

INFLUÊNCIA DA FONTE CELULÓSICA E DA ENERGIA SONORA NAS CARACTERÍSTICAS GEOMÉTRICAS DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE

V. C. SOUZA¹ e M. G. N. QUADRI²

^{1,2} Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos

E-mail para contato: vanderleilei@bol.com.br

RESUMO – Nanocristais de celulose (NC) têm sido estudados devido à sua natureza biodegradável, baixa densidade, elevadas propriedades mecânicas e renovabilidade. As características geométricas dos NC estão relacionadas às suas performances e aplicações. Diante disso, este trabalho teve como objetivo observar a influência da fonte celulósica e da energia sonora na forma e tamanho dos NC. Os nanocristais foram obtidos a partir da hidrólise ácida de celulose extraída de sabugo de milho e algodão, acompanhada por ultrasonicação. Os nanocristais apresentaram diferentes formas geométricas a partir das fontes utilizadas. Agregados sólidos em suspensão foram rompidos após 7 min. de sonicação em um controle de saída de 60%. Diferentes tempos de sonicação não influenciaram nas características geométricas dos NC. No entanto, tiveram efeito significativo sobre a cristalinidade.

1. INTRODUÇÃO

A celulose é o polímero natural mais abundante da crosta terrestre, sendo considerado uma fonte quase inesgotável de matéria-prima para a crescente demanda por produtos ecológicos e biocompatíveis (Balat *et al.*, 2008). As cadeias moleculares da celulose são biossintetizadas e auto-organizadas em microfibrilas, as quais contêm domínios desordenados e ordenados, que podem ser considerados como regiões amorfas e cristalinas, respectivamente (Rowland e Roberts, 1972). Os domínios cristalinos isolados das fibras celulósicas são conhecidos como nanocristais de celulose (NC). Esses cristais simples, de tamanho nanométrico, apresentam propriedades mecânicas (módulo de Young e resistência a tração) comparáveis a de materiais como o aço e ao Kevlar (Bencomo-Cisneros *et al.*, 2012; O'Sullivan, 1997). Estas propriedades fazem com que os NC sejam candidatos ideais para muitas aplicações, inclusive como agentes de reforço para materiais nanocompósitos.

A hidrólise com ácido sulfúrico é o principal método empregado na extração de nanocristais a partir da fibra de celulose. Durante essa extração as regiões amorfas das microfibrilas de celulose são, sob certas condições, hidrolisadas seletivamente por serem mais suscetíveis ao ataque do que os domínios cristalinos. Consequentemente essas microfibrilas se quebram em partes cristalinas menores, os referidos nanocristais, NC, que também são chamados celulose nanocristalina e whiskers

de celulose (Habibi *et al.*, 2010). Muitos pesquisadores aplicam a sonicação após a hidrólise ácida de celulose para produzir nanocristais dispersos (Candanedo *et al.*, 2005; Samir *et al.*, 2005). Uma abordagem semelhante é adotada neste estudo. Sonicação é a aplicação de energia sonora para sistemas físicos e químicos. No caso de líquidos, a sonicação produz bolhas que crescem e implodem em pontos de acesso que causam cavitações acústica (Suslick *et al.*, 1991).

A principal fonte de celulose é a madeira. Devido às preocupações com desmatamento tem havido um grande interesse em fontes alternativas para obtenção de celulose. Lignoceluloses, que incluem a biomassa vegetal, resíduos florestais e resíduos agrícolas, são matérias-primas potenciais para a produção de celulose (Maheswari *et al.*, 2012). Alguns pesquisadores (Edwards *et al.*, 2014) extraíram NC a partir das fibras celulósicas do algodão. Essas fibras, em geral, não precisam ser submetidas a pré-tratamentos para remoção de lignina e hemicelulose antes da etapa de hidrólise ácida para isolamento dos nanocristais (Liu *et al.*, 2012). No que diz respeito à agricultura, uma fonte de biomassa importante é o milho. Aproximadamente, 18 kg do sabugo de milho são produzidos para cada 100 kg de grãos de milho. Grandes quantidades do sabugo são descartadas, com pequenas quantidades vendidas a preços muito baixos para a alimentação de animais (Pinto *et al.*, 2012). Como outros materiais lignocelulósicos, o sabugo pode ser fracionado usando uma sequência de tratamentos químicos que permitam a separação da celulose, hemicelulose e lignina em correntes separadas (Rivas *et al.*, 2002). Com esta abordagem, a celulose como a principal fração proveniente do processo, pode ser utilizada para diferentes aplicações do produto, como é o caso dos NC.

