



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE MEMBRANAS DE  
QUITOSANA CONTENDO NANOCRISTAIS DE CELULOSE**

**LETÍCIA MENDES DE CÓRDOVA**

Florianópolis  
Novembro/2019

**Letícia Mendes de Córdova**

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE MEMBRANA DE  
QUITOSANA CONTENDO NANOCRISTAIS DE CELULOSE**

Relatório apresentado ao Departamento de Química  
da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito parcial da disciplina de  
Estágio II (QMC 5512)

**Prof. Dr. ALEXANDRE LUIS PARIZE**

**Doutorando ADALBERTO ENUMO JUNIOR**

Florianópolis  
Novembro/2019

Dedico este trabalho à vida  
Que com seus desafios  
Permite-nos estar  
em constante evolução.

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente a mim mesma por ter conseguido concluir a graduação em química, superando minhas dificuldades e evoluindo como indivíduo, tanto pessoal como profissional.

Agradeço também a minha família, aos meus animais de estimação que me ensinaram que nas horas que tudo parece desmoronar, basta parar e aproveitar a companhia deles.

A minha tia pelo “*tia-trocínio*” (tia + patrocínio) (*patrocinium* = proteção) durante minha vida, principalmente durante o ensino médio e os últimos semestres do curso de graduação.

Ao meu namorado Lucas, que vem me mostrando que as horas de descontração são tão importantes quanto os estudos. Pela sua companhia e paciência para me ‘aturar’ em final de semestre.

Aos meus amigos Carlos (Carlitos), Juliana (Jujubs), Daniel (Piquituxi), Maria Clara (Clarinha), Michele (Mimi) e Roger que me acompanharam tanto nas horas boas quanto nas mais difíceis. A Luísa (Lulu), Gabriela (Gabi), Mateus, Jéssica e Symara pelos ótimos momentos durante a graduação, dentro e fora das aulas. Ao Gabriel e Luís Antônio pelas conversas e diversão.

Agradeço ao professor Dr. Alexandre Luis Parize pelas conversas e conselhos, tanto no meio acadêmico quanto pessoal, por ter me permitido ingressar na área de físico-química e trabalhar com polímeros naturais junto ao POLIMAT, e pela orientação nos TCCs.

A professora Dra. Vera Lúcia Azzolin Frescura Bascuñan pela indicação do professor Dr. Alexandre como meu orientador.

Ao Adalberto (Juninho) por sempre me salvar até quando preciso de algo para as aulas e para os TCCs, pelas conversas diversas e pela coorientação no TCC.

Ao Idejan pelas conversas diversas, e pelos conselhos e ajuda durante o desenvolvimento do TCC.

Ao POLIMAT pela estrutura física que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho. A todos os seus integrantes pelas conversas diversas e diversão, em especial a Carla e ao Adalberto (Juninho) pelos ensaios de tensão-deformação, a

Andressa pelas análises de FTIR e MEV, a Natália pelas análises de TGA e DSC e conselhos sobre o TCC, a Mariele e ao Rodrigo (Alemão) pela análise de TEM.

Ao Laboratório Central de Microscopia da UFSC (LCME) pelo auxílio com as análises de MEV e TEM.

Ao Laboratório de Catálise Biomimética (LaCBio) pelo auxílio com as análises de potencial Zeta e DLS.

A todos os professores que contribuíram direta ou indiretamente para meu aprendizado e conhecimento durante toda a minha vida escolar e de graduação.

Aos professores da banca, professor Dr. Luís Otávio de Brito Benetoli e professor Dr. Glaucio Régis Nagurniak, pela leitura e contribuição para este trabalho.

De uma forma geral agradeço ao POLIMAT e a UFSC pelo espaço onde pude tornar possível este trabalho e minha formação profissional.

“Sou uma colcha feita de retalhos,  
Cujas fibras são rejuvenescidas  
Com as pequenas coisas boas da vida”

Letícia Lefebery

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Objetivo Geral.....	22
3.2. Objetivos Específicos.....	22
4. METODOLOGIA.....	23
4.1. Materiais, Reagentes e Equipamentos.....	23
4.2. Obtenção e Caracterização dos Nanocristais de Celulose a partir do Bagaço da Cana-de-Açúcar.....	23
4.3. Preparação das Membranas de Quitosana.....	26
4.4. Incorporação dos Nanocristais de Celulose nas Membranas de Quitosana.....	27
4.5. Caracterização e Avaliação das Propriedades Mecânicas das Membranas.....	27
4.5.1. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).....	27
4.5.2. Microscopia Ótica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
4.5.3. Ensaio Tensão-Deformação das Membranas.....	28
4.5.4. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	29
4.5.5. Análise Termogravimétrica (TGA).....	29
4.5.6. Análise de Intumescimento e Solubilidade.....	30
4.6. Resíduos.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1. Obtenção e Caracterização dos Nanocristais de Celulose a partir do Bagaço da Cana-de-Açúcar.....	31
5.1.1. Análise de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier para os nanocristais de celulose.....	33
5.1.2. Análise de Espectroscopia Eletrônica de Transmissão.....	34
5.1.3. Potencial Zeta e Espalhamento Dinâmico de Luz.....	35
5.2. Preparação das Membranas de Quitosana.....	35

5.3. Incorporação dos Nanocristais de Celulose nas Membranas de Quitosana.....	36
5.4. Caracterização e Avaliação das Propriedades Mecânicas das Membranas.....	36
5.4.1. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).....	36
5.4.2. Microscopia Ótica com Luz Polarizada (PLOM) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	38
5.4.3. Ensaio Tensão-Deformação das Membranas.....	43
5.4.4. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	44
5.4.5. Análise Termogravimétrica (TGA).....	46
5.4.6. Análise de Intumescimento e Solubilidade.....	47
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
7. REFERÊNCIAS.....	50
8. APÊNDICES.....	54

## Lista de Figuras

<b>Figura 1. (a)</b> Composição percentual dos materiais que compõem os resíduos sólidos urbanos. <b>(b)</b> Distribuição média dos plásticos encontrados no volume total dos resíduos sólidos urbanos dispostos. Avaliação da atividade.....	17
<b>Figura 2.</b> Desacetilação da quitina e obtenção de quitosana.....	19
<b>Figura 3.</b> Estrutura química da unidade monomérica da celulose.....	20
<b>Figura 4.</b> Nanocristais de celulose dispersos em água.....	21
<b>Figura 5.</b> Fluxograma das etapas de tratamento do bagaço da cana-de-açúcar.....	24
<b>Figura 6.</b> Etapa 1: Tratamento com solução de NaOH para retirada de lignina e hemicelulose.....	32
<b>Figura 7.</b> Etapa 2: tratamento com solução de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> para a retirada de lignina e hemicelulose residuais.....	32
<b>Figura 8.</b> Etapa 3: Tratamento com solução de Ca(ClO) <sub>2</sub> para branqueamento final da celulose.....	33
<b>Figura 9.</b> Etapa da hidrólise ácida: Tratamento com solução de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> para obtenção dos nanocristais de celulose.....	33
<b>Figura 10.</b> Espectro na região do infravermelho dos nanocristais de celulose.....	34
<b>Figura 11.</b> Micrografia dos nanocristais de celulose por microscopia eletrônica de transmissão.....	34
<b>Figura 12.</b> Superfície de secagem para a membrana de quitosana sem nanocristais de celulose.....	35
<b>Figura 13.</b> Superfícies das membranas de quitosana com 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose.....	36
<b>Figura 14.</b> Espectro na região do infravermelho das membranas a base de quitosana com ácido cítrico com as respectivas concentrações de nanocristal.....	37
<b>Figura 15.</b> Superfícies das membranas observadas no microscópio ótico e com a luz polarizada.....	39
<b>Figura 16.</b> Região de acúmulo de nanocristal de celulose na membrana de quitosana com ácido cítrico com 10% de nanocristais. Esquerda: superfície. Direita: Superfície com luz polarizada.....	40

<b>Figura 17.</b> Superfícies e fraturas obtidas dos ensaios mecânicos das membranas, observadas no microscópio eletrônico de varredura.....	<b>42</b>
<b>Figura 18.</b> Curvas referentes ao ensaio mecânico de tensão x deformação das membranas a base de quitosana em solução de ácido cítrico com diferentes concentrações de nanocristais de celulose.....	<b>43</b>
<b>Figura 19.</b> Curvas de DSC para: <b>a)</b> as membranas de quitosana em ácido cítrico contendo 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose. <b>b)</b> Aumento da região de 0 a 100 °C.....	<b>45</b>
<b>Figura 20.</b> Perfis de perda de massa para as membranas de quitosana em ácido cítrico contendo 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose.....	<b>47</b>

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Resultados médios obtidos dos corpos de prova (CP) no ensaio mecânico de tensão x deformação para as membranas contendo 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristal de celulose.....	<b>44</b>
---	-----------

## Lista de Equações

<b>Equação 1.</b> Determinação do grau de intumescimento para as membranas de quitosana (%).....	<b>31</b>
--	-----------

## Lista de Abreviaturas

- DLS – Espalhamento Dinâmico de Luz (do inglês: *Dynamic Light Scattering*)
- DSC – Calorimetria Diferencial de Varredura (do inglês: *Differential Scanning Calorimetry*)
- FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês: *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)
- m/m – massa por massa
- m/v – massa por volume
- PET – Polietileno tereftalato
- pH – Potencial hidrogeniônico
- PLOM – Microscopia Ótica de Luz Polarizada (do inglês: *Polarized Light Optical Microscopy*)
- rpm – rotações por minuto
- SEM – Microscopia Eletrônica de Varredura (do inglês: *Scanning Electron Microscopy*)
- TEM – Microscopia Eletrônica de Transmissão (do inglês: *Transmission Electronic Microscopy*)
- TGA – Análise Termogravimétrica (do inglês: *Thermogravimetric Analysis*)
- XRD – Difração de Raios-X (do inglês: *X-Ray Diffraction*)

## Resumo

Atualmente a preocupação com o acúmulo de resíduos poliméricos a base de petróleo vem crescendo devido a sua ampla utilização e baixo custo de fabricação com o pesar de que não são biodegradáveis e acabam gerando um problema ambiental de poluição. Uma alternativa para o problema em questão seria a reciclagem destes materiais, que é dificultada devido à composição química diferente dos mesmos. Como uma possível solução para este problema, são pensados materiais diferentes que possam ser biodegradáveis e que consigam substituir satisfatoriamente os polímeros utilizados comumente, como, por exemplo, as membranas poliméricas a base de matérias-primas renováveis que podem ser feitas de proteínas, lipídeos e polissacarídeos. A quitosana é um polissacarídeo que não apresenta toxicidade, é biodegradável e biocompatível, além de possuir atividades antimicrobianas e antifúngicas. E foi utilizada neste trabalho para a obtenção de membranas poliméricas biodegradáveis, através da dissolução da quitosana 2% (m/m) em uma solução de ácido cítrico 4% (m/v). Para melhorar as propriedades mecânicas desta membrana foram incorporados nanocristais de celulose que foram obtidos através do tratamento do bagaço da cana-de-açúcar através de um processo alcalino/oxidativo, seguido de uma hidrólise ácida. Estes nanocristais se mostraram estáveis em solução aquosa. E foram caracterizados pelas técnicas de TEM, FTIR, DLS e potencial Zeta. As membranas por sua vez, foram caracterizadas por FTIR, MEV, DSC, TGA, PLOM. Foram observados através dos resultados das análises os indícios de que à medida que se aumentava a concentração de nanocristais à matriz polimérica, mais aumentava a interação entre a matriz polimérica a base de quitosana com os nanocristais de celulose, e mais o material se tornava estruturalmente mais estável. Assim essas membranas poliméricas a base de quitosana, que apresentam propriedades antifúngicas e antimicrobianas, juntamente com os nanocristais de celulose exibem propriedades mecânicas e térmicas melhores que o polímero puro, e utilizando como plastificante o ácido cítrico, que apresenta propriedade de conservante natural, a fim de melhorar a conservação dos alimentos embalados, tem-se isto como uma possível aplicação futura em frutas processadas.

**Palavras-chave:** *quitosana, nanocristais de celulose, membranas, ácido cítrico.*

## 1. INTRODUÇÃO

A crescente utilização de membranas poliméricas para embalagens quimicamente sintetizadas à base de petróleo, devido ao seu baixo custo, facilidade de processamento e ampla aplicabilidade, vem gerando aspectos negativos devido ao tempo que esse material leva para se decompor na natureza, gerando problemas ecológicos devido ao volume aparente e aumento na quantidade desses resíduos.

Uma alternativa seria sua reciclagem, porém, esta não é realizada de forma completa, pois as composições químicas desses materiais são diferentes devido às suas misturas poliméricas utilizadas e o uso de diferentes aditivos como cargas, colorantes e plastificantes utilizados, dificultando assim o aproveitamento total desses materiais. Assim, a busca por novos materiais advindos de fontes renováveis e biocompatíveis, com facilidade de descarte sem aumentar o impacto ambiental é de interesse tanto científico quanto industrial.

