH desejado, as amostras foram colocadas em banho de ultra-som por 20 minutos. A metodologia utilizada foi adaptada da literatura utilizando como referência o trabalho de ROSA et al. (2010).

Caracterização da fibra de coco e solução de nanocelulose

Composição química da fibra de coco

A caracterização dos principais componentes da fibra da casca do coco verde (lignina, hemicelulose e celulose) foi determinada utilizando um Analisador de Fibras da ANKOM A200. Foram realizadas as análises de Fibra em Detergente Neutro (FDN) que determina como resíduo predominantemente a lignina, celulose e, hemicelulose, após a digestão em solução detergente, Fibra em Detergente Ácido (FDA) que determina como resíduo predominantemente a lignina e celulose e o método de determinação de Lignina. As lavagens com as soluções foram realizadas dentro do equipamento que mantinha a solução a uma temperatura de 100°C, enquanto agitava para garantir um fluxo uniforme da solução química através das amostras. Para a realização dos métodos FDN e FDA, pesaram-se as amostras (aproximadamente 0,55g) e as bolsas de filtro utilizadas para armazenar as amostras devidamente rotuladas, e em seguida as mesmas foram seladas. Foi incluída uma bolsa vazia no procedimento para a determinação do branco de correção do peso da bolsa. A determinação de FDN e FDA foram baseados na metodologia de VAN SOEST et al. (1991), e lignina utilizando-se ácido sulfúrico 72% conforme GOERING e VAN SOEST (1970).

Birrefringência das suspensões de nanocelulose

Para a determinação da birrefringência nas suspensões de nanocelulose em água, foram utilizados dois filmes de polarizadores cruzados. Os filmes polarizadores foram ajustados de maneira a ficarem perpendiculares entre si, onde foi incidida uma luz direta sobre um deles, e a amostra foi interpolada entre os dois filmes (VAN-DER-BERG et al., 2007).

Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

A solução de nanocelulose de coco foi analisada por microscopia eletrônica de transmissão (MET) a fim de determinar o comprimento das fibras (L), largura (D), relação de aspecto (L/D) e indicar o estado de agregação dos cristais. As visualizações foram determinadas utilizando a coloração com Uranila a 2% e com ácido fosfotúngstico (PTA). As soluções de nanocelulose foram misturadas em volumes iguais com acetato de uranila aquosa a 2% (UA) e com PTA. Em seguida, 10 µL de cada mistura (UA-nanocelulose e PTA-nanocelulose) foram dispensadas em grades de cobre 400 mesh, deixadas em repouso durante 30-60 segundos. As grades foram secas e visualizadas em um microscópio eletrônico de varredura Olympus BX-51 operando no modo de campo claro em 80 kV. Os comprimentos e larguras foram medidos diretamente das micrografias eletrônicas de transmissão usando Image Tool 6.3 (Media Cybernetics, Inc., Bethesda, MD) com 30 medições para determinar os valores de média e desvio padrão.

Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

A caracterização por MEV das fibras de coco verde e da celulose foi realizada em um *Scanning Electron Microscope* JEOL JSM-6390LV. As fibras e a celulose foram metalizadas com ouro em um “*Sputter oater*” (plasma de argônio) da Balzers modelo SCD 50, deixadas em repouso por 24 horas, e em seguida analisadas por MEV.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As fibras de coco com diâmetros e comprimentos variados (Figura 1), foram trituradas a um pó fino, sendo estas as fibras utilizadas para a obtenção da celulose.



Figura 2. Fibra das cascas de coco verde seca em estufa.

As fibras lignocelulósicas são compostas basicamente por lignina, celulose e hemicelulose, além de ceras, extrativos, pectinas e cinzas. A quantidade de cada um destes componentes presentes nas fibras varia de acordo com o tipo de fibra (casca do coco, bagaço, juta, sisal entre outras) além do tempo de maturação da planta e do solo onde foi cultivada. A celulose, hemicelulose e lignina são responsáveis pelas características de comportamento térmico e mecânico desses materiais.