As características geométricas, propriedades e desempenho dos NC dependem principalmente da fonte celulósica e das condições de processo (Peng *et al.*, 2011). Este trabalho teve como objetivo preparar, caracterizar e observar a influência da fonte celulósica e da energia sonora na forma e tamanho dos NC de duas fontes: sabugo de milho e algodão.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Materiais

Os sabugos de milho (*Zea mays* L.) foram fornecidos pela Empresa de Pesquisa Agrícola e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri, Santa Catarina, Brasil). A fonte de celulose de algodão utilizado nos experimentos foi obtido a partir das fibras de celulose branqueada em papel filtro n° 2 (J. Prolab, Paraná, Brasil), o qual foi cortado em pedaços de 5 mm x 5 mm. Ácido sulfúrico (95.0-98.0%, Synth) e NaOH (Lafan), H₂O₂ (Vetec) foram utilizados.

2.2. Preparação dos NC a partir dos diferentes recursos

Primeiramente, a celulose foi isolada do sabugo de milho através de tratamentos com solução alcalina (NaOH 1M) e branqueamento (H₂O₂ 5%) (Elanthikkal *et al.*, 2010). Esses tratamentos garantem a remoção parcial ou total dos componentes de cimentação (pectina, hemicelulose, compostos fenólicos e moléculas cromóforas presentes na lignina). Depois disso, as reações de hidrólise da celulose de sabugo, assim como do algodão, foram realizadas de acordo com Candanedo

et al. (2005), com solução concentrada de ácido sulfúrico a 64% (m/m) e 45 °C, sob agitação constante durante 60 minutos, usando uma relação fibra de celulose:solução (1 g: 8,75 mL), cuja reação foi interrompida por diluição de 10 vezes com adição de água fria (4°C). A suspensão foi lavada por centrifugação a 10.000 rpm durante 10 min e em seguida, dialisada com água da torneira até um pH neutro.

Sonicação: Após a etapa de diálise, as suspensões foram submetidas a tratamento com o uso de energia sonora. Esta etapa foi realizada por uma sonda ultrassônica (Unique, modelo DES500, São Paulo, Brasil), por 2 e 7 min a 60% da potência total. Finalmente, os NC foram armazenados em um refrigerador a uma temperatura de 4 °C. Gotas de clorofórmio, foram adicionadas às suspensões para proteger as amostras contra o crescimento microbiano. As suspensões de nanocristais de sabugo e do algodão foram nomeadas de NCSM-2 e NCSM-7 e NCAI-2 e NCAI-7, respectivamente, onde 2 e 7 correspondem ao tempo de sonicação.

2.3. Caracterização.

Composição química:

O teor de celulose foi determinado de acordo com a abordagem Kurschner-Hoffner, que consiste no tratamento de 5 g de amostras livres de extrativos com 125 ml de uma solução alcóolica de ácido nítrico. A solução alcóolica consiste na mistura de um volume de solução de ácido nítrico 65% (w/w), e quatro volumes de etanol a 96% de pureza (Browning, 1967). Ao término do tratamento, a celulose foi lavada, seca e pesada. Os teores de lignina Klason e hemicelulose foram determinados de acordo com o método padrão T249 (TAPPI, 1999).

Anisotropia óptica

Uma alíquota de NC foi colocado em um tubo de vidro, o sistema foi observado através de um conjunto de dois filtros de polarização cruzada e em seguida fotografado (câmera digital Nikon D300s).

