

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS BASEADOS  
EM PECTINA E NANOFIBRAS DE CELULOSE FUNCIONALIZADAS**

**Giuliana Thalina Franco\***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRA EM QUÍMICA, área de concentração: FÍSICO-QUÍMICA.

**Orientador: Luiz Henrique Capparelli Mattoso**

**\*bolsista Capes**

**São Carlos - SP  
2019**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química

---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Giuliana Thalina Franco, realizada em 26/08/2019:

---

Prof. Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
EMBRAPA

---

Prof. Dr. Hernane da Silva Barud  
UNIARA

---

Profa. Dra. Lúcia Helena Mascaro Sales  
UFSCar

*“O lucro do nosso estudo é tornarmo-nos melhores e mais sábios”*

*Michel de Montaigne*

## Agradecimentos

- ✓ Agradeço primeiramente à Deus por permitir que eu tivesse a oportunidade de cursar uma graduação, e agora, uma pós-graduação;
- ✓ Aos meus pais, Maria José e Luiz Carlos, pelo apoio incondicional nesta caminhada;
- ✓ À minha irmã, Lulliana, pela companhia, pelo apoio e pela ajuda emocional;
- ✓ Ao meu namorado Vinicius, pelos puxões de orelha, pelos conselhos e por nunca me deixar desistir;
- ✓ Aos meus familiares que, de certa forma, sempre me motivaram a crescer;
- ✓ Ao Dr. Luiz Henrique Mattoso, não apenas pela orientação, mas por toda colaboração pessoal e profissional;
- ✓ Ao Dr. Caio Otoni pela colaboração no desenvolvimento desta pesquisa e, principalmente, pela paciência que teve comigo durante estes dois anos;
- ✓ Aos amigos da Embrapa Instrumentação pelas risadas, pelos desabafos e pela ajuda que nunca se negaram a dar, dentre eles a Rafa Paschoalin, Vanessa Scagion, Rodrigo de Mello, Jhony Silva, Marcos Lorevice, Stanley Bilato, entre muitos outros;
- ✓ À minha fiel companheira de quatro patas, Debinha, pela companhia durante as madrugadas de trabalho;
- ✓ Às técnicas, abençoadas, que sempre nos salvam: Adriana, Silviane, Viviane, Alice e Joana;
- ✓ A todos funcionários, da chefia ao pessoal da limpeza, que propiciaram um ambiente adequado para a realização de nossos trabalhos;
- ✓ À Embrapa instrumentação pela infraestrutura;
- ✓ À UFSCar, em especial, ao Departamento de Química pelo espaço acadêmico;
- ✓ À secretaria do PPGQ pelo direcionamento e manejo da parte burocrática do trabalho;
- ✓ À Capes pela concessão da bolsa de mestrado;
- ✓ O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

## Lista de abreviaturas

- AGM- Alto grau de metoxilação
- ATR- Módulo de atenuação por diamante
- BGM- Baixo grau de metoxilação
- CIM- Concentração inibitória mínima
- CTT- Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
- DLS- Espalhamento dinâmico de luz
- DMA- Análise dinâmico-mecânica
- DRX- Difração de raios-X
- DTG- Termogravimetria diferencial
- E- Módulo de elasticidade
- FT-IR- Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
- GS- Grau de substituição
- GTMAC- Cloreto de glicidiltrimetilamônio
- IC- Índice de cristalinidade
- IPd- Coeficiente de polidispersividade
- MEV- Microscopia eletrônica de varredura
- MH- Meio de cultura Müller-Hinton
- NFC- Nanofibras de celulose
- NFC<sub>cat1:2</sub>- Nanofibras de celulose cationizadas na proporção 1:2
- NFC<sub>cat1:5</sub>- Nanofibras de celulose cationizadas na proporção 1:5
- NFC<sub>cat1:10</sub>- Nanofibras de celulose cationizadas na proporção 1:10
- NFC<sub>oxi</sub>- Nanofibras de celulose oxidadas
- PEC- Pectina
- PEC-NFC (1)- Filmes nanocompósitos produzidos pela Metodologia 1
- PEC-NFC (2)- Filmes nanocompósitos produzidos pela Metodologia 2
- PEC-NFC (3)- Filmes nanocompósitos produzidos pela Metodologia 3
- TEMPO- Radical 2,2,6,6- tetrametilpiperidina-N-oxil
- TG- Termogravimetria
- UR- Umidade relativa
- $\epsilon_{rup}$ -Elongação na ruptura
- $\sigma_{máx}$ - Resistência à tração

## Lista de Tabelas

TABELA 3.1. Proporções de reagentes utilizados na cationização das microfibras de celulose.	21
TABELA 3.2- Formulações dos nanocompósitos de pectina e nanofibras de celulose (Filmes PEC-NFC (1) e PEC-NFC (2)).	23
TABELA 3.3. Formulações dos nanocompósitos de pectina e nanofibras de celulose (Filmes PEC-NFC (3)).	24
TABELA 3.4- Valores da quantidade de nitrogênio presente nas amostras de nanofibras de celulose.	27
TABELA 4.1- Potencial Zeta das nanofibras de celulose em meio aquoso e pH 7.	48
TABELA 4.2- Tamanhos hidrodinâmicos das nanofibras de celulose em suspensão aquosa.	50
TABELA 4.3- Coeficientes de polidispersividade das nanofibras de celulose em suspensão aquosa.	50
TABELA 4.4- Índices de cristalinidades das nanofibras de celulose.	54
TABELA 4.5- Concentrações mínimas inibitórias das nanofibras de celulose funcionalizadas.	57
TABELA 4.6- Espessuras dos filmes de pectina e dos nanocompósitos.	60
TABELA 4.7- Coeficientes de polidispersividade das suspensões filmogênicas.	65
TABELA 4.8- Temperaturas iniciais ( $T_{onset}$ ) referente à degradação polissacarídea dos filmes nanocompósitos.	71
TABELA 4.9- Concentrações inibitórias mínimas das dispersões filmogênicas de pectina e nanofibras de celulose para as bactérias <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> (os valores entre parênteses correspondem à concentração de nanofibras de celulose na suspensão).	72

## Lista de Figuras

FIGURA 1.1- Estrutura química primária da pectina [34].	6
FIGURA 1.2. Representação da cadeia heterogênea da pectina [37].	8
FIGURA 1.3- Estrutura química do ácido poligalacturônico com resíduos em suas diferentes formas (modificado de Espitia et al. [24]).	8
FIGURA 1.4- Estrutura química da celulose [45].	10
FIGURA 1.5- Estrutura da celulose com regiões cristalinas e amorfas [43].	11
FIGURA 1.6- Reação de oxidação das fibras de celulose mediada por 2,2,6,6- tetrametilpiperidina-N-oxil [55].	14
FIGURA 1.7- Reação de adição nucleofílica do cloreto de glicidiltrimetilamônio das fibras de celulose [59].	15
FIGURA 3.1- Diagrama esquemático simplificado de um microfluidizador, representando um ciclo de microfluidização (Modificado de Almeida et al. [69]).	22
FIGURA 3.2- Representação esquemática da curva de titulação condutimétrica (modificado de HARVEY et al. [72]).	26
FIGURA 3.3- Representação esquemática das placas do teste de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão.	29
FIGURA 3.4- Disposição do conteúdo dos poços da primeira microplaca de cada bactéria.	30
FIGURA 3.5- Representação de uma curva típica de tensão <i>versus</i> deformação durante ensaio de tração de filmes poliméricos (Modificado de Truesdell et al. [76]).	31
FIGURA 4.1. Curvas dos potenciais Zeta em função do pH para as pectinas de alto grau de metoxilação (AGM) e de baixo grau de metoxilação (BGM).	33
FIGURA 4.2- Imagens dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar produzidos por duas metodologias distintas.	34
FIGURA 4.3- Imagens de microscopia ótica dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar produzidos por duas metodologias distintas. Aumento de 4 vezes.	35

FIGURA 4.4- Curvas reológicas da água e da suspensão aquosa de pectina, sendo (a) viscosidade em função da taxa de cisalhamento e (b) tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento.	37
FIGURA 4.5. Valores de (a) resistência à tração, (b) alongação na ruptura e do (c) módulo de elasticidade de filmes à base de pectina e adicionados de diferentes tipos de nanofibras de celulose de bagaço da cana-de-açúcar.	38
FIGURA 4.6- Imagens dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de polpa de eucalipto produzidos por duas metodologias distintas.	42
FIGURA 4.7- Imagens de microscopia ótica dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de polpa de eucalipto produzidos por duas metodologias distintas. Aumento de 4 vezes.	43
FIGURA 4.8- Valores de (a) resistência à tração, (b) alongação na ruptura e (c) módulo de elasticidade de filmes à base de pectina e adicionados de diferentes tipos de nanofibras de celulose de polpa de eucalipto.	44
FIGURA 4.9- Curva de titulação condutimétrica das nanofibras de celulose oxidadas.	47
FIGURA 4.10- Imagens da (a) suspensão de nanofibras de celulose e (b) das nanofibras de celulose secas.	51
FIGURA 4.11- Imagens de microscopia eletrônica de varredura das (a) nanofibras de celulose sem modificação, (b) nanofibras de celulose oxidada, (c) e (d) nanofibras de celulose cationizadas na proporção 1:5 (deferem apenas nas regiões analisadas). Aumento de 10.000 vezes.	51
FIGURA 4.12- Espectros FT-IR das nanofibras funcionalizadas de celulose de polpa de eucalipto.	52
FIGURA 4.13- Difrátogramas de raios-X das nanofibras de celulose.	53
FIGURA 4.14- Deconvolução dos picos do difratograma das nanofibras de celulose cationizadas na proporção 1:5.	54
FIGURA 4.15- Curvas reológicas de suspensões aquosas de nanofibras de celulose.	55
FIGURA 4.16- Representação esquemática das interações intermoleculares entre as nanofibras de celulose modificadas e a matriz	59



polimérica de pectina.