A substituição de derivados de petróleo por polímeros biodegradáveis é de interesse, uma vez que são facilmente degradados por enzimas de microrganismos como fungos e bactérias, e que são provenientes de fontes renováveis. Essas embalagens podem ser produzidas a partir de polissacarídeos, proteínas e lipídios advindos de matérias-primas de estoques agrícolas reutilizáveis, biopolímeros (celulose, gomas, amido, entre outros) e resíduos da indústria de processamento de alimentos marinhos (quitosana).

A quitosana, que foi utilizada neste trabalho, é um polissacarídeo produzido a partir da desacetilação da quitina, e pode ser usada na fabricação de membranas para embalagens, pois não apresenta toxicidade, é biodegradável e biocompatível, além de possuir atividades antimicrobianas e antifúngicas que melhoram a preservação de alimentos. Mas seu uso é limitado devido às fracas propriedades de barreira mecânica. É solúvel apenas em soluções ácidas diluídas, podendo ser utilizada uma solução de ácido cítrico como solvente, pois o mesmo é um plastificante e conservante natural.

Para melhorar as propriedades mecânicas dessa membrana a base de quitosana utilizando ácido cítrico como solvente, podem ser incorporados nanocristais de celulose como carga de reforço, que irão, através de redes de

percolação que são mantidas por forças de ligação de hidrogênio, melhorar as propriedades físico-químicas da matriz polimérica, modificando as propriedades microscópicas e macroscópicas do polímero proporcionando desempenhos superiores como propriedades de barreira, mecânicas e térmicas em relação ao polímero puro. Esses nanocristais podem ser obtidos através do tratamento da celulose em um processo de hidrólise ácida e se apresentam sob a forma de bastonetes ou bigodes de gato.

A celulose é um carboidrato, polímero natural, que consiste em uma cadeia linear de D-glicose ligada a  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4), é um dos biopolímeros mais abundante na terra e é encontrado na parede celular vegetal e também produzido por certas bactérias, algas e tunicados marinhos. E pode ser obtida a partir do tratamento do bagaço da cana-de-açúcar que é um subproduto agrícola produzido em larga escala para a extração da garapa e que se encontra em expansão nos últimos anos, que vem se mostrando como um grande potencial de aproveitamento para novas matérias-primas.

Essa celulose advinda do bagaço da cana-de-açúcar, após tratamento adequado, que consiste em uma etapa de branqueamento alcalino/oxidativo seguida de uma etapa de hidrólise ácida, pode ser transformada em microfibras, nanofibras e nanocristais.

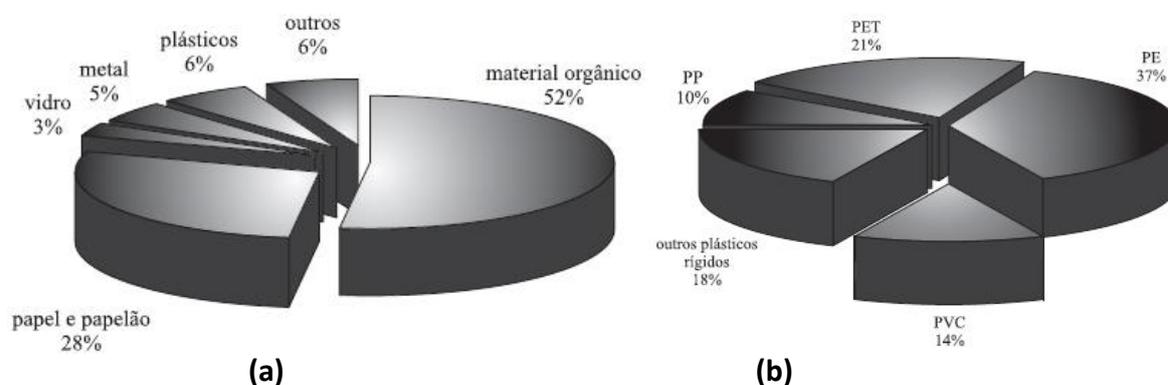
Assim, este trabalho tem como objetivo desenvolver e caracterizar membranas de quitosana preparadas em solução de ácido cítrico enriquecidas com nanocristais de celulose com intuito de melhorar as propriedades físico-químicas dessas membranas poliméricas biodegradáveis. Que poderá ser testada em sistemas que necessitem de membranas com propriedades antifúngicas, antimicrobianas e conservantes, que se solubilize facilmente e que seja biodegradável. Como por exemplo, na aplicação de recobrimento de frutas processadas.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

Atualmente, há uma considerável preocupação na substituição das membranas comuns à base de petróleo por polímeros biodegradáveis, principalmente devido à imensa quantidade de resíduos não degradáveis e poluição ambiental.<sup>1</sup> Estas membranas poliméricas quimicamente sintetizadas são amplamente utilizadas em embalagens de alimentos devido ao seu baixo custo, facilidade de processamento e ampla aplicabilidade. No entanto, o uso crescente e indiscriminado destes materiais sintéticos, à base de petróleo, vem causando sérios problemas ecológicos devido a sua não biodegradabilidade.<sup>2</sup>

Com o crescimento da população mundial, tem aumentado também o número de produtos comercializados e conseqüentemente o aumento na quantidade de resíduos gerados, sobretudo de embalagens de materiais não biodegradáveis. Dentre os produtos mais utilizados como embalagens destacam-se o uso do papel, do papelão e dos polímeros sintéticos, como podemos ver na **Figura 1**.<sup>3</sup> A contribuição do plástico, de 6%, é pequena em relação aos demais resíduos, porém trazem um aspecto negativo devido ao seu volume aparente, além do tempo que levam para se decompor na natureza por serem em sua maioria polímeros sintéticos, não biodegradáveis, pois as enzimas presentes nos microrganismos não são capazes de degradá-los.

**Figura 1. (a)** Composição percentual dos materiais que compõem os resíduos sólidos urbanos. **(b)** Distribuição média dos plásticos encontrados no volume total dos resíduos sólidos urbanos dispostos.<sup>3</sup>



**Legenda:** PP (polipropileno); PE (polietileno); PET (polietileno tereftalato); PVC (policloroeteno).

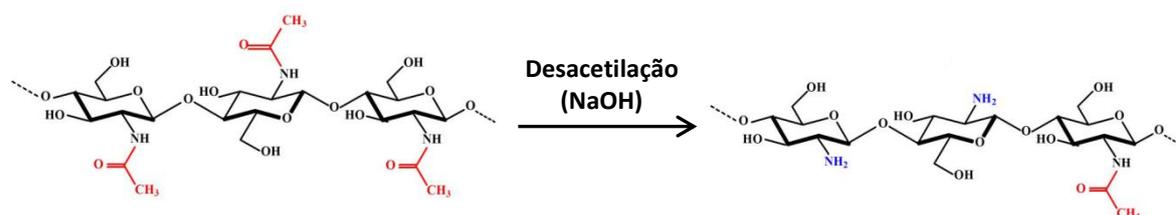
**Fonte:** YOSHIGA *et al.* (2004).<sup>3</sup>

Uma alternativa para esses materiais poliméricos é a reciclagem, que é feita em alguns países, mas não é completa. Além de que a reciclagem de embalagens plásticas é dificultada pelas suas composições químicas (diferentes tipos de polímeros) e pelos diferentes aditivos que podem ser adicionados como cargas, colorantes e plastificantes.<sup>4</sup>

O crescimento das preocupações ambientais em relação aos materiais de embalagem baseados em produtos petroquímicos não biodegradáveis tem estimulado o interesse em alternativas biodegradáveis provenientes de fontes renováveis.<sup>2</sup> Assim, o uso de embalagens renováveis de base biológica, produzidas a partir de polissacarídeos, proteínas e lipídios, vem crescendo atualmente.<sup>1</sup> Essas matérias-primas podem ser provenientes de estoques agrícolas reutilizáveis; biopolímeros (celulose, gomas, amido, entre outros) e resíduos da indústria de processamento de alimentos marinhos (quitosana).<sup>2</sup> Esses polímeros biodegradáveis que são facilmente atacados e degradados por enzimas, passam a ser uma alternativa para o problema ambiental.<sup>4</sup>

Um desses biopolímeros é a quitosana, um polissacarídeo linear natural composto por  $\beta$ -1,4-glucosamina e N-acetilglucosamina, que é produzido a partir da desacetilação (em graus variados) da quitina (**Figura 2**), que é um dos polissacarídeos naturais mais abundantes na natureza,<sup>5</sup> presente no exoesqueleto dos artrópodes e na parede celular dos fungos. Membranas feitas à base de quitosana podem ser usadas como embalagem antimicrobiana para melhorar a preservação de alimentos devido à sua não toxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, excelente propriedade de formação de membranas e atividades antimicrobianas e antifúngicas.<sup>1</sup> A literatura descreve que membranas à base de quitosana tendo ácido cítrico como solvente podem ser usadas com sucesso como embalagem antimicrobiana para melhorar a preservação de alimentos embalados.<sup>1</sup>

**Figura 2.** Desacetilação da quitina e obtenção de quitosana.



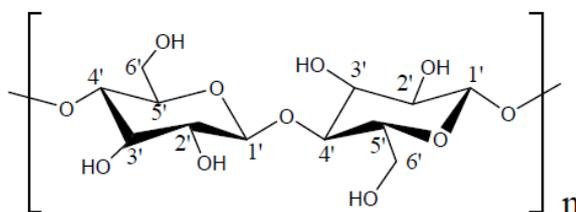
**Fonte:** Adaptada de FIGUEIREDO, J. S. L..<sup>6</sup>

Uma das formas comerciais que se pode encontrar a quitosana é sob a forma de pó ou flocos, que se mostra insolúvel em água e solúvel em soluções aquosas ácidas diluídas.

No entanto, devido às fracas propriedades de barreira e mecânica das membranas de polímeros naturais, o uso desses materiais para embalagens de alimentos tem sido limitado. Um dos métodos eficazes para melhorar as propriedades térmicas, mecânicas e de barreira de membranas biodegradáveis é a incorporação de nanofílicos de reforço na formulação de biopolímeros para criar membranas de nanocompósitos. Além disso, as membranas de nanocompósitos podem servir como portadores de alguns ingredientes ativos, como antioxidantes e agentes antimicrobianos, que melhoram a segurança alimentar e o prazo de validade dos alimentos.<sup>1</sup>

Um material que pode ser usado para melhorar as propriedades físico-químicas das membranas à base de quitosana são os nanocristais de celulose, que juntos formam um nanocompósito. A celulose é o biopolímero mais abundante na terra, encontrado na parede celular vegetal e também produzido por certas bactérias, algas e tunicados marinhos. É um polímero natural de carboidratos que consiste em uma cadeia linear de D-glicose ligada a  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4), (**Figura 3**).<sup>1</sup>

**Figura 3.** Estrutura química da unidade monomérica da celulose.



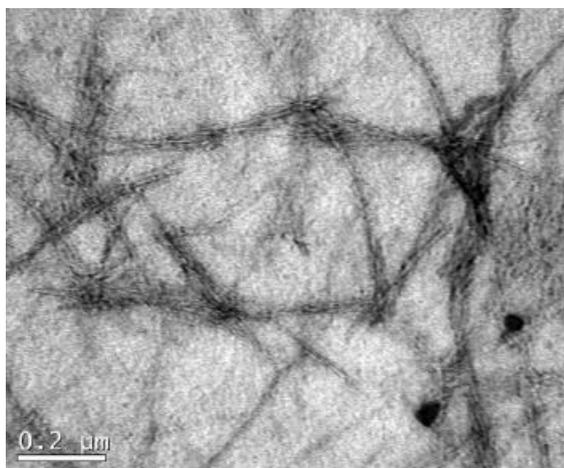
**Fonte:** Adaptada de MAO, H. *et al.*<sup>7</sup>

Dos subprodutos agrícolas, que são produtos secundários formados durante o processo agrícola que podem ser usados para outros fins ou descartados como resíduos, um dos que se apresenta em expansão nos últimos anos e que possui grande potencial de aproveitamento como novas matérias-primas é o bagaço de cana-de-açúcar, que é produzido em larga escala, e pode ser usado para obtenção da celulose. Após tratamento adequado, a matriz celulósica obtida pode ser adicionada a uma matriz polimérica para alterar as características físico-químicas dos nanocompósitos.<sup>8</sup>

Verifica-se na literatura que a celulose em forma de nanocristal tem mostrado grande potencial no reforço de sistemas de nanocompósitos, principalmente àqueles à base de biopolímeros.<sup>2</sup> Esses nanocristais são capazes de reforçar membranas poliméricas devido à formação de redes de percolação que são mantidas por ligação de hidrogênio.<sup>1</sup> E por essa característica, eles têm sido usados como nanomateriais dispersos em matrizes poliméricas para modificar as propriedades microscópicas e macroscópicas dos polímeros.<sup>8</sup> Proporcionando desempenhos superiores, tais como propriedades de barreira, mecânicas e térmicas, em relação aos materiais poliméricos sem os nanomateriais dispersos.<sup>1</sup>