Morfologia

Gotas de suspensões NC foram colocadas em grades MET revestidas de carbono. As amostras foram contrastadas negativamente com 2% de acetato de uranila durante um período de 10 minutos e lavadas três vezes antes de completar a secagem. As amostras foram observadas através de um microscópio eletrônico de transmissão (modelo JEM-2100, TEM, do Japão) operando a 80 kV.

Análise de tamanho: os diâmetros dos nanocristais foram determinadas por um programa de análise de imagem (UTHSCSA Image Tool). Um mínimo de 50 medições foi usado para determinar as dimensões.

Estudo de DRX: A cristalinidade foi estudada através de um difratômetro de raios-X (Panalytical, modelo Xpert Pro MPD, Brasil), equipado com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) na faixa de 2θ 10-50°. A voltagem de operação foi de 45 kV com corrente igual a 40 mA. O índice de

cristalinidade foi calculado a partir das alturas do pico de 200 (I_{002} , $2\theta = 22,6^\circ$) e a intensidade mínima variou entre os picos de 200 e 110 (I_{am} , $2\theta = 18^\circ$), usando o método de Segal *et al.* (1959).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a evolução macroscópica do sabugo e do algodão antes e após os tratamentos.

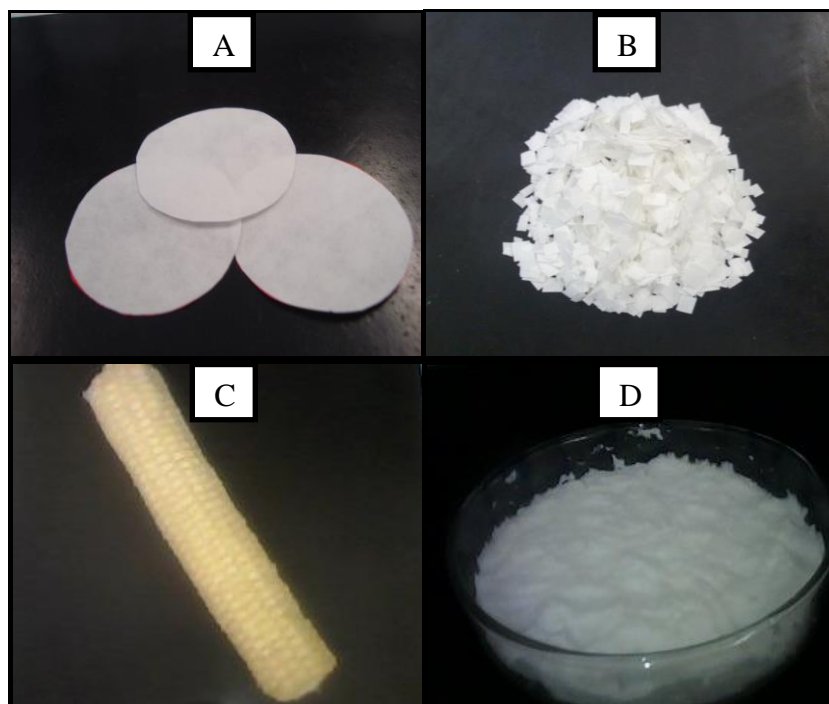


Figura 1 – (A) papel filtro (fibras de algodão branqueadas); (B) papel filtro após a etapa de corte; (C) sabugo de milho; (D) fibras de celulose extraídas do sabugo

A cor das fibras do sabugo foi alterada de ocre claro (Figura 1C) para branco (Figura 1D) após os tratamentos de purificação. Esta mudança de cor indica que uma grande parte dos componentes não celulósicos foram removidos. Isto está de acordo com os resultados de composição química, onde o teor de celulose, hemicelulose e lignina para o sabugo foram de $90,00 \pm 4,10\%$, $4,00 \pm 0,50$ e $1,40 \pm 0,20\%$. O algodão apresentou um teor de celulose de cerca de $97,80 \pm 2,00\%$ e lignina $0,30 \pm 0,06$.