- FIGURA 4.17- Imagem do filme nanocompósito após a secagem. 60
- FIGURA 4.18- Imagens dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de polpa de eucalipto. 61
- FIGURA 4.19- Imagens das suspensões filmogênicas de pectina e nanofibras de celulose em (a) pH 3 e (b) pH 7. 62
- FIGURA 4.20- Imagens de microscopia óticas dos filmes nanocompósitos. 63
- FIGURA 4.21- Valores dos tamanhos médios hidrodinâmicos dos aglomerados na suspensão filmogênica. 64
- FIGURA 4.22- Valores de potencial Zeta das suspensões filmogênicas. 65
- FIGURA 4.23- Curvas reológicas das suspensões de pectina e nanofibras de celulose funcionalizadas. 67
- FIGURA 4.24- Espectros FT-IR da pectina e dos nanocompósitos a base de pectina e nanofibras de celulose. 68
- FIGURA 4.25- (a) Curvas termogravimétricas e (b) curvas termogravimétricas derivada dos filmes nanocompósitos de pectina e nanofibras de celulose. 70
- FIGURA 4.26- Imagens das placas da análise antimicrobiana de difusão em ágar. 72
- FIGURA 4.27- Microplacas utilizadas no ensaio de determinação da concentração inibitória mínima para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A numeração indicada na figura é referente às amostras descritas na seção 3.2.6.7.2. 73
- FIGURA 4.28- Valores de (a) resistência à tração, (b) alongação na ruptura e do (c) módulo de elasticidade de filmes à base de pectina adicionados de diferentes tipos de nanofibras de celulose de polpa de eucalipto. 74

## RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS BASEADOS EM PECTINA E NANOFIBRAS DE CELULOSE FUNCIONALIZADAS: polímeros provenientes de fontes renováveis são uma alternativa interessante para os polímeros sintéticos produzidos a partir de fontes petroquímicas. O presente trabalho visa o desenvolvimento de filmes nanocompósitos a base de pectina e nanofibras de celulose funcionalizadas. A funcionalização da nanofibras foi feita pela oxidação, mediada por 2,2,6,6- tetrametilpiperidina-N-oxil (TEMPO), e pela cationização, via substituição nucleofílica pelo cloreto de glicidiltrimetilamônio (GTMAC), com o intuito de favorecer as interações com a matriz pectínica. Pectina de baixo grau de metoxilação apresentou potenciais Zeta em torno de -35 mV em pH próximo à 7, favorecendo a disposição de cargas superficiais na matriz polimérica. Filmes nanocompósitos foram obtidos por *casting* descontínuo a partir de suspensões aquosas de pectina e nanofibras de celulose, os quais foram caracterizados quanto as suas propriedades térmicas, mecânicas, antimicrobianas, reológicas e estruturais. A funcionalização das NFC promove a diminuição da cristalinidade das nanoestruturas devido sua influência no empacotamento das cadeias celulósicas, assim como, a diminuição da viscosidade das suspensões filmogênicas. Análises antimicrobianas mostraram a inibição do crescimento da *Escherichia coli* em suspensões filmogênicas contendo 1 e 5% de NFC oxidadas e cationizadas, respectivamente. Os testes mecânicos mostraram que a incorporação das NFC promoveu um aumento de 2 vezes na resistência à tração e de 3 vezes na elongação de ruptura, o que permitiu a produção de nanocompósitos com melhor desempenho mecânico.

**Palavras-chaves:** nanocompósitos; pectina; nanofibras de celulose; biodegradáveis; nanocelulose funcionalizada.

## ABSTRACT

DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE FILMS BASED ON PECTIN AND FUNCTIONALIZED CELLULOSE NANOFIBERS: Renewable polymers are an interesting alternative to synthetic polymers from petrochemical sources. The work aims at the development of nanocomposite films based on pectin and functionalized cellulose nanofibers. The functionalization of nanofibers occurred by oxidation, mediated by 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl (TEMPO), and by cationization, through nucleophilic substitution by glycidyltrimethylammonium chloride (GTMAC), in order to provide interactions with the pectic matrix. Low methoxylation pectin showed Zeta potentials around -35 mV at pH close to 7, which promotes the arrangement of surface charges in the polymer matrix. Nanocomposite films were obtained by discontinuous casting from aqueous suspensions of pectin and cellulose nanofibers, which were characterized for their thermal, mechanical, antimicrobial, rheological and structural properties. The functionalization of the NFC promoted the decrease of the crystallinity due to its influence on the packaging of cellulosic chains, as well as the decrease of the viscosity of the filmogenic suspensions. Antimicrobial analyzes showed inhibition of *Escherichia coli* growth in filmogenic suspensions containing 1 and 5% oxidized and cationized NFC, respectively. Mechanical tests showed that incorporation of NFC promoted an increase of 2 in tensile strength and of 3 in rupture elongation, which allowed the production of nanocomposites with better mechanical performance.

**Keywords:** nanocomposites; pectin; cellulose nanofibers; biodegradable; functionalized nanocellulose.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	1
1- Introdução .....	1
1.1- Embalagens Biodegradáveis .....	4
1.2- Pectina.....	6
1.3- Celulose.....	9
1.4- Nanoceluloses .....	12
1.5- Funcionalização das nanofibras de celulose .....	13
1.6- Nanocompósitos a base de pectina e nanocelulose.....	16
CAPÍTULO II .....	18
2- Objetivos .....	18
CAPÍTULO III .....	19
3- Materiais e Métodos .....	19
3.1- Materiais .....	19
3.2- Metodologia.....	20
3.2.3- Extração da celulose .....	20
3.2.3.1- Celulose do bagaço de cana-de-açúcar .....	20
3.2.3.2- Celulose da polpa de eucalipto.....	20
3.2.4.- Funcionalização e obtenção das NFC .....	20
3.2.4.1- Oxidação das microfibras de celulose .....	20
3.2.4.2- Cationização das microfibras de celulose.....	21
3.2.4.3- Nanoestruturação das microfibras de celulose .....	22
3.2.5- Elaboração dos filmes nanocompósitos .....	22
3.2.5.1- Controle .....	22
3.2.5.2- Metodologia 1: Filmes PEC-NFC (1) .....	23
3.2.5.3- Metodologia 2: Filmes PEC-NFC (2) .....	23
3.2.5.4- Metodologia 3: Filmes PEC-NFC (3) .....	24
3.2.5.5- Conformação dos filmes .....	24
3.2.6- Caracterizações.....	25
3.2.6.1- Determinação do grau de umidade da pectina .....	25
3.2.6.2- Determinação do tamanho hidrodinâmico e do potencial Zeta das suspensões poliméricas .....	25
3.2.6.3- Determinação do grau de substituição das NFC funcionalizadas.....	26
3.2.6.3.1- Titulação condutimétrica .....	26
3.2.6.3.2- Análise elementar .....	27
3.2.6.4- Análise morfológica .....	27

3.2.6.5- Análise estrutural.....	27
3.2.6.6- Análise reológica .....	28
3.2.6.7- Análise antimicrobiana.....	28
3.2.6.7.1- Teste de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão (teste do halo) .....	28
3.2.6.7.2- Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) .....	29
3.2.6.8- Dimensões dos filmes.....	30
3.2.6.9- Análise térmica .....	30
3.2.6.10- Análise mecânica.....	30
CÁPITULO IV.....	32
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
4.1- Análise do potencial Zeta em função do pH das pectinas AGM e BGM .....	32
4.2- Testes exploratórios dos filmes nanocompósitos à base de pectina e NFC .....	34
4.2.1- Filmes nanocompósitos de pectina e NFC de bagaço de cana-de-açúcar.....	34
4.2.2- Filmes nanocompósitos de pectina e NFC de polpa de eucalipto .....	41
4.3- Caracterização das NFC de polpa de eucalipto .....	47
4.3.1- Determinação do grau de substituição das NFC funcionalizadas.....	47
4.3.1.1- NFC oxidadas: titulação condutimétrica .....	47
4.3.1.2- NFC cationizadas: análise elementar .....	48
4.3.2- Potencial Zeta das NFC.....	48
4.3.3- Determinação do tamanho hidrodinâmico das NFC .....	49
4.3.4- Morfologia das NFC.....	51
4.3.5- Análise estrutural das NFC .....	52
4.3.6- Análise reológica das suspensões de NFC .....	55
4.3.7- Determinação da concentração inibitória mínima (CIM).....	56
4.4- Caracterização dos filmes de pectina e NFC: Filmes PEC-NFC (3) .....	57
4.4.1- Espessuras dos filmes.....	60
4.4.2- Análise visual dos filmes nanocompósitos.....	60
4.4.3- Morfologia dos filmes nanocompósitos.....	62
4.4.4- Determinação dos tamanhos hidrodinâmicos das partículas na suspensão filmogênica .....	63
4.4.5- Potencial Zeta das suspensões dos nanocompósitos .....	65
4.4.6- Análise reológica das suspensões filmogênicas.....	66
4.4.7- Análise estrutural dos nanocompósitos .....	68
4.4.8- Análise térmica dos nanocompósitos .....	69
4.4.9- Análise antimicrobiana.....	71

4.4.9.1- Teste de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão (Teste do Halo).....	71
4.4.9.2- Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) .....	72
4.4.10- Análise mecânica dos nanocompósitos .....	74
CAPÍTULO V .....	77
5- CONCLUSÕES FINAIS .....	77
CÁPITULO VI .....	79
6- REFERÊNCIAS .....	79

# CAPÍTULO I

## 1- Introdução

Polímeros sintéticos são utilizados em larga escala devido às vantajosas relações entre custo e benefício, grande potencial de aplicação e fácil obtenção. Entretanto, tais polímeros demandam longos períodos para sua total biodegradação e podem ser responsáveis pela poluição e contaminação do meio ambiente quando descartados incorretamente [1,2]. Por outro lado, há polímeros oriundos de fontes renováveis e naturais que podem ser biodegradáveis e apresentar custo de produção competitivo com os materiais poliméricos tradicionais [3].

As fontes naturais e renováveis de materiais poliméricos podem ser vegetais, animais ou microbianas. Recentemente, há pesquisas que visam à utilização de materiais de fontes renováveis como substituintes, ainda que parciais, dos polímeros obtidos por rotas petroquímicas. Estas investigações têm, na maioria das vezes, viés na direção de aplicações farmacêuticas, alimentícias e biomédicas [4]. Para estas aplicações e para tantas outras, biopolímeros vegetais atuam como modificadores de reologia, espessantes, estabilizantes, emulsificantes, agentes suspensores, gelificantes e bioadesivos. Propriedades como capacidade filmogênica, desempenho mecânico e estabilidade térmica os tornam capazes de competir com os polímeros de fontes fósseis de forma a atender as necessidades comerciais [1].

Dentre tais polímeros destacam-se a pectina e a celulose, pois são materiais de fácil obtenção e com propriedades físico-químicas promissoras [5,6]. A pectina é um polissacarídeo aniônico encontrada nas paredes celulares de vegetais, sendo composta por 70% de ácido galacturônico ligado a unidades de L-ramnose [7,8]. Trabalhos recentes propõem sua aplicação como matéria-prima na produção de filmes comestíveis para a aplicação em embalagens alimentícias [5].