A celulose pode ser facilmente transformada em microfibras, nanofibras e nanocristais e ainda pode ser usada como carga de reforço na fabricação de membranas de nanocompósitos. O método mais utilizado para a formação de nanocristais de celulose é através da hidrólise ácida da mesma. Esses nanocristais, quando isolados, se apresentam sob a forma de bastonetes ou bigodes de gato (**Figura 4**).<sup>1,8-9</sup>

**Figura 4.** Nanocristais de celulose dispersos em água.



**Fonte:** Vestena *et al.* (2016).<sup>9</sup>

A importância no desenvolvimento desses materiais com sistemas de nanocompósitos está à possibilidade de desenvolver materiais com melhores propriedades, dentre elas aumento da atividade antimicrobiana. Esta propriedade é importante e é uma maneira promissora de controlar o crescimento indesejável de patógenos de origem alimentar, quando estes sistemas atuam como membranas protetivas, e assim prolongam a vida útil de produtos, auxiliando na qualidade e a segurança dos alimentos.<sup>1</sup> Assim, este projeto tem por base o desenvolvimento de uma membrana a base do biopolímero quitosana tendo o ácido cítrico como solvente. Além de atuar neste sistema como solvente, o ácido cítrico tem seu potencial como conservante conhecido por apresentar poder antioxidante (acidulante INS 330), o que se torna importante quando o sistema é aplicado na área alimentar.<sup>10</sup>

Tendo em vista que na literatura podemos observar uma grande aplicação para essas membranas à base de quitosana, como na área da biomedicina como curativos antimicrobianos ou para administração de medicamentos,<sup>11-13</sup> na proteção ambiental como bioissorvente para metais pesados e absorção de corantes,<sup>14-15</sup> materiais funcionais como um imunossensor de antígeno específico da próstata<sup>16</sup> e um biosensor de dopamina<sup>17</sup>, membranas tecnológicas como uma membrana de evaporação catalítica<sup>18</sup> ou mesmo, como a já citada anteriormente, para utilização em embalagens de alimentos que podem conter indicadores, como por exemplo um indicador de temperatura.<sup>19</sup>

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

O objetivo deste trabalho é desenvolver e caracterizar membranas de quitosana preparadas em solução de ácido cítrico enriquecidas com nanocristais de celulose com intuito de melhorar as propriedades físico-químicas das mesmas.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Obter nanocristais de celulose a partir do tratamento do bagaço da cana-de-açúcar, que envolvem etapas de branqueamento seguido de hidrólise ácida;
- Caracterizar os nanocristais de celulose utilizando as técnicas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial Zeta;
- Preparar membranas de quitosana utilizando ácido cítrico como solvente e incorporação de nanocristais de celulose ao sistema;
- Caracterizar as membranas por FTIR, microscopia ótica com luz polarizada (PLOM), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise de solubilidade e intumescimento;
- Avaliar as propriedades mecânicas das membranas via ensaios de tensão x deformação.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Materiais, Reagentes e Equipamentos

Os reagentes empregados nas preparações, purificações e caracterizações são de pureza analítica e foram adquiridos de fontes comerciais e não passaram por purificação prévia: ácido cítrico (99,5%, Sigma-Aldrich), quitosana de média massa molecular ( $106 \text{ kg.mol}^{-1}$ , com 87% de desacetilação, Aldrich), hidróxido de sódio (NaOH, VETEC), peróxido de hidrogênio (35%,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , LAFAN), hipoclorito de sódio (10-12%, NaClO, NEON), cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ , LAFAN) e ácido sulfúrico (95-98%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , LAFAN). A água utilizada para a preparação das membranas foi purificada pelo sistema de osmose reversa Quimis. O bagaço de cana-de-açúcar foi adquirido de resíduos provenientes da produção de caldo de cana para uso próprio (Ribeirão da Ilha, Florianópolis).

Os equipamentos a serem utilizados: estufa de circulação de ar Tecnal TE-394/I, moinho de facas Marconi MA 048, agitador mecânico Quimis, balança analítica Bioprecisa Fa2104N, centrífuga SORVALL RT 6000B, banho de ultrassom Unique UltraCleaner 1600A, dispersor IKA T25 digital ULTRA-TURRAX, Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK), espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige 21, microscópio eletrônico JEOL-1011 TEM, microscópio ótico Motic SMZ-168 SERIES, equipamento de ensaio universal EMIC DL 2000, calorímetro diferencial de varredura Shimadzu DSC 50, analisador termogravimétrico Shimadzu TGA 50, microscópio ótico.

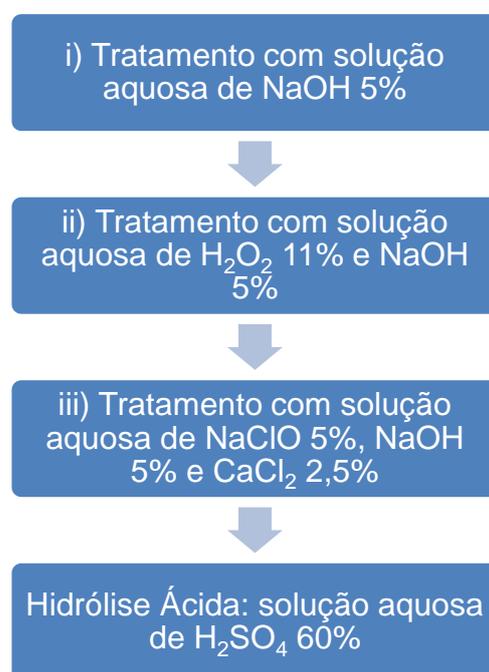
### 4.2. Obtenção e Caracterização dos Nanocristais de Celulose a partir do Bagaço da Cana-de-Açúcar

A obtenção dos nanocristais de celulose a partir do bagaço da cana-de-açúcar seguiu o procedimento descrito na literatura proposta por Vestena *et al.* 2016<sup>8</sup>, com alterações. Os nanocristais foram isolados do bagaço de cana-de-açúcar inicialmente através de um processo alcalino/oxidativo seguido de hidrólise ácida.

O bagaço da cana-de-açúcar, primeiramente, foi lavado com água, depois cortado para que se desprezassem os nós da cana-de-açúcar, que é rico em lignina, para que se ficasse com a parte central do bagaço, que é posteriormente cortado em pedaços menores a fim de facilitar a secagem e a moagem. Após a secagem em uma estufa de circulação de ar a 50 °C por 5 horas, o bagaço seco foi moído em um moinho de facas.

O processo de branqueamento das fibras de celulose, que consiste na quebra das ligações C=O da lignina e da hemicelulose que estão presentes na fibra do bagaço de cana-de-açúcar, tornando-as mais solúveis possibilitando a purificação da matriz celulósica. Este processo consistiu em três partes: i) Tratamento com solução aquosa de NaOH 5%, ii) Tratamento com solução aquosa de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 11% e NaOH 5%, e iii) Tratamento com solução aquosa de NaClO 5%, NaOH 5% e CaCl<sub>2</sub> 2,5%, seguido de uma etapa de hidrólise ácida, descritos a seguir (**Figura 5**):

**Figura 5.** Fluxograma das etapas de tratamento do bagaço da cana-de-açúcar.



**Fonte:** Desenvolvido pela autora.

i) As fibras foram mantidas em solução aquosa de NaOH 5% (1:40 m/v, fibra/solução) sob agitação mecânica a 85 °C por 90 minutos a fim de retirar a maior parte da lignina e da hemicelulose das fibras do bagaço da cana-de-açúcar. Em

seguida a dispersão foi filtrada e as fibras lavadas com água destilada até que a solução de lavagem atinja pH 7,0 e secas a 105 °C por 3 horas.

ii) As fibras obtidas do tratamento foram mantidas em uma solução aquosa de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 11% e NaOH 5% (1:20 m/v, fibra/solução) a 55 °C por 90 minutos a fim de retirar a lignina e a hemicelulose que não foram solubilizadas na etapa anterior. A dispersão foi filtrada e as fibras novamente foram lavadas com água destilada até que a solução de lavagem atinja pH 7,0 e secas a 105 °C em estufa com circulação de ar por 1 hora.

iii) Na sequência, as fibras foram mantidas em solução aquosa de NaClO 5,0%, NaOH 5,0% e CaCl<sub>2</sub> 2,5% (m/v, fibra/solução) a 45 °C por 240 minutos a fim de garantir uma pureza elevada de celulose. Logo em seguida a dispersão foi filtrada e as fibras foram lavadas com água destilada até que a solução de lavagem atinja pH 7,0 e secas a 105 °C por 1 hora.

Na etapa da hidrólise ácida as fibras foram mantidas em solução aquosa de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60% (1:20 m/v, fibra/solução) a 55 °C por 75 minutos. Logo em seguida foi adicionada água destilada em 5x o volume da mistura reacional a fim de parar a reação em temperatura ambiente. A mistura foi então centrifugada a 3400 rpm por ciclos de 15 minutos a 10 °C. O sobrenadante foi reservado e o sedimento foi ressuspenso com água destilada até que a solução ficasse turva. O sobrenadante foi então tratado por diálise em membrana de acetato de celulose com corte de 10.000 g mol<sup>-1</sup> até pH neutro e armazenados a 5 °C em água.

Para a caracterização dos nanocristais de celulose foram utilizadas as técnicas de FTIR, TEM, DLS e potencial Zeta.

A avaliação estrutural dos nanocristais foi feita a partir de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Que consiste na interação da radiação eletromagnética através de um feixe de luz na região do infravermelho com a matéria, provocando alterações no modo vibracional da molécula em regiões específicas, resultando em um espectro de bandas devido às interferências que a luz sofre ao incidir sobre a amostra.

Foi obtida em um equipamento Shimadzu IR Prestige, realizando 32 scans, com uma resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, na região de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup> à temperatura ambiente, utilizando pastilhas de KBr. A fim de relacionar as bandas obtidas no

espectro vibracional com os principais grupos funcionais das moléculas de celulose, lignina e hemicelulose, a fim de garantir que se obteve a matriz celulósica pura para obtenção dos nanocristais.

A análise de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) dos nanocristais de celulose foi realizada utilizando um microscópio eletrônico JEOL-1011 TEM operando a 80 kV, para observar a morfologia dos nanocristais, na qual se utiliza da interação de um feixe de elétrons, alta energia, para se obter informações microestruturais de materiais.<sup>20</sup> Onde uma gota ( $0,002 \text{ g mL}^{-1}$ ) da suspensão dos nanocristais de celulose foi diluída em 2 mL de álcool isopropílico e depositada em uma grade revestida com filme de cobre (FORMVAR®) e, após quase estar seca, foi corada pela adição de uma gota ( $\sim 4 \mu\text{L}$ ) de acetato de uranila a 3% (m/v). O líquido em excesso foi removido por evaporação à secagem à temperatura ambiente.

A análise de espalhamento dinâmico de luz (DLS) foi utilizada para detectar o comprimento dos nanocristais de celulose, a partir de uma alíquota da suspensão aquosa dos mesmos, com uma concentração equalizada a 0,12% (m/m). Onde a partícula será iluminada por uma fonte de luz, e ao incidir sobre a mesma, essa luz irá espalhar em todas as direções. A técnica de DLS consiste em analisar as flutuações da intensidade de luz espalhada devido ao movimento da partícula, que está relacionado ao tamanho da mesma.<sup>20</sup>

A análise de potencial Zeta ( $\xi$ ) foi utilizada para medir as cargas de superfície dos nanocristais de celulose, a partir de uma alíquota da suspensão aquosa dos mesmos, com uma concentração equalizada a 0,12% (m/m). Onde é medida a diferença de potencial entre o meio de dispersão e a camada da de fluído ligada a partícula dispersa.

Ambas as análises de DLS e potencial Zeta foram feitas utilizando o equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK).

### **4.3. Preparação das Membranas de Quitosana**

Para a preparação das membranas de quitosana foi utilizado o ácido cítrico como solvente. Uma solução viscosa de quitosana foi obtida pela dissolução de 2 g de quitosana em uma solução aquosa de ácido cítrico 4% (m/v), a fim de obter uma

solução final de quitosana 2% (m/m). A solução ficou sob agitação mecânica até se obter uma solução homogênea.

Em seguida, a solução foi filtrada em uma peneira de 90 mesh sob vácuo, para a eliminação de quitina residual e deixada sob vácuo a fim de eliminar bolhas de ar. Após este processo a solução foi vertida sobre placas de PET e deixada para secar a 25 °C em estufa de circulação de ar. Após alguns dias se obteve uma membrana polimérica fina à base de quitosana.