Os principais processos de isolamento dos nanocristais de celulose, independente da fibra lignocelulósica, são os processos químicos, geralmente com as etapas de lavagem das fibras com soluções alcalinas, branqueamento para obtenção da celulose, seguida de hidrólise ácida com emprego de ácidos fortes. Após o processo de quatro etapas sucessivas de tratamento com solução alcalina (Figuras 3 e 4), as fibras foram então branqueadas com o objetivo de intensificar os efeitos do tratamento alcalino, removendo a lignina residual e aumentando a exposição da celulose.

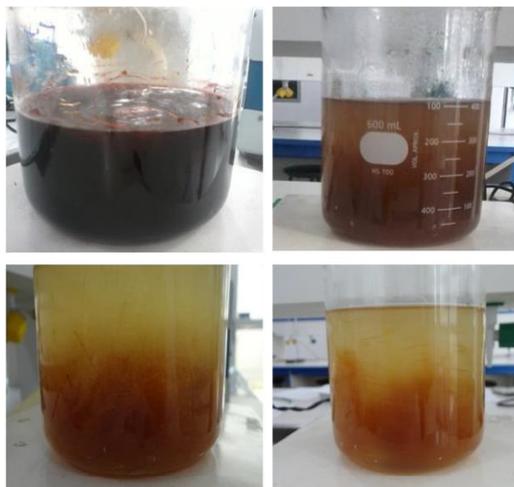


Figura 3. Fibras durante as quatro etapas de lavagens com solução de NaOH a 2%.



Figura 4. Obtenção das fibras após lavagem com solução de NaOH a 2%. Em (A): fibra após primeira lavagem, (B): fibra após segunda lavagem, (C): fibra após terceira lavagem e (D) fibra após quarta lavagem.

Após o branqueamento, as fibras passaram de marrom para uma tonalidade branca (Figura 5 e 6), indicando que assim como observado no tratamento alcalino, o branqueamento atingiu os resultados esperados.

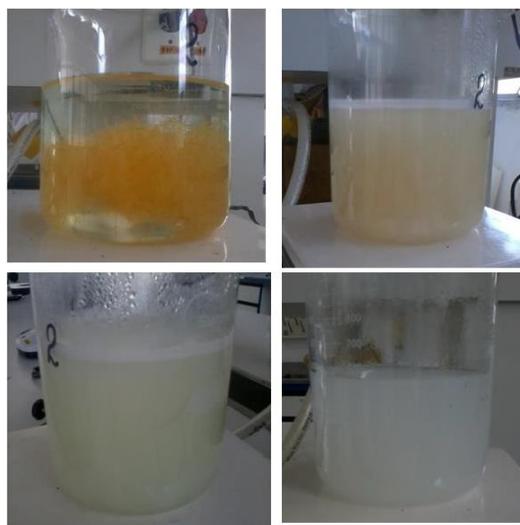


Figura 5. Etapas do branqueamento após tratamento alcalino das fibras de coco e consequente obtenção da celulose da fibra de coco verde.

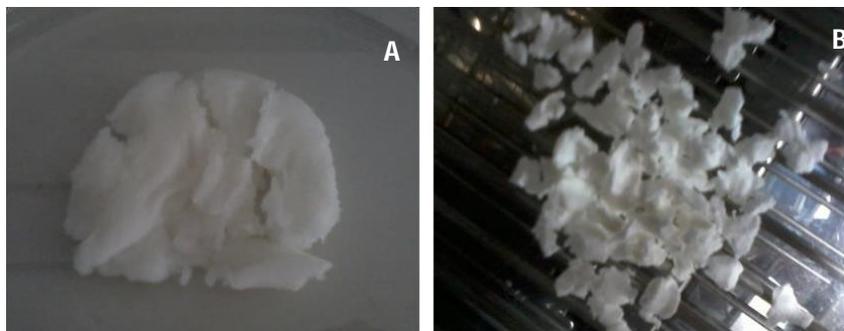


Figura 6. Polpa resultante do branqueamento (A) antes e (B) após secagem em estufa.