A celulose, além de sua abundância, é um material bastante atrativo devido a sua estabilidade, biodegradabilidade e praticidade [6]. A celulose é um homopolissacarídeo não-iônico e linear com ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas entre monômeros de glicose, com grau de polimerização de 1.000 a 15.000 monômeros por cadeia. Este polímero pode ser produzido por vegetais, animais marinhos, fungos, invertebrados e bactérias [9].

Nos últimos anos, houve um crescimento no desenvolvimento de materiais compósitos reforçados com nanoestruturas [6,10]. Dentre estas, as nanofibras têm despertado interesse, principalmente, pelas suas altas razões de aspecto (relação entre comprimento e diâmetro ou espessura). O uso de nanofibras como reforços de matrizes poliméricas mostrou que os materiais resultantes apresentaram melhores estabilidade térmica, resistência mecânica e barreira a líquidos e gases, mesmo quando em baixas concentrações [11]. Nanofibras de celulose (NFC) são biodegradáveis e biocompatíveis, apresentam baixo custo de obtenção, alto potencial de aplicação e são passíveis de serem recicladas [12]. As fontes vegetais para a extração das NFC são diversas, como madeira, algodão [11], sisal e bagaço da cana [9]. Outra forma de obtenção de tais nanofibras é por meio da síntese bacteriana [9].

A produção das NFC pode ser feita por métodos mecânicos, químicos ou enzimáticos. Uma das formas de obtenção bastante utilizada é a homogeneização a altas pressões [13], na qual há a passagem de uma suspensão de celulose por um orifício estreito em alta pressão, que devido ao cisalhamento das cadeias poliméricas, gerava um gel viscoso nanofibrilado [9]. Tem-se, também, a extração das nanofibras por meio da hidrólise ácida, no qual o ácido ataca as regiões amorfas da celulose gerando partículas coloidais de alta cristalinidade [11]. Vale ressaltar que o desempenho mecânico das nanofibras é influenciado pelo seu processamento [10].

O maior desafio está na dispersão das NFC em uma matriz polimérica, uma vez que a celulose apresenta fortes interações intra e intermoleculares entre suas cadeias. A dispersividade e a adesão das nanofibras com a matriz tem efeito direto nas propriedades mecânicas do material; isto porque, o reforço mecânico ocorre devido à transferência de tensão da matriz para a fase de reforço. Vale lembrar que o uso de nanocelulose como elemento de reforço apresenta algumas desvantagens, por exemplo, alta absorção de umidade, baixa molhabilidade e incompatibilidade com a maioria das matrizes poliméricas hidrofóbicas. Uma forma de contornar tais problemáticas seria a modificação da estrutura química da nanocelulose com a inserção de grupos funcionais de interesse, por exemplo [12].

Boa parte da produção de polímeros é destinada à fabricação de embalagens, a qual provoca grande impacto ambiental quando descartadas incorretamente. A grande demanda de alimentos provocou o aumento da produção de embalagens, assim como, o descarte acentuado de resíduos sólidos que, na



maioria das vezes, não tem o tratamento adequado [14]. Desta forma, o desenvolvimento de materiais poliméricos biodegradáveis, como filmes autossuportáveis, tem despertado atenção devido à possibilidade dos mesmos suprirem as funções básicas das embalagens convencionais, minimizando os danos ambientais por elas provocados [15].

Como já comentado, a implantação de materiais originados de fontes naturais e renováveis é uma alternativa para diminuir a depredação do meio ambiente pela excessiva produção de lixo, além de evitar o esgotamento de fontes não renováveis de matérias-primas. O reaproveitamento de resíduo orgânico industrial para a produção desses materiais biodegradáveis contribui de forma significativa para a minimização na geração de lixo e de seu descarte.

As embalagens desempenham um papel muito importante para o comércio de bens de consumo, pois segundo a Associação Brasileira de embalagem (ABRE), "Conter, proteger e viabilizar o transporte dos produtos são suas funções básicas" [16], além de ser o meio de comunicação entre a marca, o produto e o consumidor [17]. Tendo em vista a alta praticidade, resistência e baixo custo de produção, o uso de embalagens plásticas tem crescido fortemente, principalmente na área alimentícia [18]. O Brasil é um dos maiores consumidores deste tipo de embalagem devido ao aumento da produção industrial, desde produtos de consumos não duráveis até produtos duráveis como construção civil e eletroeletrônicos. De acordo com os dados obtidos pelo Instituto Brasileiro de Economia (IBRE) e pela Fundação Getúlio Vargas (FGV), a produção de embalagens alcançou o montante de R\$ 71,5 bilhões em 2017, o que corresponde a 1,02% do PIB do país. A produção de embalagens plásticas no Brasil apresenta a maior contribuição correspondendo a 38,85% das embalagens, em seguida tem-se as embalagens celulósicas (34,09%), metálicas (18,15%), vidro (4,44%), têxteis (2,53%) e madeira (1,95%) [19].

Durante sua produção, são utilizados recursos naturais não renováveis como petróleo e gás natural, assim como água e energia; vale ressaltar que durante o processo são liberados gases tóxicos e efluentes que contaminam o meio ambiente. Muitas dessas embalagens são usadas por um período relativamente curto e são descartadas, na maioria das vezes, de maneira incorreta aumentando a poluição [20]. Dentre os polímeros, tem-se os termoplásticos que tem a vantagem de serem facilmente moldados, possuem bom desempenho mecânico e baixo custo de produção [18]. Entretanto, sua decomposição no meio ambiente se faz de forma

bastante lenta, além de emitir gases tóxicos e apresentar alta impermeabilidade que dificulta a biodegradação do mesmo [20].

Atualmente, um terço do lixo doméstico são embalagens plásticas, sendo que 80% destas são descartadas após serem usadas apenas uma vez. O uso demasiado destas embalagens e seu descarte incorreto contribuiu para a formação de uma ilha de lixo boiante no oceano Pacífico, a qual possui uma área de dois Estados Unidos. Supõe-se que há em torno de 100 milhões de toneladas de detritos e que grande parte é composta por embalagens e sacolas plásticas. Outro problema que está associado é a morte de milhares de animais, os quais morrem engasgados, presos ou sufocados por sacolinhas e embalagens plásticas. Estima-se que um milhão de aves e de 100 mil de mamíferos morrem anualmente devido ao lixo descartado incorretamente [20,21]. No caso do Brasil, cerca de 25 mil toneladas de embalagens são descartadas nos depósitos de lixo diariamente [21].

As indústrias atingiram a excelência em qualidade na produção de embalagens alimentícias, no entanto, ainda não houve a integração efetiva dos aspectos ambientais neste mercado [14]. Desta forma, tem-se a necessidade de encontrar fontes alternativas ou materiais substitutos para produção de embalagens, de forma que, o mercado mantenha a competitividade do setor e não agrida ao meio ambiente. O desenvolvimento de embalagens funcionais e específicas com matérias-primas naturais e renováveis podem ser uma nova vertente para o crescimento sustentável empresas [22].

### **1.1- Embalagens Biodegradáveis**

Embalagens biodegradáveis são embalagens produzidas a partir de polímeros biodegradáveis, podendo ser sintéticos ou naturais, tendo sua degradação por ação enzimática de bactérias, fungos ou algas [23].

O desenvolvimento de embalagens alimentícias biodegradáveis tem se tornado de grande importância devido ao aumento da demanda e qualidade dos alimentos produzidos, de forma a minimizar os efeitos depreciativos ao meio ambiente. Tendo em vista que grande parte das embalagens alimentícias convencionais são utilizadas apenas uma vez antes de serem descartadas, a elaboração de materiais biodegradáveis, recicláveis e de fontes renováveis tornou-se uns dos principais focos de pesquisa na área de sustentabilidade [15].

Além da questão ambiental, o aumento do interesse do consumidor em sua saúde, nutrição e segurança da alimentação, impulsionou o desenvolvimento das embalagens biodegradáveis naturais comestíveis [24]. As embalagens comestíveis implicam na utilização de compostos seguros para a ingestão humana, tipicamente biopolímeros, e que tem o objetivo de evitar a deterioração dos alimentos via degradação oxidativa e reações respiratórias, aumentando a qualidade do alimento e a vida de prateleira. Assim como mostrado por Aziz et al. [25], a incorporação de óleo de rícino em filmes comestíveis de alginato de sódio fez com que houvesse melhora das características físico-químicas do composto, como o aumento da resistência mecânica, a diminuição da permeabilidade ao vapor de água e efeito antibacteriano, propriedades que torna o material promissor na aplicação como embalagens comestíveis.

As embalagens comestíveis podem ser na forma de filme ou revestimento, sendo que o primeiro é uma película fina produzida separada do alimento e depois aplicada sobre ele; já o revestimento, é uma emulsão ou suspensão que é aplicada diretamente no alimento, formando uma película sobre a superfície do mesmo [26].

Proteínas, polissacarídeos e lipídios são as principais matérias-primas naturais utilizadas na produção de biomateriais, as quais podem advir de diversas fontes, como a animal, vegetal e microbiana [27]. Os vegetais em geral são os mais utilizados como fonte de matéria-prima na produção de biomateriais, como as embalagens alimentícias, as quais podem ter a incorporação de componentes nutricionais, sensoriais, antioxidantes, antimicrobianos, entre outros. Compostos polissacarídeos, como quitosana, alginato, zeína, celulose e a pectina, apresentam grande potencial para esta aplicação, principalmente os dois últimos já que são abundantes nas plantas e frutos, biocompatíveis e biodegradáveis [28,29]. Wu et al. [30] produziu filmes biodegradáveis a base de quitosana, agarose e antocianina que detecta a deteriorização de peixes devido a mudanças de coloração do material, apresentando grande potencial para aplicação como embalagens inteligentes.

Vale ressaltar que as embalagens comestíveis devem apresentar propriedades físico-químicas iguais ou superiores aos das embalagens convencionais, protegendo e preservando as características dos alimentos [27]. Desta forma, utilizam-se de alguns artifícios como a adição de nanoreforços, óleos

essenciais, plastificantes entre outros elementos que atuam de forma a melhorar o desempenho do material desenvolvido [29].

## 1.2- Pectina

A pectina é um polissacarídeo, heterogêneo, aniônico e de cadeia linear formada, principalmente, por  $\alpha$ -D-ácido galacturônico (FIGURA 1.1). Este polímero é encontrado na parede celular primária e na lamela média dos vegetais, tendo a função de regular a adesão intercelular. Podem-se encontrar diferentes formas da pectina na natureza, como por exemplo, protopectinas, ácidos pectínicos e ácidos pécticos, os quais estão relacionados com a etapa de maturação do vegetal [31, 32]. Nos vegetais, o teor de pectina pode variar entre 10 e 30%, sendo as maiores concentrações encontradas em cascas de frutas cítricas como limão e laranja, que são as principais fontes do polissacarídeo utilizadas nas indústrias alimentícias [33].