#### **4.4. Incorporação dos Nanocristais de Celulose nas Membranas de Quitosana**

A incorporação dos nanocristais de celulose nas soluções de quitosana foi realizada nas proporções de 99/1, 95/5 e 90/10 (m/m) de quitosana/nanocristais de celulose. O procedimento de preparo das membranas foi o mesmo descrito acima para a preparação da membrana de quitosana sem os nanocristais. A diferença se dará pela adição da solução aquosa contendo os nanocristais de celulose na solução polimérica de quitosana após a etapa de filtração a vácuo.

#### **4.5. Caracterização e Avaliação das Propriedades Mecânicas das Membranas**

Para a caracterização das membranas se utilizará:

##### **4.5.1. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)**

As análises de espectroscopia na região do infravermelho das membranas foram obtidas utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige 21. As membranas serão analisadas via aparato de ATR-FTIR. Que consiste na interação da radiação eletromagnética através de um feixe de luz na região do infravermelho com a matéria, provocando alterações no modo vibracional da molécula, resultando em um espectro de bandas devido as interferências que a luz sofre ao incidir sobre a amostra.<sup>20</sup> Foram obtidos 32 scans na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . A fim de relacionar as bandas obtidas nos espectros vibracionais com os principais grupos funcionais das moléculas de celulose.

#### **4.5.2. Microscopia Ótica com Luz Polarizada (PLOM) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As superfícies das membranas preparadas foram analisadas em um microscópio ótico Motic SMZ-168 SERIES em modo de transmissão. As imagens foram obtidas por digitalização instantânea através de um sistema de aquisição VMS 3.6. Com o objetivo de observar, em um aumento maior, a superfície de secagem e fraturas obtidas dos ensaios mecânicos das membranas obtidas com uma resolução de 200 nm. Além de observar a presença de partículas na estrutura da membrana com a luz polarizada.

Para as análises de microscopia eletrônica de varredura, a superfície de secagem e as fraturas obtidas dos ensaios mecânicos das membranas foram coladas em estabes e recobertas com ouro e micrografadas utilizando um microscópio JSM-6390LV-JEOL com voltagem de 5kV em diferentes aumentos. A técnica consiste em incidir feixes de elétrons que atingem e interagem com a amostra, e esses ou outros elétrons escapam da amostra, formando a imagem. Com o objetivo de observar a superfície de secagem e fraturas obtidas dos ensaios mecânicos das membranas obtidas, com resoluções na faixa de 10 nm.<sup>20</sup>

#### **4.5.3. Ensaio Tensão-Deformação das Membranas**

Os ensaios de tensão-deformação têm como objetivo determinar as propriedades mecânicas dos materiais, como módulo de elasticidade, tensão máxima, deformação específica, tensão de escoamento, entre outros. A partir da aplicação de uma tensão sobre o material onde deformação a velocidade constante, até a ruptura do mesmo, é registrada.<sup>20</sup>

Foram obtidos corpos de prova (12,75 x 50 mm) a partir das membranas produzidas e analisados em ensaios de tensão-deformação. Os corpos de prova foram acondicionados em umidade relativa de 58% (dessecador com solução saturada de brometo de sódio) à temperatura de 25 °C, durante 48 horas. Os ensaios foram realizados utilizando um equipamento de ensaio universal, EMIC DL 2000 à temperatura ambiente com velocidade constante de 20 mm.min<sup>-1</sup>, uma célula

de carga igual a 50 kgf e distância inicial da prova de 50 mm. As medidas foram realizadas segundo a norma ASTM D882-00.<sup>21</sup> Os resultados obtidos correspondem a uma média no ensaio de 5 corpos de prova para cada membrana analisada.

#### **4.5.4. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)**

As curvas de DSC das membranas foram obtidas utilizando um calorímetro diferencial de varredura Shimadzu DSC 50. Que consiste em avaliar a diferença de temperatura entre a amostra e o material de referência. Com o objetivo de determinar a transição vítrea; que é a transição que ocorre em materiais amorfos de um estado onde as moléculas estão mais organizadas para um estado menos organizado; das membranas obtidas.

As amostras (6 a 10 mg) foram seladas em painéis de alumínio e para cada amostra foram realizadas duas corridas. Previamente, foi realizada uma corrida até 150 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> para evaporação completa da água e limpeza da história térmica da amostra. Em seguida, a panela contendo a amostra foi rapidamente retirada do forno e submersa em N<sub>2</sub> líquido, a fim de aumentar a visibilidade das transições existentes. Por fim, foi realizada uma segunda varredura de -100 °C até 300 °C com taxa de 10 °C min<sup>-1</sup>.<sup>20</sup>

#### **4.5.5. Análise Termogravimétrica (TGA)**

As análises termogravimétricas (TGA) e termogravimétrica diferencial (DTG) foram realizadas em um analisador termogravimétrico Shimadzu TGA 50, em atmosfera de N<sub>2</sub> (50 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>). Os experimentos foram realizados à temperatura ambiente (25 °C) até 600 °C, com uma massa de 6 a 14 mg de amostra e taxa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>, utilizando cadinho de platina. Onde a perda de massa da amostra é medida em função do aumento da temperatura, a fim de determinar a estabilidade térmica das membranas com as incorporações de nanocristais de celulose nas concentrações de 0%, 1%, 5% e 10%.

#### 4.5.6. Análise de Intumescimento e Solubilidade

Para determinação do perfil de intumescimento das membranas, uma área de 2 cm por 2 cm de membrana foram secos em estufa e inicialmente pesados. As amostras foram mantidas submersas em água a 25°C e em intervalos de tempo pré-determinados, as amostras foram retiradas, secas em papel absorvente para retirar o excesso de solução e pesadas novamente, obtendo-se uma curva de ganho de massa de água absorvida em função do tempo, calculada através da equação do grau de intumescimento (**Equação 1**).

Após 24 horas de estudo, se obteve a massa seca de membrana restante, e foi calculado a solubilidade da membrana.

**Equação 1.** Determinação do grau de intumescimento para as membranas de quitosana (%).

$$GI (\%) = \frac{(m_t - m_0)}{m_0} \times 100$$

Onde  $m_t$  é a massa no tempo avaliado e  $m_0$  a massa inicial da membrana.

#### 4.6. Resíduos

Os resíduos que foram gerados na preparação das membranas poliméricas foram tratados com solução de bicarbonato de sódio, corrigidos o pH das soluções até estarem na faixa entre 6 e 8, e assim foram ser descartadas na rede de esgoto, visto que são biodegradáveis, tanto na escala microscópica e macroscópica.

A maior parte de resíduos gerados foram das soluções aquosas de NaOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Ca(ClO)<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> provenientes do tratamento do bagaço da cana de açúcar para obtenção dos nanocristais de celulose, foram misturados e posteriormente corrigidos o pH das soluções e posterior evaporação da água, a fim de obter um resíduo sólido, rico em lignina e hemicelulose, para descarte adequado.

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Obtenção e Caracterização dos Nanocristais de Celulose a partir do Bagaço da Cana-de-Açúcar

A obtenção dos nanocristais de celulose a partir do bagaço da cana-de-açúcar seguiu o procedimento descrito na metodologia com algumas modificações na etapa do branqueamento e da hidrólise ácida.<sup>8-9,22</sup>

As etapas de branqueamento tiveram por finalidade remover a lignina e a hemicelulose, a fim de isolar as fibras de celulose utilizadas posteriormente para a obtenção de nanocristais.

Na primeira etapa as fibras do bagaço de cana-de-açúcar que apresentam coloração amarronzada, foram mantidas em solução aquosa de NaOH 5% (fibra/solução 1:40 m/v), após os 90 minutos a solução também estava com a coloração amarronzada indicando a possível separação de lignina e hemicelulose das fibras de celulose. Em seguida a dispersão foi filtrada e as fibras lavadas com água destilada até pH neutro, as fibras se apresentaram coloração levemente amarelada, enquanto a solução ficou marrom. Foram secas e guardadas para posterior utilização na segunda etapa. O rendimento foi em torno de 45% (**Figura 6**).

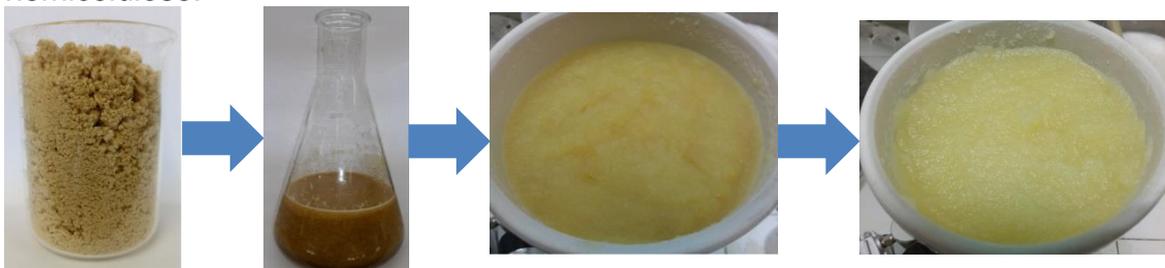
Na segunda etapa as fibras com coloração levemente amareladas, indicando, possivelmente, a presença de lignina e hemicelulose ainda misturadas a celulose, obtidas do tratamento acima foram mantidas em uma solução aquosa de NaOH 5% e 11% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1:20 m/v). Ao final do processo a dispersão foi filtrada e as fibras apresentaram uma coloração esbranquiçada, indicando uma retirada da lignina e hemicelulose residual da primeira etapa, enquanto a solução ficou de uma cor ligeiramente amarelada. As fibras foram lavadas com água destilada até pH neutro e secas, onde se obteve um rendimento em torno de 84% (**Figura 7**).

Na terceira etapa, depois de passar pelos dois tratamentos acima, as fibras esbranquiçadas foram mantidas em solução aquosa de Na(ClO) 5,0%, NaOH 5% e CaCl<sub>2</sub> 2,5% (m/v) afim de garantir que toda a lignina e hemicelulose sejam retiradas e se obtenha celulose em um grau de pureza elevado. Ao final do procedimento as fibras apresentaram coloração branca e a solução em um amarelo claro translúcido.

A dispersão foi filtrada e as fibras foram lavadas com água destilada até pH neutro, secas e guardadas para utilização na etapa da hidrólise ácida. O rendimento obtido foi em torno de 51% (**Figura 8**). Na metodologia original utiliza  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ , porém na ausência do reagente foi utilizado  $\text{Na}(\text{ClO})$ . Foi visto que a ausência do cálcio no sistema, impedia a precipitação das fibras durante a lavagem, então foi necessária a adição de  $\text{CaCl}_2$  ao sistema.

Na etapa da hidrólise ácida, ocorreram dificuldades em reproduzir a metodologia proposta, devido provavelmente à diferença da matriz celulósica utilizada. Ao final da etapa de obtenção dos nanocristais, obteve-se uma suspensão coloidal com 0,12% (m/m) de nanocristais (**Figura 9**) onde se podem observar os nanocristais dispersos em solução aquosa pela incidência de luz de um laser por efeito Tyndall, que é o efeito ótico da dispersão da luz pelas partículas coloidais.

**Figura 6.** Etapa 1: Tratamento com solução de NaOH para retirada de lignina e hemicelulose.



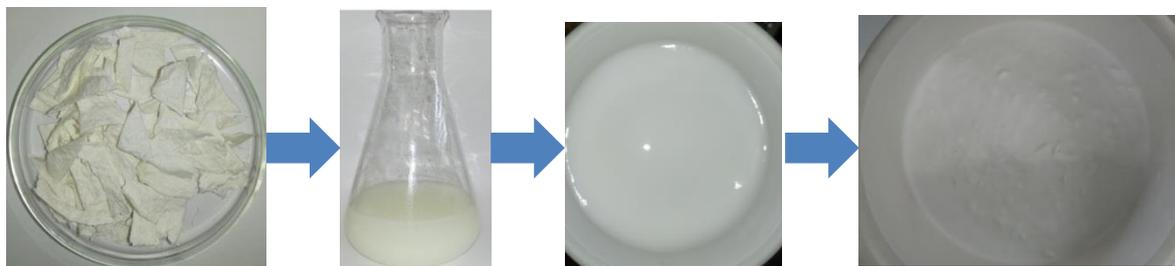
Fonte: Desenvolvido pela autora.

**Figura 7.** Etapa 2: tratamento com solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para a retirada de lignina e hemicelulose residuais.