Neste trabalho os nanocristais de celulose foram preparados em suspensão aquosa após de hidrólise ácida utilizando H_2SO_4 64%, por um período de 5 minutos, numa temperatura de 50°C . Destaca-se que diversos estudos encontrados na literatura descrevem a utilização de tempos bem superiores do que o utilizado neste estudo para a obtenção da solução de nanocelulose, indicando assim que a quantidade de ácido, percentual deste, bem como a temperatura utilizada e agitação vigorosa, contribuíram de maneira significativa para o processo de extração, já que a solução de nanocelulose foi obtida após um período curto de hidrólise. Resultados semelhantes ao deste estudo foram encontrados por Machado et al., (2014) e Machado et al. (2012). O tamanho das fibras é, em especial, ligado ao ganho em propriedades mecânicas quando usadas como agente de reforço em compósitos. Fibras longas proporcionam, em geral, maiores ganhos em propriedades mecânicas, enquanto fibras curtas acrescentam menores ganhos (MASOUMY et al., 2004).

A solução obtida foi submetida a análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) comprimento das fibras (L), largura (D), relação de aspecto (L/D) e indicar o estado de agregação dos cristais. Os nanocristais de celulose de coco apresentaram comprimentos que variaram de 89 a 320 nm e largura média de 8,10 nm. A relação de comprimento e largura (L/D) apresentou um valor médio de $32,7 \pm 5,1$ que está na faixa da nanocelulose que têm grande potencial para serem usados como reforço em nanocompósitos, conforme indicado por ROSA et al. (2010) e Machado et al., 2014. No estudo realizado por Machado et al. (2014) foi verificada uma relação de comprimento e largura de $38,9 \pm 4,7$ e comprimentos que variaram de 98 a 430 nm e largura média de 6 nm para nanocristais também obtidos da fibra do coco verde.

As imagens obtidas por MET evidenciam a eficiência do tratamento de hidrólise ácida para a obtenção da nanocelulose da fibra do coco verde, confirmando assim, que as suspensões aquosas continham os nanocristais, que consistem principalmente de fibrilas individuais e alguns agregados. Na Figura 7A é apresentada a imagem dos nanocristais quando a solução de nanocelulose foi misturada ao ácido fosfotúngstico (PTA) e na Figura 7B a imagem dos nanocristais de celulose de coco obtidos quando diluídos em Uranila a 2%, demonstrando que as duas metodologias foram eficazes para a visualização dos nanocristais presentes na solução. Resultados semelhantes foram identificados por outros autores (SAMIR, et al. 2005; MACHADO et al., 2014)