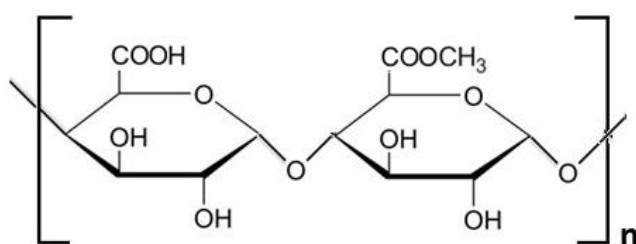


FIGURA 1.1- Estrutura química primária da pectina [34].

A estrutura da pectina é bastante complexa e é composta por diferentes polissacarídeos, dos quais os mais abundantes são a homogalacturonana (HG), ramnogalacturonana I (RG I) e a ramnogalacturonana II (RG II). O HG consiste em um homopolímero linear com ligações  $\alpha$ -(1,4) entre monômeros de ácido galacturônico, o qual atua como o “esqueleto” do polissacarídeo. Já a RG I é encontrada na região de alta ramificação do polímero, apresentando resíduos de ácido galacturônico ligados a cadeias laterais de L-ramnose por meio de ligações  $\alpha$ -(1,2); a RG II apresenta uma estrutura mais complexa, tendo resíduos de ácido galacturônico ligado a diferentes tipos de resíduos [24]. A complexidade da estrutura da pectina está representada na FIGURA 1.2.

Alguns grupamentos carboxila da pectina encontram-se metoxilados o que faz com que seja classificada como de alto grau de metoxilação (AGM) ou baixo

grau de metoxilação (BGM). Pectina de AGM apresenta mais de 50% das carboxilas metoxiladas e a de BGM tem menos que 50% das carboxilas metoxiladas [24,31] (FIGURA 1.3). Em ambos os casos, as carboxilas não metoxiladas podem estar na forma de ácidos livres (-COOH) e/ou de sais (-COO<sup>-</sup>), favorecendo a formação de *crosslinking* com os grupamentos de carboxila metoxilada [35]. A pectina também pode ser encontrada na forma amidada, na qual os grupos carboxilas estão na forma de amida. O grau de amidação, assim como o de metoxilação, influenciam nas propriedades reacionais do polissacarídeo, como a solubilidade, capacidade e condições de gelificação, entre outras [31]. O processo de gelificação pode ser feito pela adição de íons bivalentes em meio ácido, o qual promove interações eletrostáticas entre os as cargas negativas da desprotonação das hidroxilas e as cargas positivas dos íons bivalentes, diminuindo o caráter hidrofílico da pectina [24]. O grande interesse neste polímero por parte das indústrias é devido ao seu grande potencial de aplicação, uma vez que pode ser usada como gelificante, espessante, estabilizante, carboidrato de baixa caloria, além de seu efeito antidiurético [31]. Segundo Freitas et al. [36], a adição de pectina em proteína de soja promoveu a formação de um complexo mais estável com potencial de aplicação como emulsificantes, estabilizante e na encapsulação de gorduras.

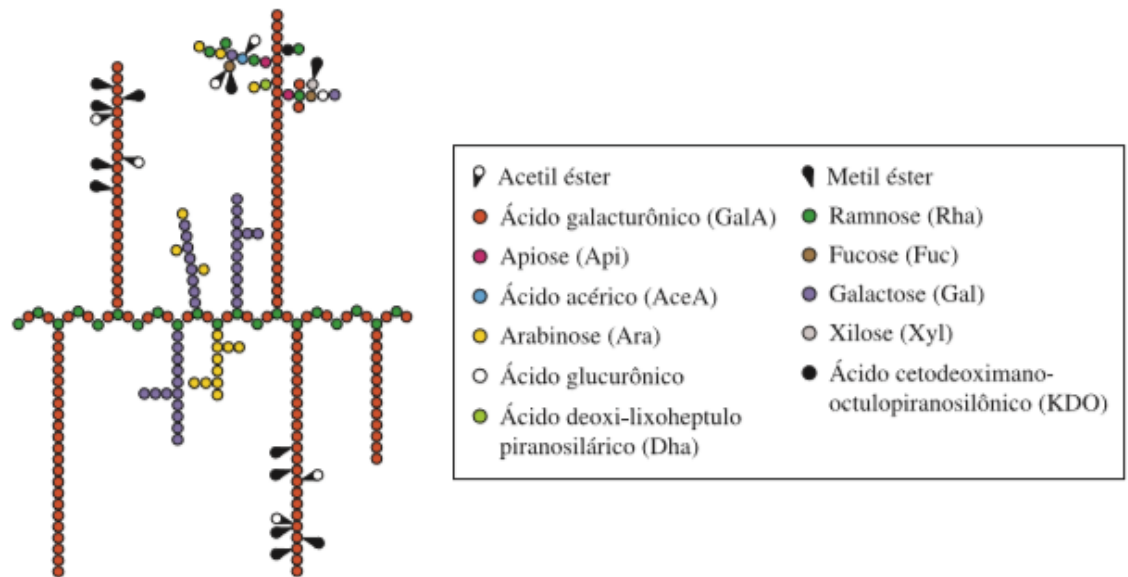
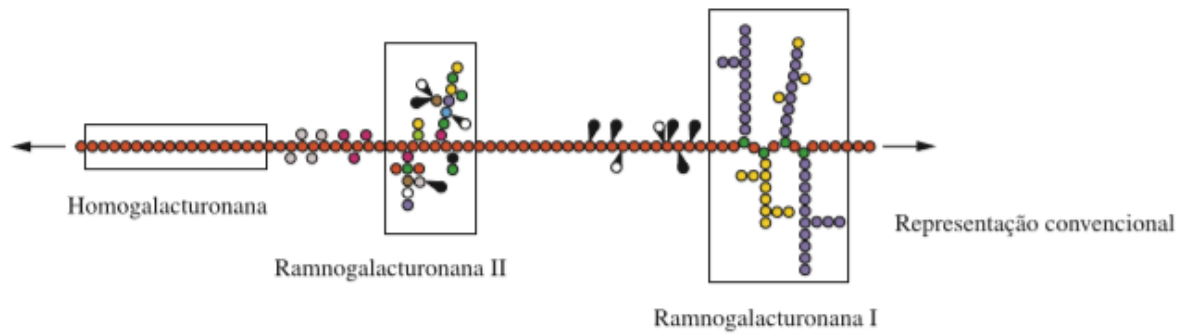


FIGURA 1.2. Representação da cadeia heterogênea da pectina [37].

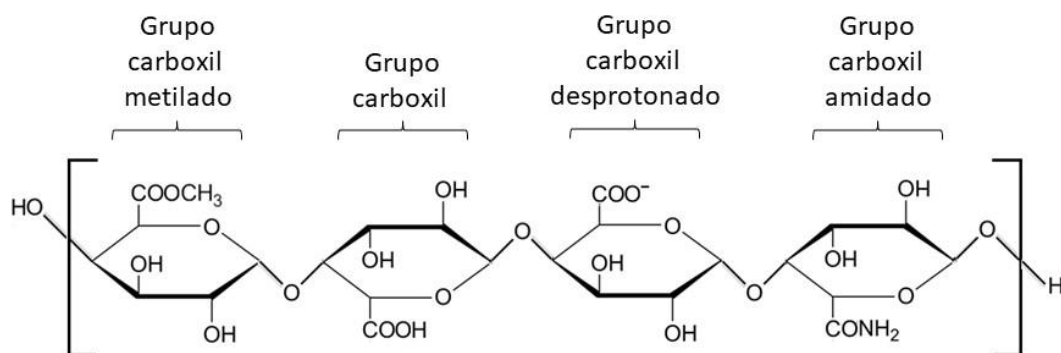


FIGURA 1.3- Estrutura química do ácido poligalacturônico com resíduos em suas diferentes formas (modificado de Espitia et al. [24]).

Segundo o *Codex Alimentarius International*, a pectina é considerada um aditivo alimentício seguro, uma vez que ocorre naturalmente em frutas. Seu uso é permitido pela Legislação Brasileira como coadjuvante de tecnologia para diversos tipos de produtos, atuando, principalmente, como estabilizante e espessantes para gelatos comestíveis [31].

Na produção de filmes comestíveis, a pectina pode ser usada tanto como matriz polimérica [38] ou como agente formador de filmes [28]. Pode-se citar o revestimento polimérico a base de pectina e mel desenvolvido por Santagata et al. [39], o qual atua na preservação das características de frutas cortadas, evitando assim, sua desidratação e contaminação microbiana. Sucheta et al. [40], mostrou que formulações de filmes compósitos a base de pectina e resíduos orgânicos de processos industriais e/ou materiais de baixo valor agregado apresentam propriedades interessantes na elaboração de embalagens sustentáveis, como efeito antioxidante, diminuição da permeabilidade e da solubilidade em água, entre outros.

No entanto, filmes comestíveis produzidos a base de biopolímeros não apresentam boas propriedades térmicas e mecânicas e exibem baixa resistência à água, limitando sua aplicação como embalagens. Desta forma, algumas estratégias utilizadas para melhorar o efeito de barreira e as propriedades mecânicas são a formação de blendas [28] e bionanocompósitos [41,42].

### **1.3- Celulose**

A celulose é o polissacarídeo mais abundante da natureza já que é o principal componente da parede celular dos vegetais, possui elevada massa molar e baixa solubilidade em água [43]. Sua cadeia polimérica é formada pela eliminação da água entre as moléculas de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1,4) [44]; assim, as unidades monoméricas são chamadas de anidroglicose (FIGURA 1.4). A celulose apresenta alta quantidade de grupamentos hidroxilas, o que proporciona a formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares responsáveis pela sua estrutura compacta, elevada força de coesão e cristalinidade [43]. As ligações de hidrogênio ocorrem entre as hidroxilas e os oxigênios de anéis adjacentes, estabilizando a estrutura em uma configuração linear com alta rigidez axial [44].

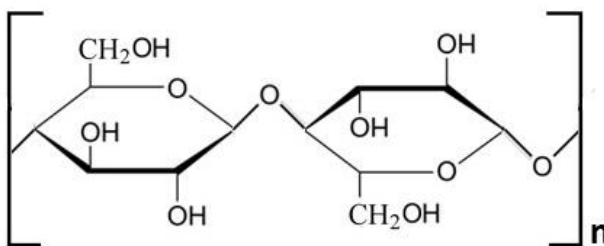


FIGURA 1.4- Estrutura química da celulose [45].