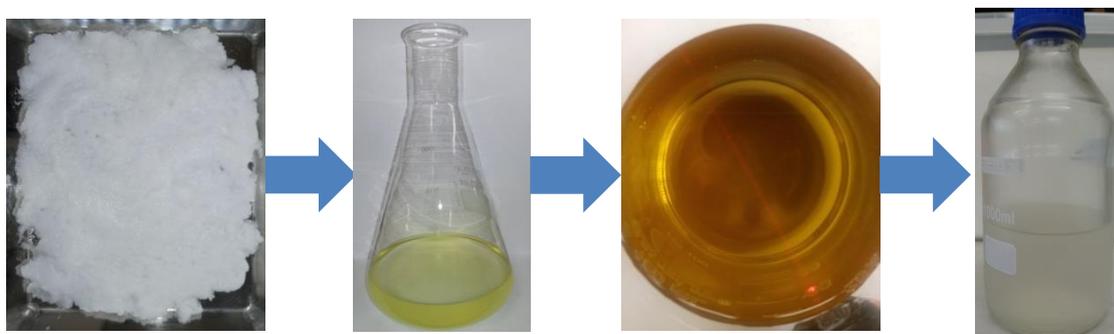
Fonte: Desenvolvido pela autora.

**Figura 8.** Etapa 3: Tratamento com solução de  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  para branqueamento final da celulose.



Fonte: Desenvolvido pela autora.

**Figura 9.** Etapa da hidrólise ácida: Tratamento com solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  para obtenção dos nanocristais de celulose.

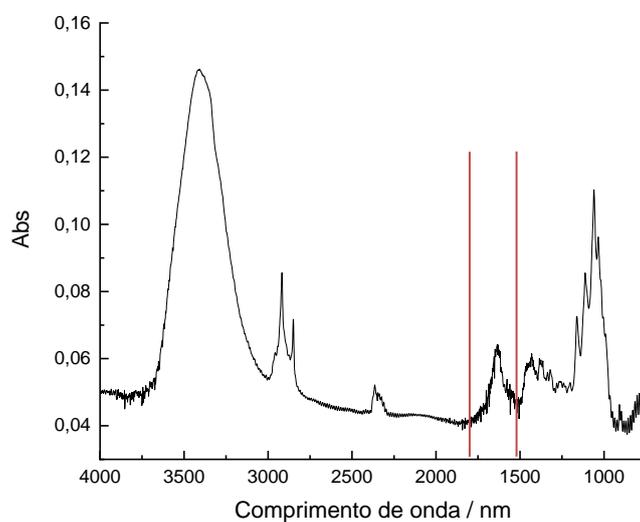


Fonte: Desenvolvido pela autora.

### ***5.1.1. Análise de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier para os nanocristais de celulose.***

A espectroscopia de FTIR foi realizada para os nanocristais de celulose, para evidenciar que o sistema não contém mais lignina. Durante o processo de obtenção dos nanocristais como mostrado anteriormente, a lignina é removida e o espectro mostra a ausência de bandas na região de  $1738\text{ cm}^{-1}$  referente aos grupos carboxilatos da estrutura da lignina e  $1511\text{ cm}^{-1}$  referente aos grupos aromáticos da estrutura da lignina. A hemicelulose também foi removida durante o processo de branqueamento, como podemos observar a ausência da banda em cerca de  $1738\text{ cm}^{-1}$  característico do alongamento  $\text{C}=\text{O}$  da vibração de grupos carboxílicos tanto da hemicelulose quanto da lignina.<sup>22-25</sup>

**Figura 10.** Espectro na região do infravermelho dos nanocristais de celulose.

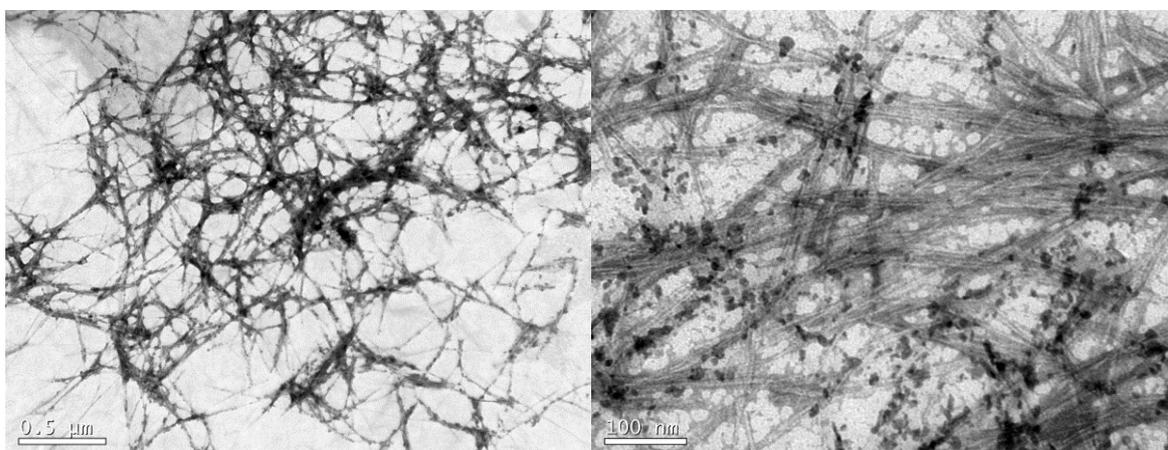


**Fonte:** Desenvolvido pela autora.

### **5.1.2. Análise de Espectroscopia Eletrônica de Transmissão**

Com base na literatura utilizada para a obtenção dos nanocristais de celulose, os mesmos possuem a forma de fibras alongadas, que se assemelham a bigodes de gato (**Figura 11**).

**Figura 11.** Micrografia dos nanocristais de celulose por microscopia eletrônica de transmissão.



**Fonte:** Desenvolvido pela autora.

### **5.1.3. Potencial Zeta e Espalhamento Dinâmico de Luz**

A análise de potencial Zeta ( $\xi$ ) foi utilizada para medir as cargas de superfície dos nanocristais de celulose, a partir de uma alíquota da suspensão aquosa dos mesmos, com uma concentração de 0,12% (m/m). O resultado obtido foi de  $-40 \pm 2,4$  mV. E valores, como o obtido, garantem que o sistema é estável e não apresenta aglomerações. Logo a suspensão obtida dos nanocristais em água é estável.<sup>8,26</sup>

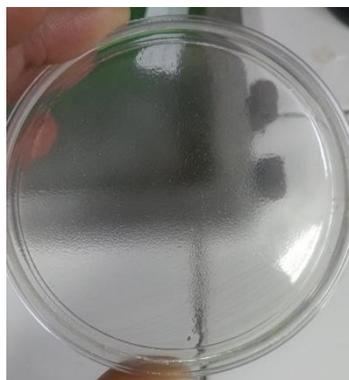
A análise de espalhamento dinâmico de luz foi realizada em triplicata, a fim de detectar o comprimento do nanocristal de celulose que foi de  $154,7 \pm 49,9$  nm.

### **5.2. Preparação das Membranas de Quitosana**

A preparação da membrana de quitosana foi feita utilizando uma solução ácido cítrico, pH em torno de 2, como solvente, ao invés de ácido acético como comumente se utiliza, pois além de possuir propriedades de conservante o ácido cítrico funciona melhor como um plastificante do que o ácido acético.<sup>27</sup>

A membrana de quitosana sem os nanocristais apresentou uma superfície de secagem regular, sem rugosidades aparentes (**Figura 12**).

**Figura 12.** Superfície de secagem para a membrana de quitosana sem nanocristais de celulose.

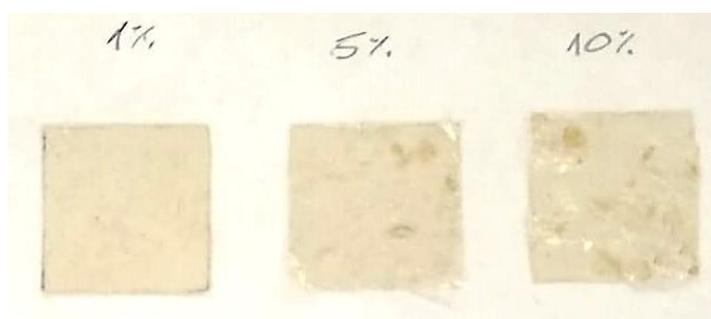


**Fonte:** Desenvolvido pela autora.

### 5.3. Incorporação dos Nanocristais de Celulose nas Membranas de Quitosana

A incorporação dos nanocristais de celulose na membrana de quitosana foi realizada nas proporções de 1%, 5% e 10%. Macroscopicamente, observa-se que as membranas apresentam regiões de acúmulo de nanocristais e evidenciam um aumento na rugosidade aparente da superfície de secagem. Esses fatos evidenciam a possível interação do nanocristais com a matriz polimérica (**Figura 13**).

**Figura 13.** Superfícies das membranas de quitosana com 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose.



Fonte: Desenvolvido pela autora.

### 5.4. Caracterização e Avaliação das Propriedades Mecânicas das Membranas

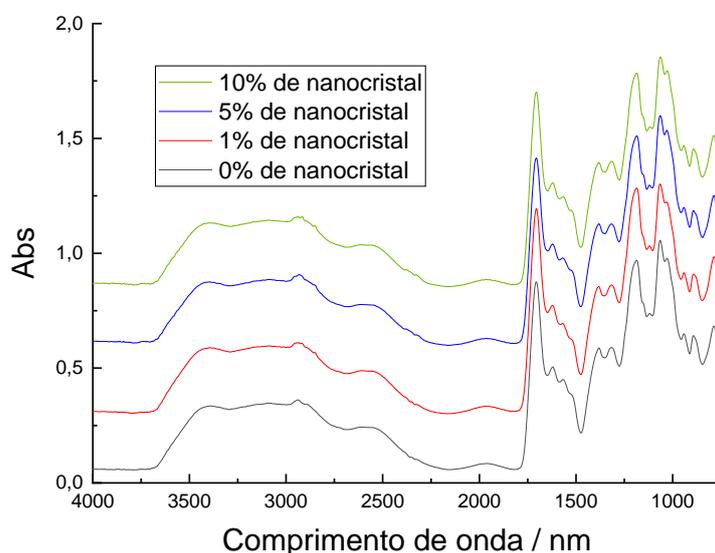
#### 5.4.1. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR foram utilizados para a caracterização estrutural dos sistemas desenvolvidos. Os espectros de FTIR exibiram bandas largas na faixa de  $3450 - 3400 \text{ cm}^{-1}$  (que são atribuídas ao alongamento OH) indicando ligações intermoleculares de hidrogênio. A vibração referente ao estiramento do grupo NH também pode se sobrepôr na mesma região do espectro. O grupo amina possui bandas de estiramento que são observadas por volta de  $1597 \text{ cm}^{-1}$  sugerindo que o polímero está protonado. Em  $1615 \text{ cm}^{-1}$  são observadas bandas intensas de estiramento do grupamento  $\text{COO}^-$  do ácido cítrico no espectro de FTIR da quitosana com 0% de nanocristal.<sup>28</sup> Estas observações sugerem que o polímero se encontra na forma de um sistema de caráter iônico. Bandas de estiramento por volta de  $1730$

$\text{cm}^{-1}$  são também detectadas indicando que muitos grupos COOH do ácido cítrico estão livres na estrutura do material formado, caracterizando que o material tem alta capacidade de formar um sistema salino.

Nas amostras contendo o nanocristal de celulose, as mesmas bandas são verificadas e não se evidencia de forma expressiva mudanças nas características já evidenciadas para a membrana sem a presença dos nanocristais. A partir dos outros resultados obtidos, e do que é observado no FTIR, sugere-se que à medida que o nanocristal é adicionado na estrutura das membranas, estas interagem via ligação de hidrogênio com os nanocristais gerando uma rede que torna o filme um material maleável e de fácil manuseio. Outra evidencia é que como grupos COOH livres do ácido cítrico estão presentes nas membranas, este também pode agir como um sistema que serve de ligação entre a quitosana e o nanocristal, via um sistema de reticulação.<sup>28</sup>

**Figura 14.** Espectro na região do infravermelho das membranas a base de quitosana com ácido cítrico com as respectivas concentrações de nanocristal.