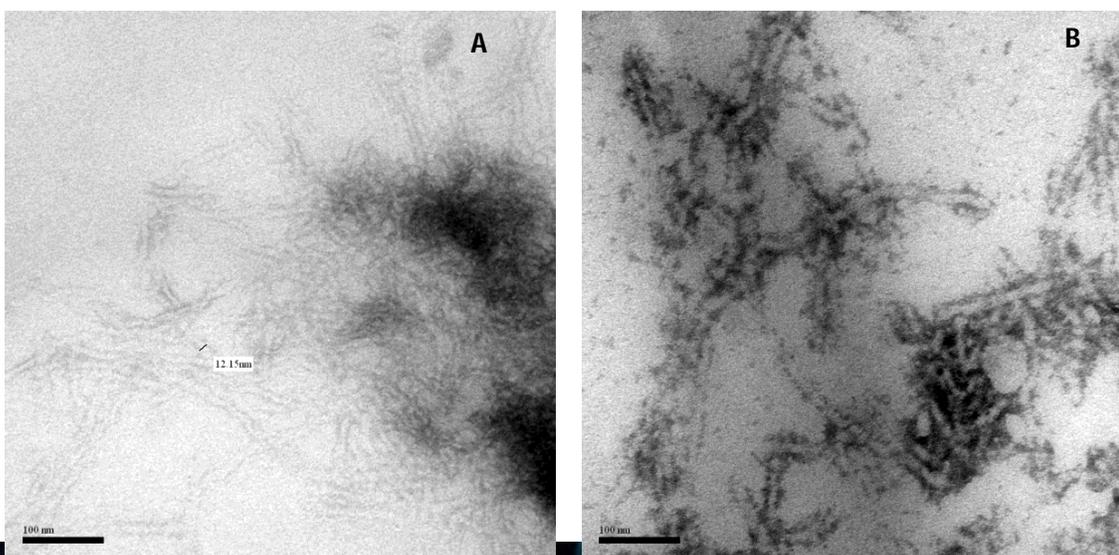




Figura 7. Imagens dos nanocristais de celulose da fibra de coco verde obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). Em (A) imagem obtida após diluição da solução de nanocelulose em PTA e em (B) diluição em Uranila (Escala de 100 nm)

Na Figura 8 são apresentadas as imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da celulose e da fibra de coco verde. A micrografia da fibra *in natura* (Figura 8B) demonstra a presença de superfícies rugosas das fibras cobertas por camadas de ceras e extrativos, além de revelarem a presença dos constituintes amorfos, como lignina e hemicelulose. Na micrografia da celulose obtida após o branqueamento (Figura 8A) é possível observar a presença de fibrilas de celulose, com presença de rugosidade, e ainda desagregadas. Observou-se ainda a presença de poros e/ou orifícios presente na superfície rugosa. Assim, quando as polioses e lignina são removidas com a etapa de branqueamento, a textura do elemento celulósico é chamada de fibrila. Os resultados encontrados estão de acordo com os identificados por Rosa et al. (2010).

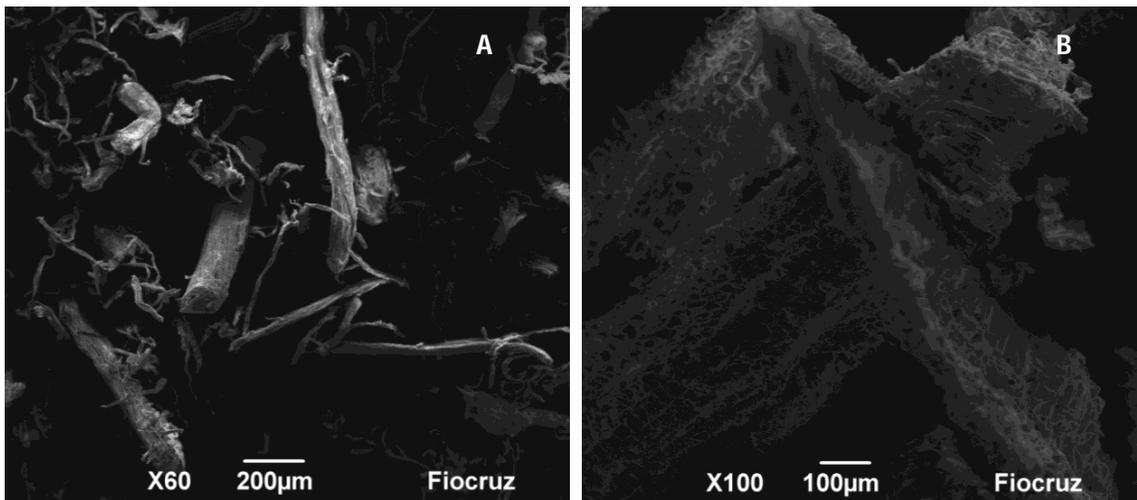


Figura 8. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da celulose (A) e da fibra de coco verde (B). Escalas de 200 e 100 µm.