A celulose encontrada nos vegetais geralmente está associada a lignina e hemiceluloses, compostos que são de difícil remoção e afetam a pureza da celulose extraída. Por outro lado, celulose quimicamente pura pode ser obtida por meio de produção biológica das bactérias e tunicados (criaturas marinhas) [46].

A celulose é organizada em quatro níveis hierárquicos, o nível molecular composto por resíduos de glicose ligados entre si por ligações glicosídicas com rotação alternada entre as unidades de anidroglicose; o nível supramolecular, no qual as cadeias de celulose encontram-se agregadas na forma de fibrilas elementares com diâmetro de aproximadamente 3 nm, contendo domínios cristalinos e amorfos alternados. O alinhamento e a agregação destas fibrilas formam as microfibras, com diâmetro de aproximadamente 25 nm; e por fim o nível estrutural, o qual é composto pela associação das microfibras formando uma estrutura em espiral dentro de três camadas da parede celular [46,47].

Como mencionado, as fibras de celulose apresentam regiões cristalinas e amorfas ao longo de sua estrutura (FIGURA 1.5). As regiões cristalinas exibem elevada ordenação e estabilização devido às ligações de hidrogênio; como consequência, estas regiões são de difícil acesso aos catalisadores de forma a dificultar os processos hidrolíticos. Já as regiões amorfas, apresentam estrutura desorganizada e menos compactas, favorecendo o ataque de agentes hidrolíticos [43].



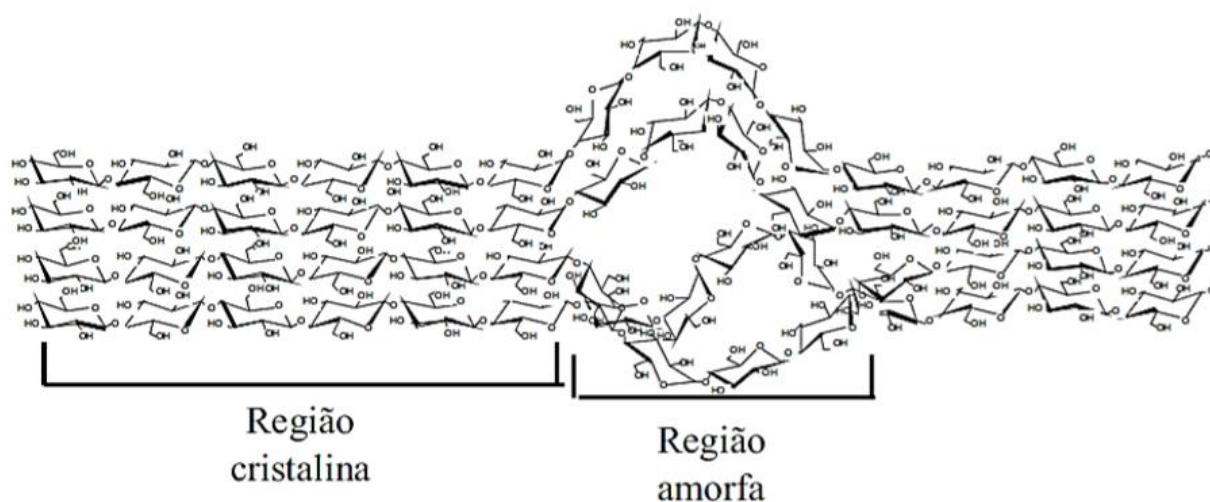


FIGURA 1.5- Estrutura da celulose com regiões cristalinas e amorfas [43].

Existem diferentes formas polimórfas do polímero, sendo as mais importantes a celulose I, II, III e IV. A celulose I ocorre naturalmente nos vegetais e é o polímorfo de maior cristalinidade, podendo ser subdividida em celulose  $I\alpha$  e  $I\beta$ ; a  $I\alpha$  apresenta célula unitária triclinica e contém apenas uma cadeia por célula unitária, enquanto a  $I\beta$  tem célula unitária monoclinica e contém duas cadeias poliméricas por célula unitária, sendo esta mais estável termodinamicamente que a  $I\alpha$ . A celulose II apresenta célula unitária monoclinica e é formada pela recristalização ou mercerização em meio aquoso com hidróxido de sódio, a qual é a forma mais estável. A principal diferença é que a celulose I apresenta empacotamento em direções paralelas, enquanto a celulose II na direção antiparalela. A celulose III é obtida por meio do tratamento da celulose I ou da II com amônia; já a modificação química da celulose III origina a celulose IV [9, 44].

As fontes de extração da celulose são diversas devido sua abundância, entretanto, a celulose é comumente extraída de resíduos agroindustriais e de plantas anuais como eucalipto, cana-de-açúcar, sisal, algodão, soja, entre outros [46]. No Brasil, a fonte mais comum é o eucalipto advindo de resíduos de agronegócio [48].

O interesse científico na celulose surgiu por ser uma alternativa para materiais derivados do petróleo, uma vez que é biodegradável e de fontes renováveis [44]. Além destas características típicas de polímeros naturais, a celulose apresenta boas propriedades de barreira, aparência e resistência mecânica, o que impulsionou seu estudo na sua forma nanométrica [49].

## 1.4- Nanoceluloses

Os nanomateriais tem ganhado bastante destaque na área de desenvolvimento de itens inovadores, e dentre eles tem-se os nanocompósitos, que são compósitos que apresentam um ou mais componentes na escala nanométrica [50]. Desta forma, as nanoceluloses referem-se a materiais celulósicos que apresentem pelo menos uma dimensão na escala nanométrica (entre 1 e 10 nm), e tem despertado atenção em virtude de suas propriedades excepcionais e de seu grande potencial de aplicação [46]. As nanoceluloses podem ser obtidas na forma de nanocristais ou nanofibras [47]. Os processos de obtenção das nanoceluloses podem ser biológico (bactérias e tunicados), químico (hidrólise ácida e oxidação), mecânico (homogeneização e microfluidização) ou uma combinação destes [51].

As propriedades das nanoceluloses estão intimamente relacionadas com diversos fatores, dentre eles o método de extração, número de etapas, razão de aspecto, hidrofobicidade da lignina remanescente, estrutura cristalina e o grau de polimerização. Vale ressaltar que a fonte de extração está diretamente relacionada com os três últimos fatores [48].

A nanoestruturação pode ser produzida por dois métodos; o *Bottom-up* e o *Top-down*. No *Bottom-up*, a nanoestrutura é obtida pelo crescimento de uma base elementar até que atinja uma dimensão nanométrica, como é o caso da síntese de nanofibras de celulose por meio das bactérias e dos tunicados. Já no *Top-down*, realiza-se a miniaturização de um sistema maior até que atinja a escala nanométrica, como exemplo, a produção de nanofibras via hidrólise ácida [51].

Nanocristais de celulose (NCC) são obtidos a partir das fibras celulósicas por meio da dissolução das regiões amorfas via hidrólise ácida, gerando partículas nanométricas de elevada cristalinidade [47]. Já as nanofibras de celulose (NFC) são compostas por regiões cristalinas ligadas por domínios amorfos ao longo do eixo da fibra, apresentando diâmetros na escala nanométrica [44]. As NFC são obtidas pela desintegração das fibras de celulose por um processo mecânico de homogeneização, o qual promove o aumento da área superficial, contribuindo para uma maior exposição dos grupos funcionais da estrutura celulósica [47,52]. As principais diferenças entre as NCC e as NFC são que esta última apresenta propriedades anisotrópicas e potencial de emaranhar-se, enquanto a outra apresenta propriedades isotrópicas e baixas propriedades filmogênicas [48]. O uso das NFC vem crescendo no âmbito da nanotecnologia e desenvolvimento de novos materiais; suas principais aplicações são

na área farmacêutica, nanocompósitos de alta performance, materiais biocompatíveis e biodegradáveis, cosméticos, entre outras [44].

Filmes comestíveis baseados em biopolímeros, geralmente, apresentam baixas propriedades de barreira, térmica, mecânica e de resistência à água, este último para polímeros hidrofílicos como a pectina [42]. Desta forma, uma estratégia para melhorar o desempenho destes materiais seria combinar a matriz de biopolímero com compostos hidrofóbicos com características de reforço, que no caso seria as nanoceluloses. Tibola et al. [53] mostrou que filmes comestíveis de amido de banana reforçados com 5% de NFC em relação a massa de amido apresentou maior resistência à tração e menos alongação de ruptura, indicando a forte interação entre a matriz e as nanofibras. Segundo Hu et al. [42], a adição de 5% de CNC em relação a massa de pectina proporciona um aumento de 18% da resistência à tração e 16% na alongação de ruptura; além de diminuir a permeabilidade ao vapor. Vale ressaltar que não há estudos aprofundados sobre os efeitos colaterais da ingestão de NFC; entretanto, por se tratar de um polissacarídeo natural presente na alimentação humana diária, acredita-se ser um material seguro para consumo [49].

O uso das NFC como reforços de matrizes poliméricas tem-se salientado devido a sua elevada área superficial, cristalinidade acentuada, baixa densidade, biodegradabilidade, alta razão de aspecto (comprimento/diâmetro), flexibilidade e resistência mecânica [44, 47]. As regiões cristalinas das NFC interagem entre si por ligações de hidrogênio, formando uma rede complexa tridimensional de alta coesão, o que de certa forma dificulta o processo de nanofibrilação e limita sua interação com matrizes hidrofóbicas. A fim de se obter uma melhor dispersão e maior compatibilidade, utiliza-se do artifício da funcionalização das cadeias com a introdução de cargas ou grupos funcionais de interesse [44]. Sabendo que a produção de NFC requer alto consumo energético, já que possuem fortes interações entre as fibras, a realização destas modificações na cadeia celulósica favorece a desintegração das fibras e a diminuição do consumo energético [47].

## **1.5- Funcionalização das nanofibras de celulose**

A funcionalização da celulose pode ser feita pela incorporação de grupos funcionais iônicos ou ionizáveis via oxidação, cationização, hidrólises, acetilação, sililação [46], entre outros. Tendo em vista o trabalho em questão, a

oxidação mediada por 2,2,6,6- tetrametilpiperidina-N-oxil e a cationização por cloreto de glicidiltrimetilamônio foram as modificações exploradas.