A Figura 2 mostra o fluxo de anisotropia para as suspensões de nanocristais do sabugo de milho e do algodão.

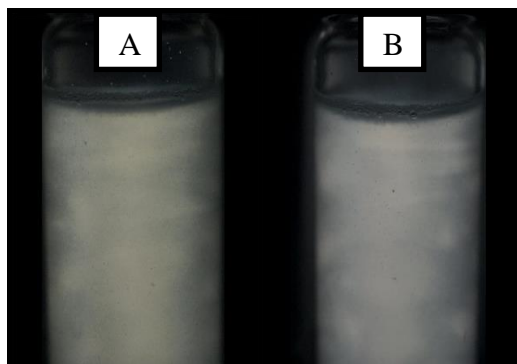


Figura 2 – Fluxo de birrefringência das suspensões aquosas de: (A) NCAI-7 e (B) NCSM-7.

A anisotropia óptica (também chamada de birrefringência) é considerada por alguns autores como um bom critério para avaliação da dispersão em suspensão dos nanocristais (Cranston e Gray, 2008). Sob polarizadores cruzados, ambas as suspensões de NC exibiram fluxo de anisotropia, apresentando um certo contraste e brilho (Marchessault *et al.*, 1959), o que indica nanocristais bem dispersos e individualizados em água após o tratamento com energia sonora.

A Figura 3 compara as micrografias MET (Figuras 3A, 3B, 3C e 3D) dos nanocristais obtidos após os diferentes tempos de tratamento por meio de energia sonora. Análises de tamanho e cristalinidade também foram realizadas, os resultados são mostrados na Tabela 1.

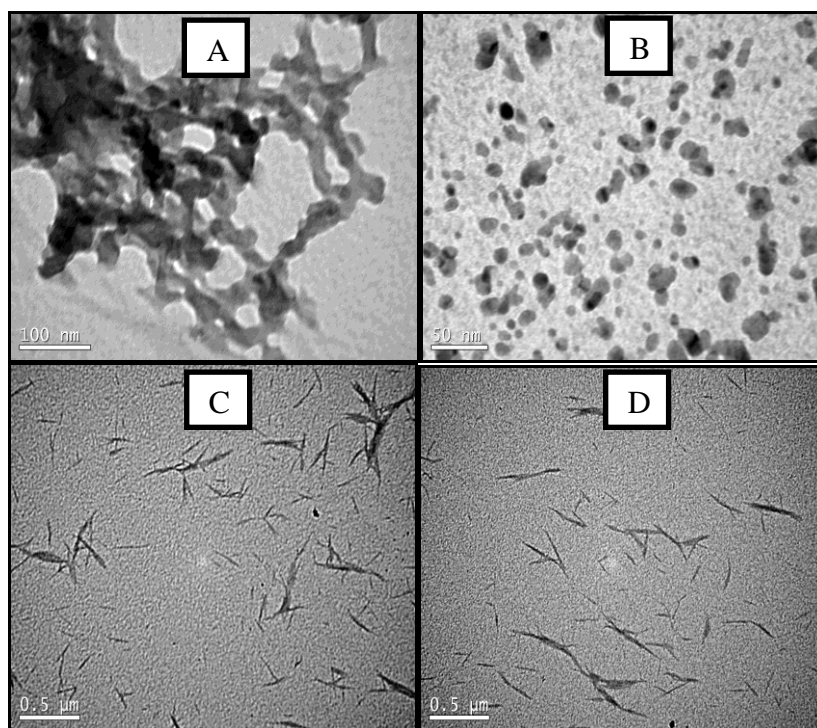


Figura 3 – Imagens MET dos NCSM-2 (A); NCSM-7 (B); NCAI-2 (C) e NCAI-7 (D).