A solução de nanocristais de celulose quando visualizada através de polarizadores apresentou uma fase nemática, que resulta em birrefringência da luz, considerada uma indicação de presença de nanocristais na suspensão (fase líquido-cristalina), conforme apresentado na Figura 9. Mesquita et al. (2010) visualizaram com sucesso a birrefringência da solução de nanocelulose de eucalipto a 4 % utilizando polarizadores cruzados

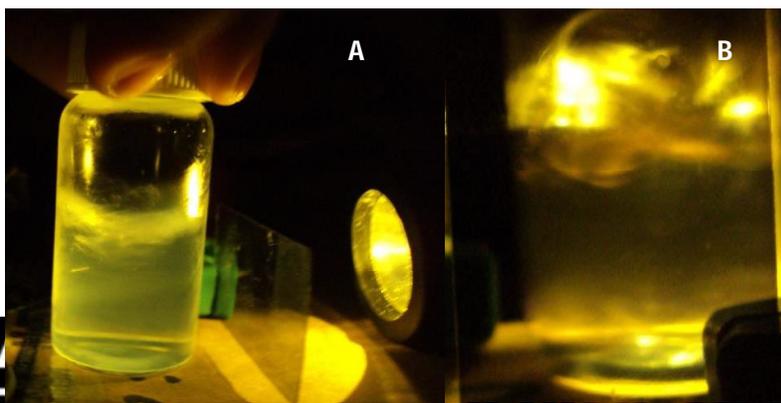




Figura 9. Imagem da realização do teste (A) e ampliação da solução para demonstrar a birrefringência (B).

É importante destacar que as suspensões de nanocelulose apresentam tendência em se alinharem devido a sua alta rigidez e elevada relação comprimento/diâmetro. Conforme descrito por alguns autores (SOUZA-LIMA & BORSALI, 2004; VAN-DEN-BERG et al., 2007), essa tendência causa a birrefringência da dispersão e pode ser visualizada diretamente através de polarizadores. É extremamente importante avaliar se os nanocristais de celulose possuem uma boa dispersão em suspensão, já que este é um pré-requisito necessário para alcançar resultados desejáveis quando incorporados a matrizes poliméricas com o objetivo de reforço mecânico.

Apesar das nanopartículas de celulose não apresentarem carga superficial, durante a hidrólise ácida, tanto o ácido sulfúrico, quanto o ácido clorídrico, são capazes de romper as pontes de hidrogênio formadas entre os agregados dos nanocristais, alcançando assim dispersões com birrefringência, característica esta considerada como critério de boa dispersividade (BONDESON & OKSMAN, 2007; VAN-DEN-BERG et al., 2007).

As fibras vegetais são compostas basicamente por celulose, hemicelulose, lignina e constituintes menores. Em geral, o teor de celulose varia entre 60-80%, o teor de lignina fica em torno de 5-20%, enquanto que outras misturas variam cerca de 20% (FENGEL e WEGENER, 1989). Corradini et. al., (2009) encontraram resultados que mostram a variação da composição química em função de diferentes cultivares de coco verde na faixa de $37,2 \pm 0,8\%$ a $43,9 \pm 0,7\%$ e de $31,5 \pm 0,1\%$ a $37,4 \pm 0,5\%$ para os teores de lignina e celulose, respectivamente. Machado et. al., (2012) também apresentaram valores para os principais constituintes da fibra de coco, contendo 32% de celulose e 38% de lignina. A Tabela 4 apresenta os resultados da análise de composição química da fibra de coco utilizada neste estudo para a obtenção de nanocelulose.

Tabela 4. Media e desvio padrão (dp) em porcentagem (%) dos principais constituintes da fibra.

| Fibra | Celulose \pm dp | Lignina \pm dp | Hemicelulose \pm dp |
|-------|-------------------|------------------|-----------------------|
| Coco | $21,42 \pm 1,79$ | $17,60 \pm 0,56$ | $153,23 \pm 0,98$ |

4. CONCLUSÃO

A enorme disponibilidade de fibras lignocelulósicas, junto com à necessidade de uma fonte renovável para a produção de polímeros, abre uma grande oportunidade para avanços tecnológicos que agreguem valor aos produtos da agroindústria. Paralelo a isto, está a contribuição para a solução de problemas associados a acúmulo de resíduos no meio ambiente. Assim, as análises tiveram por fim a extração de nanocristais de celulose da fibra do coco verde. Os resultados mostram que os nanocristais podem ser



obtidos de fibras de coco verde, resultado validado pelas imagens de Microscopia Eletrônica, representando um potencial material para reforço em nanocompósitos. O procedimento para obtenção da suspensão dos nanocristais realizados neste trabalho evidencia uma etapa importante para a formação dos nanocristais. Foram extraídos componentes como a lignina e a hemicelulose antes da hidrólise ácida, aumentando a acessibilidade às regiões amorfas.