A oxidação das fibras de celulose mediada por 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-N-oxil (TEMPO) é feita pelo sistema reacional constituído por TEMPO, brometo de sódio (NaBr) e hipoclorito de sódio (NaClO). O mecanismo de reação é baseado na oxidação seletiva do carbono 6 (C6) dos resíduos de glicose em meio aquoso com a introdução de grupamentos carboxílicos e aldeídos carregados, estes últimos são completamente oxidados em grupos carboxílicos. As cargas introduzidas promovem fortes repulsões eletrostáticas entre as fibrilas, provocando a separação das mesmas [51]. A oxidação catalítica das fibras de celulose ocorre em meio alcalino (pH entre 10 e 11), temperatura ambiente e pressão atmosférica. As hidroxilas do C6 da glicose são oxidadas à aldeídos, e estes são então, convertidos em carboxilas. Assim, tem-se que o NaClO age como controlador do nível de oxidação das fibras, já que a intensidade da oxidação está intimamente relacionada com quantidade adicionada do sal [54]. Segundo Ramalingam et al. [41], filmes contendo 10% de CNC oxidada via TEMPO em relação a matriz de alginato maior resistência à tração em relação aos filmes com CNC não modificada (FIGURA 1.6).

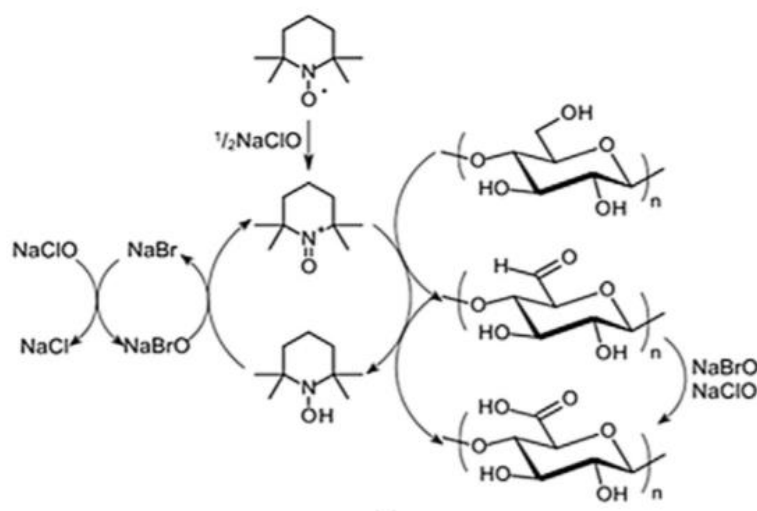


FIGURA 1.6- Reação de oxidação das fibras de celulose mediada por 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-N-oxil [55].

Outra forma de modificação das nanofibras é a cationização das mesmas. A cationização das NFC pode ser feita pela esterificação da hidroxila ligada ao carbono C6 das unidades de anidrocelulose com o cloreto de glicidiltrimetilamônio

(GTMAC). A reação ocorre pela ativação dos grupamentos hidroxilas pelo NaOH. A adição de GTMAC promove a substituição nucleofílica da hidroxila ligada ao carbono C6 da superfície das anidroglicoses [56] (FIGURA 1.7). É importante ressaltar que aminas quaternárias apresentam propriedades antibacterianas e antifúngicas, fazendo com que polímeros que contenham aminas catiônicas podem atuar como biocidas de amplo espectro. Tal propriedade é de grande importância na produção de embalagens comestíveis, uma vez que apresentam baixa toxicidade humana e auxiliando na durabilidade do alimento [57]. Assim como mostrado por Chaker et al. [58], a introdução de nanofibras de celulose modificadas com GTMAC em uma matriz de poli(vinil álcool) evita a proliferação bacteriana com apenas 4% de nanofibras cationizadas, além de promover reforço mecânico à matriz polimérica.

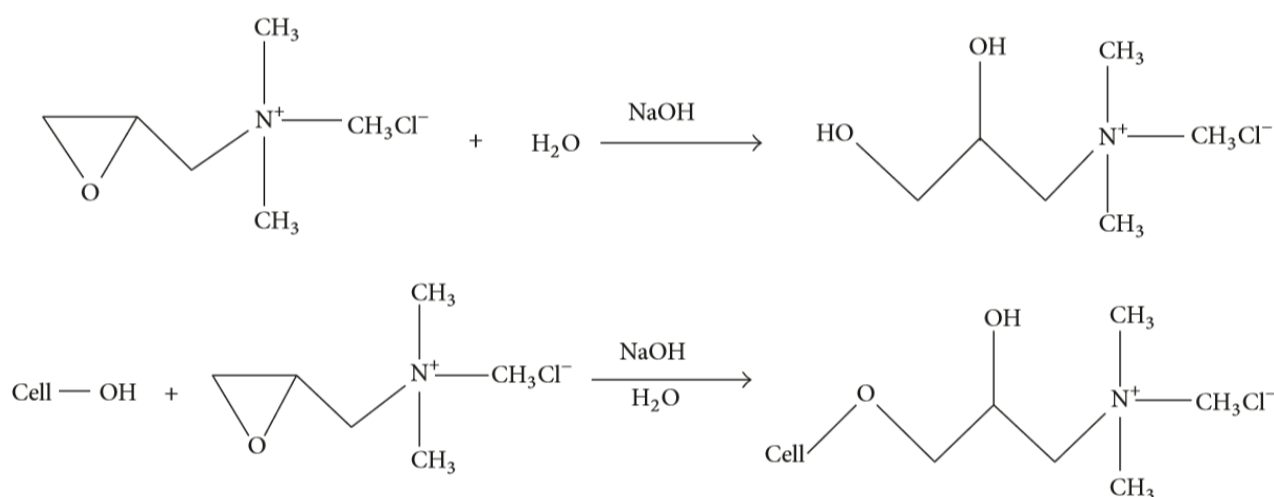


FIGURA 1.7- Reação de adição nucleofílica do cloreto de glicidiltrimetilamônio das fibras de celulose [59].

O processo mecânico para a desintegração das fibras de celulose que tem ganhado relevância é a microfluidização, o qual se baseia no cisalhamento das cadeias poliméricas por meio de colisões em alta pressão [51]. Pelissari et al. [60] mostrou que o número de passagens da suspensão de NFC pelo microfluidizador influencia no reforço da matriz polimérica; as suspensões que tiveram 5 passagens proporcionaram um reforço maior que as suspensões com 3 passagens devido a diminuição do tamanhos das fibrilas; no entanto, as suspensões que foram submetidas a 7 passagens tiveram menor desempenho mecânico provavelmente pelo aparecimento de fissuras nas fibras.

## 1.6- Nanocompósitos a base de pectina e nanocelulose

Como mencionado anteriormente, a incorporação de nanocelulose em matrizes poliméricas tem ganhado destaque devido suas aplicações promissoras. Neste contexto, o desenvolvimento de embalagens oriundas de matérias-primas naturais vem sendo investigado com o objetivo de diminuir a geração de resíduos de fonte fóssil e de possivelmente aumentar o tempo de prateleira dos alimentos, evitando seu desperdício.

Segundo Chaichi et al. [42], filmes comestíveis de pectina contendo 5% de NCC apresentou um aumento de 84% da resistência a tração referente à formação de uma rede contínua entre as cadeias celulósicas, as quais interagem fortemente por meio de ligações de hidrogênio. A adição de NCC diminuiu em 40% a permeabilidade ao vapor de água, o qual foi semelhante a permeabilidade do celofane. A incorporação de nanocelulose promoveu o aumento da cristalinidade do sistema, uma vez que os nanocristais atuaram como agentes de nucleação, auxiliando a cristalização do polímero, o que deve influenciar diretamente no desempenho do nanocompósito.

Outra vertente promissora é a modificação química da nanocelulose para melhorar o seu desempenho e produzir novas funcionalidades. A literatura apresenta diversos trabalhos que mostram que a introdução de nanocelulose na encapsulação de fármacos e prebióticos promove a melhoria na atuação dos mesmos [61]. Molgaard et al. [62] produziram revestimentos para encapsulação de componentes ativos a base de NFC funcionalizada com grupos catiônicos e pectina aniônica pelo método layer-by-layer. A adição das NFC aumentou a resistência do material à degradação enzimática e a funcionalização dos componentes promoveu a adesão entre as camadas de pectina e nanocelulose, por meio de interações iônicas. As NFC proporcionaram a diminuição da permeabilidade ao oxigênio, o que deve evitar a oxidação do material revestido.

Meneguim et al. [63] produziram filmes flexíveis autosuportáveis de amido retrodegradado/pectina adicionados de nanocelulose vegetal e bacteriana para aplicação na área de liberação de fármaco. O trabalho mostrou que a utilização de nanocelulose vegetal apresentou propriedades melhores que a bacteriana; isto, porque a NFC vegetal forma uma rede menos porosa e mais emaranhada, sendo mais facilmente preenchida pela matriz polimérica. Assim, a adição de 1 % de NFC vegetal promoveu uma resistência à perfuração 3 vezes maior que no caso do filme controle;

já a adição de 5% de NFC diminuiu a permeabilidade ao vapor de água em torno de 5 vezes.

Tendo em vista os trabalhos citados, o desenvolvimento de filmes de pectina com adição de nanocelulose cationizada para uma possível aplicação como embalagem primária de alimentos será explorado neste trabalho, tendo o intuito de melhorar o desempenho mecânico e térmico dos filmes nanocompósitos; além de, promover atividade antimicrobiana no material em questão.

## CAPÍTULO II

### 2- Objetivos

O trabalho teve como objetivo geral a elaboração e a caracterização de filmes nanocompósitos autossuportáveis de pectina e nanofibras de celulose funcionalizadas, visando o uso em embalagens. Assim, foram determinados os seguintes objetivos específicos:

- Caracterização das pectinas de alto e baixo graus de metoxilação;
- Obtenção, caracterização e funcionalização de nanofibras de celulose com grupamentos funcionais aniônicos (oxidação mediada por TEMPO) e catiônicos (substituição nucleofílica por GTMAC);
- Avaliação do efeito do tipo de modificação, grau de cationização, composição dos filmes, metodologia de dispersão das nanofibras e fonte das nanofibras no desempenho mecânico dos filmes produzidos por *casting*;
- Otimização da obtenção de filmes nanocompósitos a partir da mistura entre a pectina e as nanofibras de celulose funcionalizadas obtidos através de *casting*;
- Caracterização das propriedades morfológicas, estruturais, mecânicas, térmicas e antimicrobiana dos filmes nanocompósitos.