A partir da análise morfológica, por MET, é possível observar que os NCAI apresentaram a forma de agulha. No entanto, os NCSM apresentaram uma forma próxima à de uma esfera como relatado na bibliografia (Lu *et al.*, 2013). Os NCSM-2 e NCAI-2 apresentam uma grande quantidade de agregados, indicando que a sonicação durante 2 minutos não foi suficiente para romper os agregados sólidos pelo uso da energia sonora. Por outro lado observou-se um aumento na dispersão dos NC nas suspensões quando o tempo de sonicação aumentou de 2 para 7 min. Isto pode ser devido ao efeito da cavitação acústica de alta frequência (20-25 kHz) de ultrassom na formação, expansão e implosão de microbolhas na suspensão aquosa. O colapso violento induz ondas de choque sobre as superfícies da celulose cristalina podendo causar uma separação no sentido axial. O impacto da energia sonora pode quebrar as interfaces relativamente fracas entre os nanocristais, que estão ligados uns aos outros, principalmente por ligações de hidrogénio. Assim, o tratamento com energia sonora pode gradualmente dispersar e desintegrar os nanocristais (Tischer *et al.*, 2010; Wang e Cheng, 2009). Além disso, observações MET (Figuras 3C e 3D) mostram que os comprimentos dos NCAI (Figuras 3C e 3D) foram próximos à escala micrométrica, sendo que o diâmetro médio foi de 11.0 nm (Tabela 1). De acordo com Habibi *et al.* (2007), NC são aquelas nanopartículas que apresentam pelo menos uma das suas dimensões menor que 100 nm. Os diferentes tempos de sonicação não tiveram efeito significativo sobre os diâmetros dos NCAI (Tabela 1). Já em relação aos NCSM-2 foi difícil quantificar os diâmetros devido à grande quantidade de agregados. A cristalinidade de cada NCAI foi de 89% (Tabela 1), o que indica que o tratamento de ultrassom não teve efeito significativo sobre as regiões cristalinas desses nanocristais. Em relação aos NCSM, a cristalinidade teve um pequeno aumento com o tempo de sonicação, o que pode ser devido à remoção de pequenas quantidades de lignina que ainda persistiram nas regiões amorfas após a hidrólise ácida.

Tabela 1 – Informações coletadas dos NCSM e NCAI.

	Cristalinidade (%)	Diâmetro médio (nm)
NCAI-2	89,0%	11,0±1,3 ^a
NCAI-7	89,0%	11,2±2,0 ^b
NCSM-2	77,0%	-
NCSM-7	78,0%	16,0±1,0 ^c

4. CONCLUSÃO

Nanocristais de celulose obtidos do sabugo de milho e do algodão apresentaram diferentes formas geométricas. Presume-se que a diferença na morfologia dos nanocristais é devido à fonte celulósica, não havendo influência do processo sobre a mesma. A energia sonora durante os diferentes tempos (2 e 7 min.) de sonicação não influenciou as características geométricas dos NC. No entanto, afetaram a cristalinidade dos NCSM.

5. REFERÊNCIAS

BALAT, M., BALAT, H., ÖZ, C. Progress in bioethanol processing. Prog. Energy Combust. Sci., v. 34, p. 551–573, 2008.

BENCOMO-CISNEROS, J. A., TEJEDA-OCHOA, A., GARCÍA-ESTRADA, J. A., HERRERA-RAMÍREZ, C. A., HURTADO-MACÍAS, A., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, R., HERRERA-RAMÍREZ, J. M. Characterization of Kevlar-29 fibers by tensile tests and nanoindentation. *J. Alloy. Compd.*, v. 536, p. S456-S459, 2012.

BROWNING, B. L. *Methods of Wood Chemistry*. New York: Interscience/Wiley, 1967.

CANDANEDO, B., S., ROMAN, M., GRAY, D. G. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 1048-1054, 2005.

CRANSTON, E. D., GRAY, D. G. Birefringence in spin-coated films containing cellulose nanocrystals. *Colloids Surf., A*, v. 325, p. 44-51, (2008).