REFERÊNCIAS

BONDESON, D.; OKSMAN, K. Dispersion and characteristics of surfactant modified cellulose whiskers nanocomposites. *Composite Interfaces* **2007**, 14, 7, 617-630.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Research Service*. United States Department Of Agriculture, 1970.

ISHIZAKI, Marina H. et al. Caracterização mecânica e morfológica de compósitos de polipropileno e fibras de coco verde: influência do teor de fibra e das condições de mistura. *Polímeros* [online] **2006**, 16, 3, 182-186.

MACHADO, B. A. S. Desenvolvimento e caracterização de filmes flexíveis de amido de mandioca com nanocelulose de coco. *Dissertação de Mestrado em Ciências de Alimentos*. Universidade Federal da Bahia, 2011.

MACHADO, B. A. S.; NUNES, I. L.; VARGAS, F. P.; DRUZIAN, J. I. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. *Ciência Rural* **2012**, 42, 11, 2085-2091.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O.; SILVA, J. B.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L.; VARGAS, F. P.; DRUZIAN, J. I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. *Química Nova* **2014**, xy, 00, 1-8.

MASOUMY, E., KACIR, L., KARDOS, J. L. Effect of fiber-aspect ratio and orientation on the stress-strain behavior of aligned, short-fiber-reinforced, ductile epoxy. *Polymer Composites* **2004**, 4, 1, 64-72.

MESQUITA, J.; DONNICI, C.; PEREIRA, F.; Biobased Nanocomposites from Layer-by-Layer Assembly of Cellulose Nanowhiskers with Chitosan. *Biomacromolecules*, **2010**, 7, 473-480.

NASCIMENTO, D. M.; DIAS, A. F.; ALMEIDA, J. S.; MORAIS, J. P. S.; SOUZA FILHO, M. S. M.; FIGUEIREDO, M. C.; ROSA, M. F. Nova abordagem para de obtenção de nanocristais de celulose a partir de um material rico em lignina. *Embrapa VII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio- Instrumentação*. São Carlos, Brasil, 2013.

ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGED, J. A.; GREGORSKIB, 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* **2010**, 1, 83-92.

SAMIR, M. A. S. A.; ALOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of Recent Research into Cellulosic Whiskers, Their Properties and Their Application in Nanocomposite Field. *Biomacromolecules* **2005**, 6, 612.

SILVA, L. T. Desenvolvimento e avaliação de embalagens biodegradáveis com ação antioxidante contendo café e cacau. *Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimento*. Universidade Federal da Bahia, 2009.

SONESSO, M.F.C. Obtenção E Caracterização De Nanocristais De Celulose A Partir De Algodão Cru E Polpa Kraft. *Dissertação de Pós-graduação em Engenharia Química*. Universidade Federal de Santa Catarina, 2011

SOUZA-LIMA, M. M.; BORSALI, R. Rodlike Cellulose Microcrystals: Structure, Properties, and Applications. *Macromol. Rapid Commun* **2004**, 25, 771-787.

SOUZA, F. W.; MOREIRA, S. A.; OLIVEIRA, A. G.; et al. *Química Nova* **2007**, 30, 1153.

VAN-DEN-BERG, O.; CAPADONA, J. R.; WEDER, C. Preparation of Homogeneous Dispersions of Tunicate Cellulose Whiskers in Organic Solvents. *Biomacromolecules* **2007**, 8, 1353-1357.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **1991**, 74, 3583-3597.