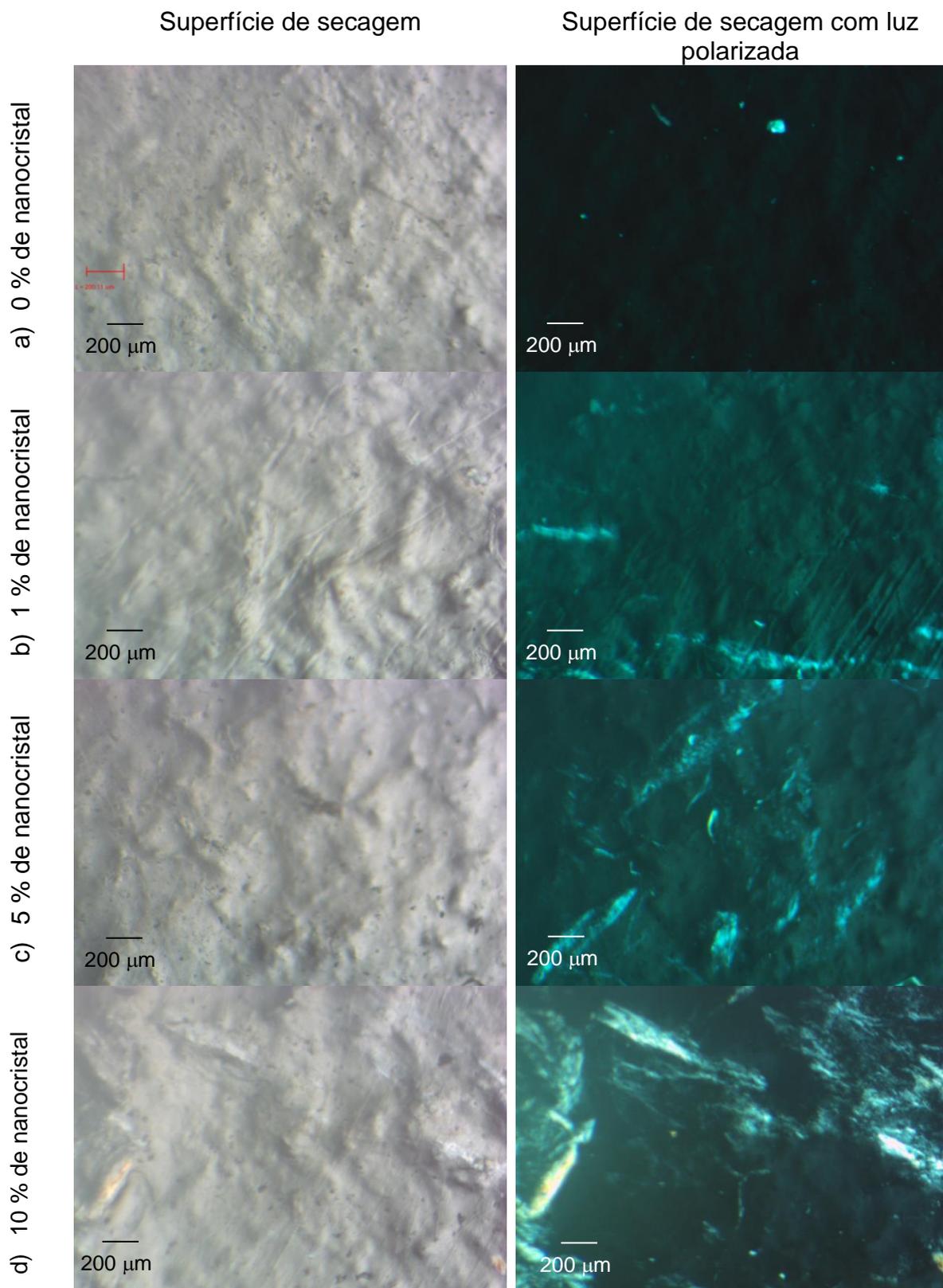
**Fonte:** Desenvolvido pela autora.

#### **5.4.2. Microscopia Ótica com Luz Polarizada (PLOM) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Nas superfícies analisadas no microscópio ótico em modo de transmissão, podemos observar nas imagens obtidas por digitalização instantânea (aumento de 20x), que ao aumentar a concentração dos nanocristais de celulose na matriz polimérica de quitosana em solução de ácido cítrico, a superfície de secagem das membranas se torna mais enrugada, sugerindo que ocorre um aumento da interação quitosana/nanocristal de celulose dentro da matriz polimérica (**Figura 15**). Observando as mesmas superfícies, utilizando o mesmo aumento de 20x, mas com o uso da luz polarizada, podemos notar que nas microscopias obtidas para a membrana sem o nanocristal (**Figura 15 a**) estão presentes regiões com pequenos pontos que indicam a presença de ácido cítrico. À medida que o nanocristal foi inserido nas membranas de quitosana, pode-se notar um aumento que indica a presença de sistemas cristalinos na membrana (da região azulada) dispersos na matriz polimérica o que pode ser um indicio da interação destas com a matriz polimérica.<sup>29</sup>

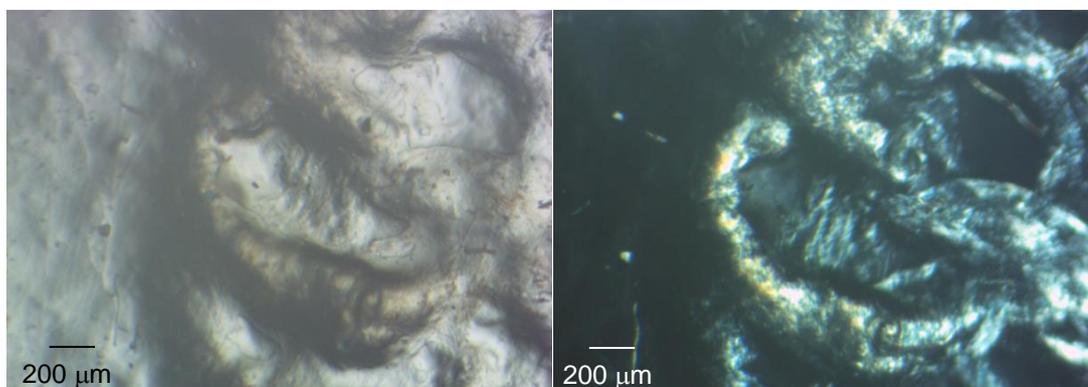
Na **Figura 16** podemos notar um grande acúmulo de nanocristais de celulose interagindo com a matriz polimérica de quitosana quando os nanocristais são inseridos na matriz na concentração de 10%. A microscopia da esquerda mostra uma superfície muito enrugada e a da direita confirma a presença dos nanocristais com a luz polarizada.

**Figura 15.** Superfícies das membranas observadas no microscópio ótico e com a luz polarizada (barra de escala: 200  $\mu\text{m}$ ).



**Fonte:** Desenvolvido pela autora.

**Figura 16.** Região de acúmulo de nanocristal de celulose na membrana de quitosana com ácido cítrico com 10% de nanocristais. Esquerda: superfície. Direita: Superfície com luz polarizada (barra de escala: 200  $\mu\text{m}$ ).



**Fonte:** Desenvolvido pela autora

As imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície de secagem e das fraturas foram obtidas a partir dos corpos de prova dos ensaios mecânicos, micrografadas em diferentes aumentos.

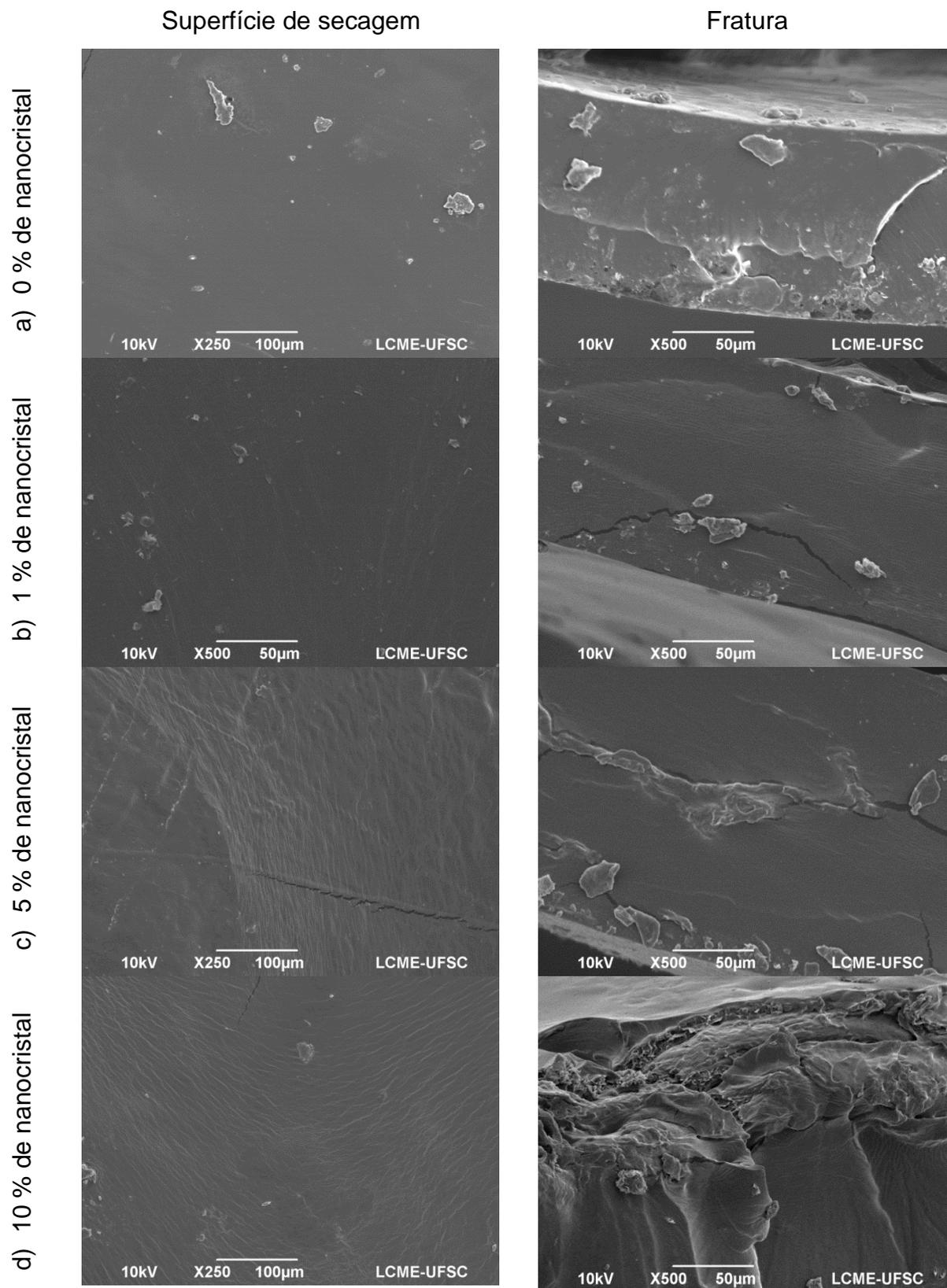
Podemos notar que a superfície da membrana com 0% de nanocristais (**Figura 17 (a)**) não apresenta nenhuma evidência de interação com a matriz polimérica de quitosana e se observam acúmulos de ácido cítrico caracterizados por pequenos cristais na superfície da membrana. Analisando a fratura obtida para este material observamos que a membrana apresenta o aspecto que sofreu uma quebra regular no momento do rompimento.

As membranas com 1%, 5% e 10% de nanocristais (**Figura 17 (b), (c) e (d)**) apresentam evidências de interação com a matriz polimérica da quitosana que vão aumentando à medida que se aumenta a concentração dos nanocristais. À medida que a concentração de nanocristais foi aumentada nestas membranas, observa-se que a superfície dos materiais apresenta enrugamento, o que sugere que a matriz polimérica interna está mais estruturada.<sup>30</sup> As fraturas (**Figura 17 (b) e (c)**) também apresentam o aspecto que sofreram uma quebra regular no momento do rompimento e há indícios da presença de regiões de acúmulo de nanocristais de celulose nestas fraturas.<sup>30</sup>

No entanto a fratura da membrana com 10% de nanocristais (**Figura 17 (d)**) apresenta um aspecto diferente no rompimento, onde a mesma se rasga de forma

irregular ao invés de quebrar. Neste sistema evidencia-se um grande acúmulo de nanocristais de celulose interagindo com a matriz polimérica de quitosana o que mostra que à medida que os nanocristais vão sendo inseridos em concentrações crescentes nas amostras, ocorre uma maior interação com a matriz de quitosana, resultando em materiais mais rígidos.<sup>31</sup>

**Figura 17.** Superfícies e fraturas obtidas dos ensaios mecânicos das membranas, observadas no microscópio eletrônico de varredura.

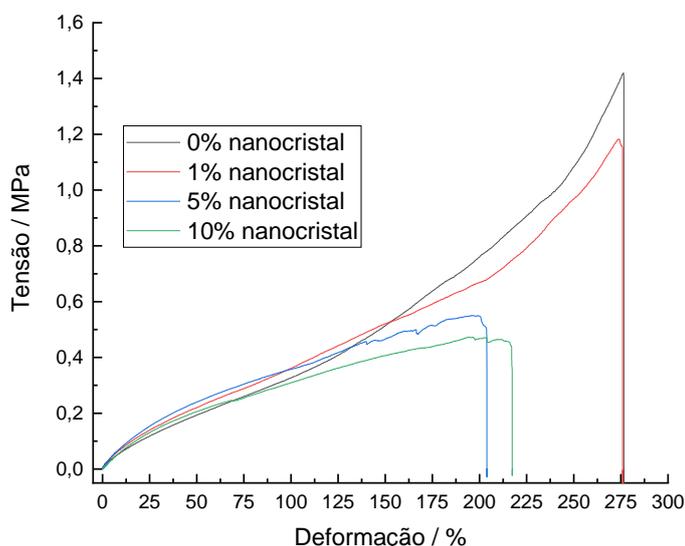


Fonte: Desenvolvido pela autora

### 5.4.3. Ensaio Tensão-Deformação das Membranas

A **Figura 18** mostram as curvas de tensão versus deformação para as membranas de quitosana em ácido cítrico contendo nanocristais de celulose. De maneira geral observa-se que à medida que a quantidade de nanocristal é inserida na matriz polimérica a base de quitosana, ocorre uma diminuição na capacidade de alongação das membranas desenvolvidas. Sugere-se que o nanocristal quando adicionado à membrana se dispersa e interage com a matriz atuando como um sistema de reforço.<sup>30-32</sup> Essa dispersão já foi evidenciada e discutida nas análises de microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura. Os dados médios referentes às análises das curvas estão apresentados na **Tabela 1**, os demais valores do estudo encontram-se no **Apêndice 1, 2, 3 e 4** para as membranas com 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose, respectivamente.