## CAPÍTULO III

### 3- Materiais e Métodos

#### 3.1- Materiais

As pectinas de alto GENUSET-Z (massa molar média 130.000 g.mol<sup>-1</sup> e grau de metoxilação 74%) e baixo grau de metoxilação USPB (massa molar média 170.000 g.mol<sup>-1</sup> e grau de metoxilação 8,4%) proveniente de cascas de frutas cítricas foram obtidas da empresa CP Kelco (Limeira, Brasil). O bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e a polpa de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) foram cedidos gentilmente pelo Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE/CNPEM) e pela Suzano Papel e Celulose, respectivamente. Os demais reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho em questão são mostrados a seguir:

- *Escherichia coli* (INCQS 33 ATCC 25922- Gram negativa);
- *Staphylococcus aureus* (INCQS 15 ATCC 25923- Gram positiva);
- Cloreto de glicidiltrimetilamônio (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>NOCl, GTMAC)- Sigma-Aldrich (90%);
- Radical N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>NO- TEMPO)- Sigma-Aldrich (98%);
- Ágar Müller-Hinton- Kasvi;
- Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>)- Sigma-Aldrich (98%);
- Streptomicina (C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>)- Vetec (P.A.);
- Brometo de sódio (NaBr)- Vetec (P.A.);
- Hipoclorito de sódio (NaClO)- Reatec (6%);
- Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)- Synth (99,5%);
- Ácido clorídrico (HCl)- Sigma-Aldrich (37%);
- Ácido oxálico (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)- Supelco (P.A.);
- Hidróxido de sódio (NaOH)- Reatec (P.A.);
- Nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>)- Vetec (P.A.).

## **3.2- Metodologia**

### **3.2.3- Extração da celulose**

#### **3.2.3.1- Celulose do bagaço de cana-de-açúcar**

A celulose advinda do bagaço da cana-de-açúcar foi extraída e funcionalizada em uma parceria com grupos de pesquisa do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano)/Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) e do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), ambos em Campinas - SP. Lignina e hemicelulose foram seletivamente removidos do complexo lignina-poliose-celulose de bagaço de cana-de-açúcar pelo processo de polpação organossolve, conforme descrito por Oliveira et al. [64]. De forma sucinta, polpa marrom foi obtida através do tratamento da biomassa com uma mistura etanol:água 1:1 (v/v) em reator Parr (modelo Alloy C276, Estados Unidos) operando a 20 bar e 190 °C por 2 h. A polpa marrom foi submetida a dois ciclos de branqueamento, de acordo com Teixeira et al. [65], através do tratamento com soluções aquosas de NaOH 5% e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 24%, sob agitação mecânica e aquecimento a 70 °C por 40 min. Após esse tratamento, a polpa branqueada foi lavada com água destilada até a neutralidade.

#### **3.2.3.2- Celulose da polpa de eucalipto**

Microfibras de celulose advindas de eucalipto foram gentilmente fornecidas pela Suzano Papel e Celulose (Limeira, SP). Segundo a descrição do fabricante, a extração da celulose foi feita pelo processo de polpação Kraft, o qual consiste na individualização das fibras de celulose pela dissolução da lignina em meio alcalino sob altas pressões, seguido de branqueamento e fibrilação em moinho de pedras [66].

### **3.2.4.- Funcionalização e obtenção das NFC**

#### **3.2.4.1- Oxidação das microfibras de celulose**

Suspendeu-se 1 g de fibra de celulose branqueada em 100 mL de água ultrapura e adicionaram-se 0,016 g de TEMPO, 0,1 g de NaBr e 5 mmol de NaClO,

nesta ordem. O pH foi ajustado para 10 com uma solução aquosa de NaOH (0,5 mol L<sup>-1</sup>), sendo a reação mantida sob agitação a 300 rpm por 130 minutos. Após a reação, o pH da suspensão foi ajustado para 7 com uma solução aquosa de HCl (0,5 mol L<sup>-1</sup>). A suspensão resultante foi submetida a sucessivos ciclos de lavagem com água ultrapura e centrifugada em equipamento Hettich (modelo Rotina 380R, Alemanha) a 4500 rpm por 10 minutos até sua completa purificação e, então, armazenada a 4°C até o uso [67].

### 3.2.4.2- Cationização das microfibras de celulose

A metodologia utilizada foi uma adaptação da Zaman et al. [68]. Em um saco de polietileno, foram adicionadas 10 g de celulose branqueada e 25 mL de solução aquosa de NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>); o sistema foi colocado em banho de ultrassom termostaticado a 69°C por 30 minutos. Adicionou-se uma quantidade conhecida de GTMAC, e o sistema foi mantido nestas condições por 4 horas. Adicionaram-se 300 mL de solução aquosa de etanol 95% ao sistema e, em seguida, centrifugou-se por 10 minutos a 8000 rpm para a retirada do sobrenadante. A suspensão foi dialisada para que houvesse a remoção de reagentes residuais. A diálise foi feita pela introdução do material em um tubo flexível de celulose, o qual foi amarrado nas extremidades, e deixado em água ultrapura sob agitação com trocas de água a cada 24 h até que houve total remoção do reagente em excesso; a água de descarte foi testada com AgNO<sub>2</sub> a fim de se verificar a presença de cloreto. A cationização das microfibras de celulose foi feita em duas proporções, ou seja, a quantidade de GTMAC adicionada foi uma relação entre o número de mols de resíduos de glicose e o número de mols do GTMAC ( $n_{\text{glicose}} : n_{\text{GTMAC}}$ ). No decorrer do trabalho, foram utilizadas três proporções de  $n_{\text{glicose}} : n_{\text{GTMAC}}$ , como descrito na TABELA 3.1.

TABELA 3.1. Proporções de reagentes utilizados na cationização das microfibras de celulose.

<b><i>Amostra</i></b>	<b><i>n<sub>glicose</sub> : n<sub>GTMAC</sub></i></b>
NFC <sub>cat 1:2</sub>	1:2
NFC <sub>cat 1:5</sub>	1:5
NFC <sub>cat 1:10</sub>	1:10

### 3.2.4.3- Nanoestruturação das microfibras de celulose

Após a cationização das microfibras de celulose, as mesmas passaram por um processo de nanoestruturação a partir da técnica de microfluidização. A microfluidização consiste no cisalhamento das partículas em suspensão devido à colisão de fluxos sob alta pressão [69]. As microfibras de celulose foram submetidas a 3 ciclos sob pressão de 1500 bar (FIGURA 3.1), utilizado um microfluidizador Newton (modelo M-110P, Estados Unidos)

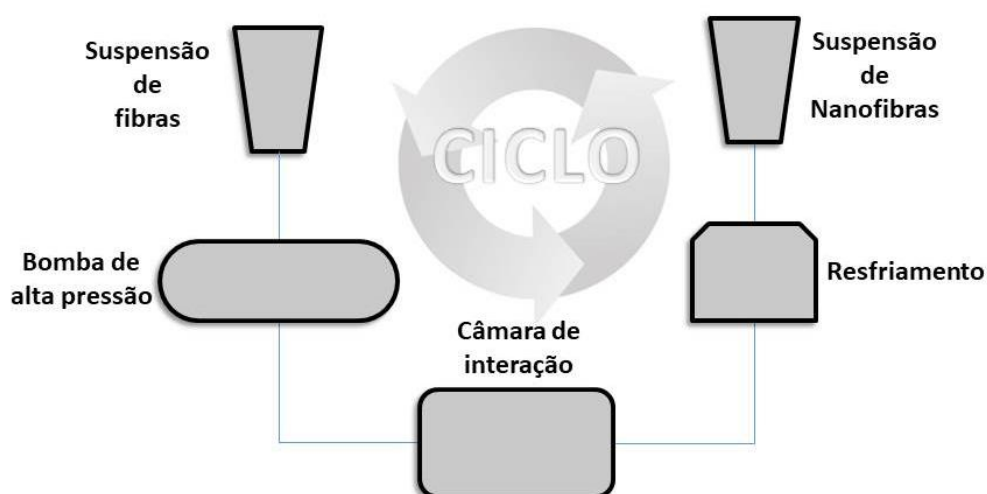


FIGURA 3.1- Diagrama esquemático simplificado de um microfluidizador, representando um ciclo de microfluidização (Modificado de Almeida et al. [69]).

As microfibras de celulose oxidadas foram nanofibriladas mediante sonicação (Ultrasonic Processor) a 40% de amplitude e 400 W de potência por 30 minutos.

### 3.2.5- Elaboração dos filmes nanocompósitos

#### 3.2.5.1- Controle

Filmes baseados em pectina foram utilizados apenas como controle para fins de comparação. Foi observado que a pectina de baixo grau de metoxilação (BGM) apresentou menores valores de potenciais Zeta (discutido na seção 4.1.2.), o que a torna mais propensa a interagir eletrostaticamente com as NFC funcionalizadas; assim, optou-se por produzir os filmes com pectina BGM. Desta forma, 80 g de uma

suspensão aquosa de pectina BGM 2% (m/m) foi agitada para que houvesse total solubilização do polímero (1800 rpm).

### 3.2.5.2- Metodologia 1: Filmes PEC-NFC (1)

Prepararam-se 80 g de uma solução aquosa de pectina BGM 2% (m/m) e agitou-se para que houvesse total solubilização do polímero. O pH foi ajustado para próximo de 2 em pHmetro Ion (modelo PHB500, Brasil) e deixado sob agitação por 10 minutos a 1800 rpm antes da adição do gel contendo as NFC; posteriormente, o pH foi elevado para próximo de 7 e agitado por mais 10 minutos. Os pHs foram ajustados com soluções aquosas de HCl (1 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>) para induzir a desprotonação das cadeias de pectina. As concentrações utilizadas das NFC para a produção dos nanocompósitos são mostradas na TABELA 3.2.

TABELA 3.2- Formulações dos nanocompósitos de pectina e nanofibras de celulose (Filmes PEC-NFC (1) e PEC-NFC (2)).

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de NFC</b>	<b>NFC adicionada/ % (m/m<sub>PEC</sub>)</b>
Controle	-	0
PEC-NFC <sub>oxi</sub> (1%)	Oxidada	1
PEC-NFC <sub>oxi</sub> (10%)	Oxidada	10
PEC-NFC <sub>cat1:2</sub> (1%)	Cationizada 1:2	1
PEC-NFC <sub>cat1:2</sub> (10%)	Cationizada 1:2	10
PEC-NFC <sub>cat 1:10</sub> (1%)	Cationizada 1:10	1
PEC-NFC <sub>cat 1:10</sub> (10%)	Cationizada 1:10	10

### 3.2.5.3- Metodologia 2: Filmes PEC-NFC (2)

Suspendeu-se uma quantidade conhecida de NFC (TABELA 3.2) em água ultrapura e agitou-se por 10 minutos. Adicionou-se uma quantidade de pectina BGM a fim de se obter uma solução 2% em relação à massa de água; o sistema foi mantido sob agitação a 1800 rpm até que a mesma estivesse totalmente solubilizada. O pH da solução resultante foi ajustado para próximo de 7 e o sistema foi agitado por mais 10 minutos. Os pHs foram ajustados com soluções de HCl (1 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>).