EDWARDS, J. V., PREVOST, N. T., FRENCH, A. D., CONCHA, M., CONDON, B. D. Kinetic and Structural Analysis of Fluorescent Peptides on Cotton Cellulose Nanocrystals as Elastase Sensors. *Carbohydr. Polym.*, 2014. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.carbpol.2014.04.067>.

ELANTHIKKAL, S., VARGHESE, S., GUTHIRE, J. T. Cellulose microfibers produced from banana plant wastes: Isolation and characterization, *Carbohydr. Polym.*, v. 80, p. 852-859, 2010.

HABIBI, Y., FOULON, L., AGUIÉ-BÉGHIN, V., MOLINARI, M., DOUILLARD, R. Langmuir-Blodgett films of cellulose nanocrystals: Preparation and characterization. *J. Colloid Interface Sci.*, v. 316, p. 388-397, 2007.

LIU, K., SUN, J., YAO, L., YUAN, Y. Transcriptome analysis reveals critical genes and key pathways for early cotton fiber elongation in Ligon lintless-1 mutant. *Genomics*, v. 100, p. 42-50, 2012

LU, H., GUI, Y., ZHENG, L., LIU, X. Morphological, crystalline, thermal and physicochemical properties of cellulose nanocrystals obtained from sweet potato residue. *Food Res. Int.*, v. 50, p. 121-128, 2013.

Marchessault, R. H., Morehead, F. F., Walter, N.M. Liquid crystal systems from fibrillar polysaccharides. *Nature*, v. 184, p. 632-633, 1959.

MAHESWARI, C. U., REDDY, K. O., MUZENDA, E., GUDURI, B. R., RAJULU, A. V. Extraction and characterization of cellulose microfibrils from agricultural residue e *Cocos nucifera* L. *Biomass and bioenergy*, v. 46, p. 555-563, 2012.

O'SULLIVAN, A. C. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, v. 4, p. 173-207, 1997.

PENG, B. L., DHAR, N., LIU, H. L., & TAM, K. C. Chemistry and Applications of Nanocrystalline Cellulose and its Derivatives: a Nanotechnology Perspective. *Can. J. Chem. Eng.*, v. 89, p. 1191-1206, 2011.

PINTO, J., CRUZ, D., PAIVA, A., PEREIRA, S., TAVARES, P., FERNANDES, L., VARUM, H. Characterization of corn cobs as possible raw building material. *Constr. Build. Mater.*, v. 34, p. 28-33, 2012.

RIVAS, B., DOMINGUEZ, J. M., DOMINGUEZ, H., PARAJÓ, J. C. Bioconversion of posthydrolysed autohydrolysis liquors: an alternative for xylitol production from corn cobs. *Enzyme Microb. Technol.*, v. 31, p. 431-438, 2002.

ROWLAND, S. P., & ROBERTS, E. J. The nature of accessible surfaces in the microstructure of cotton cellulose. *J. Polym. Sci: Part A-1*, v. 10, p. 2447-2461, 1972.

SAMIR, A. M. A. S., ALLOIN, F., & DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules*, v. 6, p. 612-626, 2005.

SEGAL, L., CREELY, L., MARTIN, A. E., & CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of Crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. *Text. Res. J.*, v. 29, p. 786-794, 1959.

SUSLICK, K.S., CHOE, S.-B., CICHOWLAS, A. A., GRINSTAFF, M.W. Sono-chemical synthesis of amorphous iron. *Nature*, v. 353, p. 414-416, 1991.

TAPPI(T 249 cm-85). Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Atlanta, 1999.

TISCHER, P. C. S. F., SIERAKOWSKI, M. R., WESTFAHL, H., TISCHER, C. A. Nanostructural reorganization of bacterial cellulose by ultrasonic treatment. *Biomacromolecules*, v. 11, p. 1217-1224, 2010.

WANG, S., CHENG, Q. A novel process to isolate fibrils from cellulose fibers by high-intensity ultrasonication. Part 1: Process optimization. *Journal of Applied Polym. Sci.*, v. 113, p. 1270-1275, 2009.