**Figura 18.** Curvas referentes ao ensaio mecânico de tensão x deformação das membranas a base de quitosana em solução de ácido cítrico com diferentes concentrações de nanocristais de celulose.



**Fonte:** Desenvolvido pela autora.

**Tabela 1.** Resultados médios obtidos dos corpos de prova (CP) no ensaio mecânico de tensão x deformação para as membranas contendo 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristal de celulose.

<b>Amostra de nanocristal</b>	<b>Tensão (MPa)</b>	<b>Deformação (%)</b>	<b>Tenacidade (J.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Módulo de Elasticidade (MPa)</b>
<b>0%</b>	1,34 ± 0,16	276,56 ± 9,20	141,04 ± 14,18	0,45 ± 0,05
<b>1%</b>	1,24 ± 0,24	272,37±10,01	135,27±14,52	0,54 ± 0,04
<b>5%</b>	0,56 ± 0,06	199,22 ± 23,05	68,64 ± 9,97	0,60 ± 0,03
<b>10%</b>	0,46 ± 0,08	207,06 ± 30,94	64,31 ± 15,80	0,57 ± 0,06

\*n= média de análise de 5 corpos de prova.

Observa-se através da tabela que com o aumento da concentração de nanocristal na matriz polimérica, a tensão usada para romper a matriz polimérica é menor, indicando uma matriz mais quebradiça. Do mesmo modo, à medida que a matriz recebeu mais carga de reforço, apresentou menores valores de alongação e maiores módulos de elasticidade.<sup>33</sup> Essa observação pode ser atribuída ao efeito do nanocristal altamente cristalino presente na matriz polimérica, que aumentou a rigidez do compósito, isto é evidenciado pela diminuição da tenacidade à medida que os nanocristais foram sendo incorporados. Além disso, o ácido cítrico pode apresentar maior interação com o nanocristal, o que limita a mobilidade da cadeia polimérica e a flexibilidade das membranas.

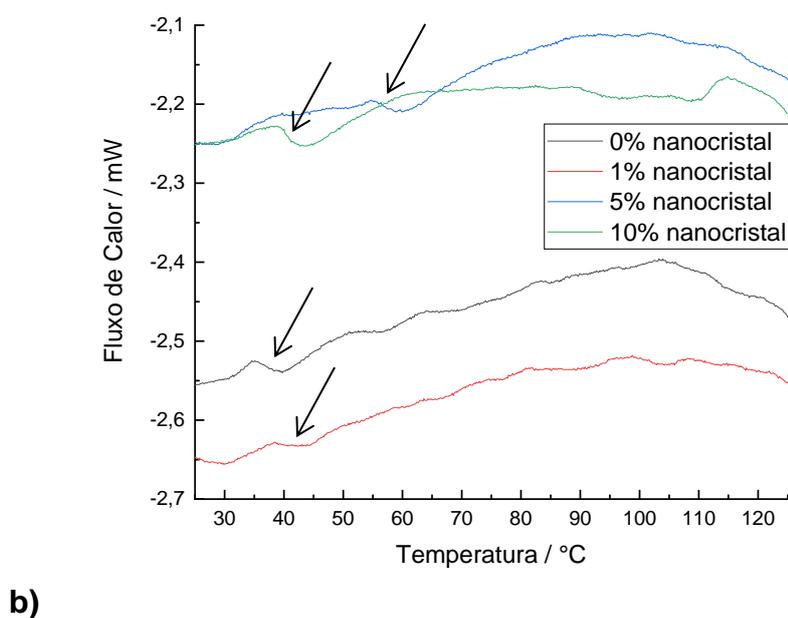
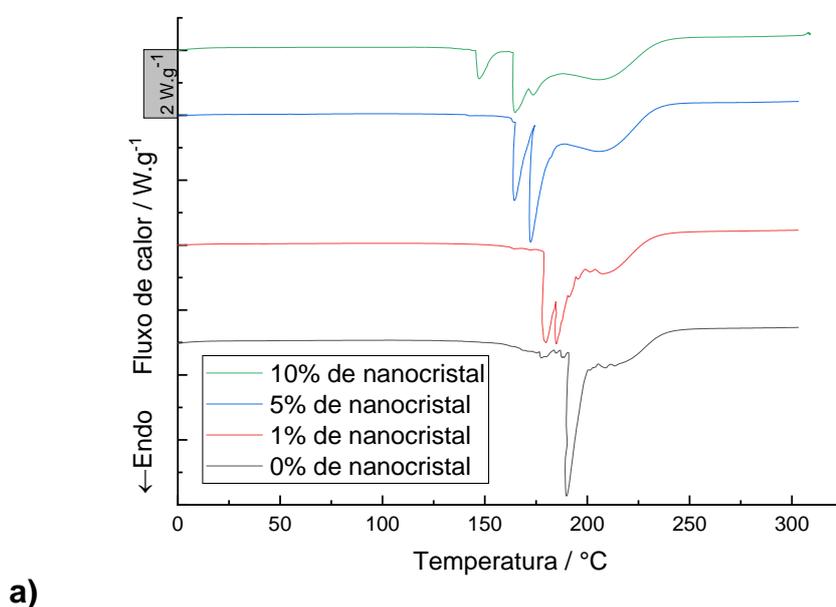
O aumento do módulo de elasticidade para as membranas que recebem os nanocristais de celulose pode ser atribuído à formação de fortes ligações intramoleculares ou intermoleculares de hidrogênio do nanocristal com quitosana, bem como o efeito de interação do ácido cítrico que restringe a mobilidade da cadeia polimérica da quitosana, consequentemente aumentou a módulo de elasticidade.<sup>34</sup>

#### **5.4.4. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)**

Na **Figura 19** são apresentados os perfis de análise de DSC para todas as membranas desenvolvidas. Observa-se numa primeira análise, que existe evento

endotérmico bem característico na faixa de 150 a 170°C, referente à fusão do ácido cítrico residual presente amostra e anteriormente caracterizado por FTIR. Este pico de fusão é alterado à medida que o nanocristal é adicionado a matriz.

**Figura 19.** Curvas de DSC para: a) as membranas de quitosana em ácido cítrico contendo 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose. b) Aumento da região de 0 a 100 °C.



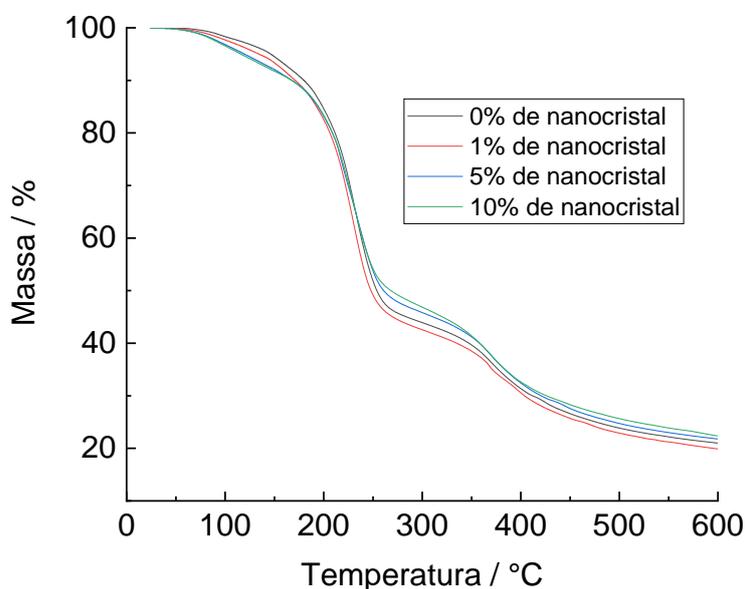
Fonte: Desenvolvido pela autora.

Ao analisarmos um aumento da região de 0 a 100 °C, observamos que se evidencia a transição vítrea do polímero quitosana quando ácido cítrico é usado. Observa-se na membrana com 0% de nanocrystal, que a transição vítrea encontra-se na faixa de 40°C.<sup>18</sup> Este resultado sugere que o ácido cítrico esteja atuando nas amostras como um plastificante localizando-se entre as cadeias poliméricas, diminuindo as ligações de hidrogênio intramoleculares presentes e facilitando a mobilidade da amostra. Observa-se ainda, que à medida que a concentração de nanocrystal foi aumentada dentro da matriz das membranas, ocorre um aumento da temperatura da transição vítrea, indicando que o nanocrystal interage com o ácido cítrico e as cadeias poliméricas, restringindo o movimento, tornando a matriz mais rígida. Esta mesma observação é detectada nas análises de ensaio mecânico.

#### **5.4.5. Análise Termogravimétrica (TGA)**

A partir da **Figura 20** podemos observar o perfil térmico de perda de massa para todas as amostras obtidas. A partir da análise observa-se que estão presentes dois estágios de degradação térmica para as membranas, sendo o primeiro próximo a 250 °C referente à evaporação de água internalizada na estrutura e degradação do ácido cítrico e o segundo por volta de 400 °C sendo a degradação da quitosana e dos nanocristais de celulose.<sup>24,35</sup> Não se observou perfis com aumentos significativos de maior ou menor estabilidade térmica a medida que as concentrações de nanocristais foram gradualmente sendo aumentadas.<sup>36</sup>

**Figura 20.** Perfis de perda de massa para as membranas de quitosana em ácido cítrico contendo 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose.



#### **5.4.6. Análise de Intumescimento e Solubilidade**

Para determinação do perfil de intumescimento das membranas, uma área de 4 cm<sup>2</sup> (2 por 2 cm) de membrana foram secos em estufa e inicialmente pesados. Em seguida as amostras foram mantidas submersas em 50 mL de água destilada a 25°C e postas sob agitação mecânica. Nos primeiros minutos, todas as amostras apresentaram um alto grau de absorção de água, favorecendo a quebra das membranas em pequenos pedaços o que impossibilitou a retirada destas do recipiente.

Após 40 minutos as amostras contendo 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose estavam todas em pequenos pedaços quase imperceptíveis. A amostra com 0% de nanocristais de celulose estava inteira, somente após 1 hora e 20 minutos que foi observada a presença dos pequenos pedaços quase imperceptíveis no recipiente. Após 2 horas de estudo todas as amostras haviam se solubilizado completamente.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os objetivos deste trabalho, foi possível obter nanocristais de celulose e sua posterior caracterização. A partir do tratamento do bagaço de cana-de-açúcar através do processo de branqueamento alcalino/oxidativo seguido da hidrólise ácida, se conseguiu uma solução aquosa estável de 0,12% (m/m) contendo os nanocristais cuja carga superficial foi de  $-40 \pm 2,4$  mV. E seu comprimento médio foi de  $154,7 \pm 49,9$  nm, com uma morfologia de fibra alongada como um bigode de gato.

Foi possível preparar as membranas poliméricas a base de quitosana utilizando solução aquosa de ácido cítrico como plastificante e incorporando diferentes concentrações de nanocristais de celulose 0%, 1%, 5% e 10%, com posterior caracterização.

A caracterização das membranas por espectroscopia de infravermelho, não mostrou nenhuma modificação significativa à medida que se aumenta a concentração de nanocristais de celulose nas membranas.

Suas superfícies de secagem das membranas foram analisadas tanto por microscopia ótica com e sem o uso da luz polarizada nos indicando que à medida que se aumenta a concentração de nanocristais na matriz polimérica, ocorre uma maior interação intermolecular quitosana/nanocristais gerando uma superfície mais rugosa. Observa-se também a presença de acúmulos de ácido cítrico. Com o uso de luz polarizada, pode se observar regiões de acúmulo de nanocristais dentro da matriz polimérica à base de quitosana que foram aumentando a medida que se incorporava mais nanocristais.

Tanto as superfícies de secagem das membranas, quanto às fraturas obtidas nos ensaios de tensão-deformação foram observadas por microscopia eletrônica de varredura. As superfícies de secagem indicaram uma maior interação intermolecular quitosana/nanocristais gerando uma superfície mais rugosa à medida que se aumentava a concentração de nanocristais, pela presença de estrias nas imagens que aumentavam à medida que se aumentava a concentração de nanocristais. As fraturas mostram um perfil de quebra para as concentrações de 0%, 1% e 5%. Já para 10% ocorre um rasgo.

No ensaio mecânico de tensão-deformação das membranas, confirmaram essas maiores interações matriz polimérica/nanocristais/ácido cítrico, pois à medida que se aumentava a concentração de nanocristais, maior era o módulo de elasticidade e menos as membranas alongavam indicando um sistema mais rígido, confirmado pela tenacidade. As membranas com 0%, 1% e 5% de nanocristais sofreram rompimento na forma de quebras regulares enquanto que a membrana com 10% de nanocristais sofreu rompimento na forma de rasgo, verificada pela menor tensão aplicada para a quebra.

Na análise de calorimetria diferencial de varredura, os valores de transição vítrea, mostram que quanto maior a concentração de nanocristais, mais estável se torna o sistema, devido a maiores interações intermoleculares da quitosana com os nanocristais.

Na análise termogravimétrica podemos observar que a estabilidade térmica do material não sofreu influencia significativa com o aumento da concentração de nanocristais de celulose.

O estudo de intumescimento não foi possível realizar devido à rápida absorção de água das membranas, impossibilitando a retirada da mesma do recipiente para medida de ganho de massa de água, sem que se rompessem. Já a solubilidade do sistema membrana a base de quitosana com solução aquosa de ácido cítrico com 0%, 1%, 5% e 10% de nanocristais de celulose se mostrou solúvel em água à temperatura ambiente.

Podemos concluir que o trabalho foi promissor e que se poderá testar esse sistema em futuras aplicações que necessitem de membranas com propriedades antifúngicas, antimicrobianas e conservantes, que se solubiliza facilmente e que é biodegradável. Como por exemplo, na aplicação de recobrimento de frutas processadas.

## 7. REFERÊNCIAS

1. SALARI, M.; KHIABANI, M. S.; MOKARRAM, R. R.; GHANBARZADEH, B.; KAFIL, H. S.. Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, 84, 414-42, 2018.
2. TANG, Y.; ZHANG, X.; ZHAO, R.; GUO, D.; ZHANG, J.. Preparation and properties of chitosan/guar gum/nanocrystalline cellulose nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, 197, 128-136, 2018.
3. YOSHIGA, A.; TOFFOLI, S. M.; WIEBECK, H.. Estudo do Composto PVC Reciclado/CaCO<sub>3</sub> em Pastas Vinílicas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 14 (3), 134-141, 2004.
4. SCHEIBE, A. S.. **Produção e Caracterização de Embalagem Biodegradável de Amido de Mandioca e Fibras Usando a Técnica de Tape-Casting**. 2012. 154 f. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, SC.
5. BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A.. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, 6.2, 127-139, 2011.
6. FIGUEIREDO, J. S. L.. **Síntese e Caracterização de Copolímeros de Polietilenoglicol Monometil Éter em Quitosana Cationizada para Futuras Aplicações em Biotecnologia**. 2014. 100 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, SP.
7. MAO, H.; WEI, C.; GONG, Y.; WANG, S.; DING, W.; Mechanical and Water-Resistant Properties of Eco-Friendly Chitosan Membrane Reinforced with Cellulose Nanocrystals. **Polymers**, 11(1), 166, 2019.
8. VESTENA, M.; GROSS, I. P.; MULLER, C. M. O.; PIRES, A. T. N.. Isolation of whiskers from natural sources and their dispersed in a non-aqueous medium. **Polímeros**, 26(4), 327-335, 2016.

9. VESTENA, M.; GROSS, I. P.; MULLER, C. M. O.; PIRES, A. T. N.. Nanocomposite of Poly(Lactic Acid)/Cellulose Nanocrystals: Effect of CNC Content on the Polymer Crystallization Kinetics. **J. Braz. Chem. Soc.**, 27 (5), 905-911, 2016.
10. ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0008\\_06\\_03\\_2013.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0008_06_03_2013.pdf); Acessado em: 22 de novembro de 2019.
11. LUO, Y.; WANG, Q.. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. **Int. J. Boil. Macromol.**, 64, 353–367, 2014.
12. ANITHA, A.; SOWMYA, S.; KUMAR, P.S.; DEEPTHI, S.; CHENNAZHI, K.; EHRLICH, H.; TSURKAN, M.; JAYAKUMAR, R.. Chitin and chitosan in selected biomedical applications. **Prog. Polym. Sci.**, 39, 1644–1667, 2014.
13. ABDELGAWAD, A.M.; HUDSON, S.M.; ROJAS, O.J.. Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems. **Carbohydr. Polym.**, 100, 166–178, 2014.
14. WANG, J.; CHEN, C.. Chitosan-based biosorbents: Modification and application for biosorption of heavy metals and radionuclides. **Bioresour. Technol.**, 160, 129–141, 2014.
15. VAKILI, M.; RAFATULLAH, M.; SALAMATINIA, B.; ABDULLAH, A.Z.; IBRAHIM, M.H.; TAN, K.B.; GHOLAMI, Z.; AMOUZGAR, P. Application of chitosan and its derivatives as adsorbents for dye removal from water and wastewater: A review. **Carbohydr. Polym.**, 113, 115–130, 2014.
16. KAVOSI, B.; SALIMI, A.; HALLAJ, R.; AMANI, K.. A highly sensitive prostate-specific antigen immunosensor based on gold nanoparticles/PAMAM dendrimer loaded on MWCNTS/chitosan/ionic liquid nanocomposite. **Biosens. Bioelectron.**, 52, 20–28, 2014.
17. HUANG, Q.; ZHANG, H.; HU, S.; LI, F.; WENG, W.; CHEN, J.; WANG, Q.; HE, Y.; ZHANG, W.; BAO, X.. A sensitive and reliable dopamine biosensor was developed based on the Au@ carbon dots–chitosan composite film. **Biosens. Bioelectron.**, 52, 277–280, 2014.

18. UNLU, D.; HILMIOGLU, N.D.. Pervaporation catalytic membrane reactor application over functional chitosan membrane. **J. Membr. Sci.**, 559, 138–147, 2018.
19. PEREIRA, V.A., JR.; DE ARRUDA, I.N.Q.; STEFANI, R.. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as time–temperature indicators for application in intelligent food packaging. **Food Hydrocoll.**, 43, 180–188, 2015.
20. CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 448, 2004.
21. ASTM D882-00, AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia: ASTM, **2001**.
22. WULANDARI, W. T.; ROCHLIADI, A.; ARCANA, I. M.. Nanocellulose prepared by acid hydrolysis of isolated cellulose from sugarcane bagasse. **Mater. Sci. Eng.**, 107, 2016.
23. MONDRAGON, G.; FERNANDES, S.; RETEGI, A.; PEÑA, C.; ALGAR, I.; ECEIZA, A.; ARBELAIZ, A.. A Common Strategy to Extracting Cellulose Nanoentities from Different Plants. **Industrial Crops and Products**, 55, 140–148, 2014.
24. MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D.. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. **Carbohydrate Polymers**, 86 (3), 1291–1299, 2011.
25. VESTENA, M.. **Nanocompósitos de Matriz Polimérica Biodegradável/Nanocristais de Celulose: Obtenção e Caracterização**. 2016. 121 f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina, SC.
26. GREENWOOD, R. Review of the measurement of zeta potentials in concentrated aqueous suspensions using electroacoustics. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 106, n. 1–3, p. 55–81, dec. 2003.

27. PARIZE, A. L. *et. al.* Microencapsulation of the natural urucum pigment with chitosan by spray drying in different solvents. **African Journal of Biotechnology**, 7 (17), 3107-3114, 2008.
28. SHI, R. *et. al.* Characterization of citric acid/glycerol co-plasticized thermoplastic starch prepared by melt blending. **Carbohydrate Polymers**, 69 (4), 748-755, 2007.
29. MAO, H; WEI, C.; GONG, Y.; WANG, S. DING, W.. Mechanical and Water-Resistant Properties of Eco-Friendly Chitosan Membrane Reinforced with Cellulose Nanocrystals. **Polymers**, 11 (1), 166, 2019.
30. RAFIEIAN, F.; SIMONSEN, J.. Fabrication and characterization of carboxylated cellulose nanocrystals reinforced glutenin nanocomposite. **Cellulose**, 21 (6), 4167-4180, 2014.
31. RUBENTHEREN, V.; WARD, T. A.; CHEE, C. Y.; NAIR, P.. Physical and chemical reinforcement of chitosan film using nanocrystalline cellulose and tannic acid. **Cellulose**, 22 (4), 2529-2541, 2015.
32. LIU, T. M.; WU, X. Z.; QIU, Y. R.; Enhanced biocompatibility and antibacterial property of polyurethane materials modified with citric acid and chitosan. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, 27 (12), 1211-1231, 2016.
33. FALAMARZPOUR, P.; BEHZAD, T.; ZAMANI, A.. Preparation of Nanocellulose Reinforced Chitosan Films, Cross-Linked by Adipic Acid. **Int. J. Mol. Sci.**, 18 (2), 396, 2017.
34. RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A.. Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, 82 (2), 270-276, 2010.
35. WANG, G. *et al.* TG study on pyrolysis of biomass and its three components under syngas. **Fuel**, 87 (4–5), 552–558, 2008.
36. ZHAO, J. *et. al.* Reinforcement of all-cellulose nanocomposite films using native cellulose nanofibrils. **Carbohydrate Polymers**, 104, 143-150, 2014.

## 8. APÊNDICES

**Apêndice 1.** Resultados obtidos dos corpos de prova (CP) no ensaio mecânico de tensão x deformação para a membrana contendo 0% de nanocristal de celulose.

<b>Amostra 0% de nanocristal</b>	<b>Tensão (MPa)</b>	<b>Deformação (%)</b>	<b>Tenacidade (J.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Módulo de Elasticidade (MPa)</b>
CP2	1,18	271,74	118,78	0,00370
CP21	1,56	285,88	156,22	0,00472
CP31	1,20	284,74	138,85	0,00456
CP41	1,42	276,60	149,55	0,00468
CP51	1,33	263,86	141,78	0,00502
<b>Média</b>	1,338	276,564	141,036	0,00454
<b>Desvio padrão</b>	0,158177116	9,196449315	14,17483439	0,000497071

**Apêndice 2.** Resultados obtidos dos corpos de prova (CP) no ensaio mecânico de tensão x deformação para a membrana contendo 1% de nanocristais de celulose.

<b>Amostra 1% de nanocristal</b>	<b>Tensão (MPa)</b>	<b>Deformação (%)</b>	<b>Tenacidade (J.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Módulo de Elasticidade (MPa)</b>
CP2	0,91	267,98	116,85	0,00483
CP3	1,18	274,26	140,78	0,00551
CP4	1,32	289,02	155,04	0,00584
CP7	1,21	264,64	137,29	0,00564
CP11	1,56	265,96	126,4	0,00498
<b>Média</b>	1,236	272,372	135,272	0,00536
<b>Desvio padrão</b>	0,235648043	10,01133957	14,5195272	0,000434914

**Apêndice 3.** Resultados obtidos dos corpos de prova (CP) no ensaio mecânico de tensão x deformação para a membrana contendo 5% de nanocristais de celulose.

<b>Amostra 5% de nanocristal</b>	<b>Tensão (MPa)</b>	<b>Deformação (%)</b>	<b>Tenacidade (J.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Módulo de Elasticidade</b>
CP2	0,58	221,72	76,58	0,00555
CP3	0,64	206,6	77,17	0,00582
CP4	0,54	160,46	52,87	0,00623
CP8	0,48	207,06	65,74	0,00589
CP9	0,55	200,24	70,86	0,00636
<b>Média</b>	0,558	199,216	68,644	0,00597
<b>Desvio padrão</b>	0,058480766	23,05188669	9,972909806	0,00032596

**Apêndice 4.** Resultados obtidos dos corpos de prova (CP) no ensaio mecânico de tensão x deformação para a membrana contendo 10% de nanocristais de celulose.

<b>Amostra 10% de nanocristal</b>	<b>Tensão (MPa)</b>	<b>Deformação (%)</b>	<b>Tenacidade (J.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Módulo Secante</b>
CP1	0,58	233,56	<b>88,51</b>	<b>0,00655</b>
CP4	0,38	229,68	<b>63,67</b>	<b>0,00510</b>
CP5	0,41	157,45	<b>45,64</b>	<b>0,00592</b>
CP7	0,47	198,51	<b>56,74</b>	<b>0,00529</b>
CP9	0,45	216,14	<b>67,01</b>	<b>0,00559</b>
<b>Média</b>	0,458	207,068	64,314	0,00569
<b>Desvio padrão</b>	0,076615925	30,94598148	15,80516783	0,000572407