### 3.2.5.4- Metodologia 3: Filmes PEC-NFC (3)

Suspendeu-se uma quantidade conhecida (TABELA 3.3) de NFC em água ultrapura a fim de se obter uma concentração 2% m/m em relação à massa de pectina; a suspensão foi agitada por 10 minutos a 1800 rpm para a dispersão das nanofibras e, posteriormente, sonicada por mais 10 minutos em ultrassom de ponteira Branson (modelo SFX550, México). Adicionou-se a pectina BGM (2% m/m em relação à massa de água) e o sistema foi mantido sob agitação até que a mesma estivesse totalmente solubilizada. O pH da solução resultante foi ajustado para próximo de 7 e agitado por mais 10 minutos. Os pH foram ajustados com soluções de HCl (1 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>).

TABELA 3.3. Formulações dos nanocompósitos de pectina e nanofibras de celulose (Filmes PEC-NFC (3)).

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de NFC</b>	<b>% NFC adicionada % (m/m<sub>PEC</sub>)</b>
Controle	-	0
PEC-NFC (1%)	Sem modificação	1
PEC-NFC (10%)	Sem modificação	10
PEC-NFC <sub>oxi</sub> (1%)	Oxidada	1
PEC-NFC <sub>oxi</sub> (10%)	Oxidada	10
PEC-NFC <sub>cat 1:5</sub> (1%)	Cationizada 1:5	1
PEC-NFC <sub>cat 1:5</sub> (10%)	Cationizada 1:5	10

### 3.2.5.5- Conformação dos filmes

As suspensões filmogênicas foram desgaseificadas sob pressão reduzida (-500 mmHg) utilizando bomba de vácuo Solab (modelo SL61, Brasil) até que houvesse a remoção das bolhas de ar macroscópicas. A deposição dos filmes foi feita pela técnica de *casting*, ou seja, a suspensão polimérica foi despejada em substrato de poliéster (Mylar, Dupont, Estados Unidos) e estes foram secos em temperatura ambiente por 48 horas. Foram obtidos filmes com dimensões de 15 x 15 cm e espessuras que variaram de 23 a 43 µm.

### 3.2.6- Caracterizações

#### 3.2.6.1- Determinação do grau de umidade da pectina

A determinação do grau de umidade foi feita com o pó das pectinas de AGM e BGM utilizando uma balança analisadora de umidade (Marte, modelo ID-200, Brasil). Esta determinação foi realizada para desconsiderar a massa de umidade daquela de pectina, não subestimando esta. A umidade das pectinas foi de 11,94%, para a AGM e 12,29%, para a BGM. Esses valores foram considerados no cálculo da massa de pectina utilizada nas suspensões filmogênicas, como mostrado pelas equações a seguir.

$$M_{PEC-AGM \text{ corrigida}} = 1,136. M_{PEC-AGM}$$

$$M_{PEC-BGM \text{ corrigida}} = 1,140. M_{PEC-BGM}$$

Sendo,  $M_{PEC \text{ corrigida}}$  a massa de pectina corrigida e  $M_{PEC}$  a massa de pectina desejada.

#### 3.2.6.2- Determinação do tamanho hidrodinâmico e do potencial Zeta das suspensões poliméricas

A determinação dos tamanhos hidrodinâmicos das suspensões poliméricas foi feita pela técnica de espelhamento dinâmico de luz (DLS), a qual mede a distribuição de tamanhos dos aglomerados poliméricos tendo como base seu espalhamento de luz. Já a técnica de determinação do potencial Zeta das suspensões mede a carga superficial de partículas em função de sua mobilidade eletroforética [70].

As medidas de potencial Zeta em função do pH para as suspensões poliméricas de pectina 0,1% AGM e BGM foram feitas em um intervalo de 1,5 a 11. Os ajustes do pH foram feitos com soluções aquosas de HCl (1 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>). As medidas foram feitas utilizando um aparelho Zetasizer Nano ZS Malvern Instruments (modelo ZEN 3600, Estados Unidos).

As determinações de tamanho hidrodinâmico e potencial Zeta também foram feitas com dispersões aquosas de 0,1% (m/m) de NFC e 0,1% (m/m) das suspensões filmogênicas dos nanocompósitos (TABELA 3.3).

### 3.2.6.3- Determinação do grau de substituição das NFC funcionalizadas

#### 3.2.6.3.1- Titulação condutimétrica

A determinação do grau de substituição (GS) das NFC oxidadas foi feita por titulação condutimétrica utilizando um condutivímetro Gehaka (modelo CG2000, Brasil). Suspenderam-se cerca de 50 mg do gel de NFC em 15 mL de uma solução aquosa de HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>; então, a mistura foi titulada com uma solução aquosa padronizada de NaOH 0,03 mol L<sup>-1</sup>. A condutividade do sistema foi medida após cada adição da solução de NaOH e a padronização da solução básica foi feita com uma solução aquosa de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 0,053 mol L<sup>-1</sup>. O volume da solução de NaOH foi determinada a partir das curvas de titulação condutimétrica (FIGURA 3.2) e o grau de oxidação foi calculado de acordo com EQUAÇÃO 3.1 [71].

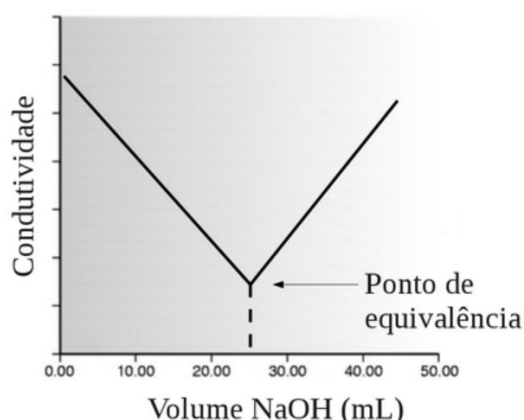


FIGURA 3.2- Representação esquemática da curva de titulação condutimétrica (modificado de HARVEY et al. [72]).

$$GS = \frac{162 \times V_{NaOH} \times c}{m - V_{NaOH} \times c \times 36,973} \times 100 \quad \text{EQUAÇÃO 3.1}$$

onde  $V_{NaOH}$  é o volume da solução aquosa de NaOH em L,  $c$  é a concentração da solução aquosa de NaOH em mol L<sup>-1</sup>,  $m$  é a massa de NFC seca em g.



### 3.2.6.3.2- Análise elementar

A determinação do GS das NFC cationizadas foi feita a partir da análise elementar da quantidade de nitrogênio (introduzido pelas moléculas de GTMAC) presente em 10 mg de amostra, como mostrado na TABELA 3.4. A medida foi feita em triplicata por um analisador elementar Perkin Elmer (modelo 2400, Estados Unidos) com cápsulas de estanho.

TABELA 3.4- Valores da quantidade de nitrogênio presente nas amostras de nanofibras de celulose.

<i>Tipo de NFC</i>	<i>% Nitrogênio</i>
NFC	0,03 ± 0,007
NFC <sub>cat 1:5</sub>	1,5 ± 0,07

### 3.2.6.4- Análise morfológica

A análise morfológica da superfície dos filmes foi investigada utilizando microscópio ótico Bel (modelo Solaris, China). As NFC foram observadas por microscópio eletrônico de varredura Jeol (modelo JSM-6510, Japão), as quais foram alocadas sob *stubs* e recobertas com uma camada de ouro via pulverização catódica.

### 3.2.6.5- Análise estrutural

As NFC e os filmes foram analisados por espectroscopia no infravermelho (FT-IR) em um equipamento Bruker (modelo Vertex 70, Alemanha) com módulo de atenuação por diamante (ATR). Os materiais estavam previamente secos e foram analisados em modo de transmitância em um intervalo de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup>, com resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup> e 32 *scans* por amostra.

A cristalinidade das nanofibras foi verificada por meio da difração de raios-X em um difratômetro Shimadzu (modelo XDR-6000). O escaneamento foi feito a 0,5°/ min em um intervalo de ângulo de Bragg (2θ) de 5 a 50° e o equipamento foi operado com 30 kV, 30 mA e radiação monocromática CuKα (λ=0,15428 nm). Os índices de cristalinidade foram calculados por dois métodos: deconvolução de picos (EQUAÇÃO 3.2) [73].

$$IC = \frac{\text{Área cristalina}}{\text{Área total}} \times 100 \quad \text{EQUAÇÃO 3.2}$$

onde, *IC* é o índice de cristalinidade (%); *Área cristalina* é a área que corresponde aos picos cristalinos; e *Área total* é a área total abaixo da curva.

A determinação das áreas foi feita por deconvolução dos picos a partir de funções de normalização Gaussianas e Lorentzianas, disponíveis no software CasaXPS.

### 3.2.6.6- Análise reológica

A fim de investigar-se a dispersão das nanofibras pelas suspensões poliméricas foi feita análise de reometria rotacional das suspensões aquosas de NFC (0,2% m/m), pectina (2% m/m) e das suspensões filmogênicas contendo pectina e NFC (TABELA 3.3). As medidas foram feitas em reômetro Anton Paar (modelo AV50, Brasil) utilizando geometria de cilindros concêntricos (DG26 7) e taxa de cisalhamento variando de 0,1 a 100 s<sup>-1</sup> a 20°C.

### 3.2.6.7- Análise antimicrobiana

#### 3.2.6.7.1- Teste de sensibilidade de antimicrobianos por difusão (teste do halo)

O teste antimicrobiano dos nanocompósitos foi feito pelo teste do halo, a fim de verificar a inibição do crescimento das bactérias na região em contato com os filmes. A análise foi feita segundo a norma M2-A8 do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute [74]. As bactérias *Escherichia coli* (*E. coli*) e a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) foram inoculadas em 10 mL meio de cultura Müller-Hinton (MH) a 35°C overnight; em seguida, foram feitas diluições a fim de obterem-se 10 mL de suspensão bacteriana de 10<sup>6</sup> unidades formadoras de colônia (UFC)/mL para cada bactéria.

Verteram-se cerca de 30 mL de uma solução contendo meio de cultura MH (21 g/L) e ágar (17g/L) e deixou descansar até sua solidificação. Com o auxílio de uma alça de Drigalsky, espalharam-se 10 µL da suspensão inócua de bactéria, as quais já estavam neste meio de cultura. Posteriormente, colocaram-se 3 amostras de

cada um dos filmes, os quais estavam cortados em círculos (FIGURA 3.3), e o sistema foi incubado em estufa a 35°C overnight.

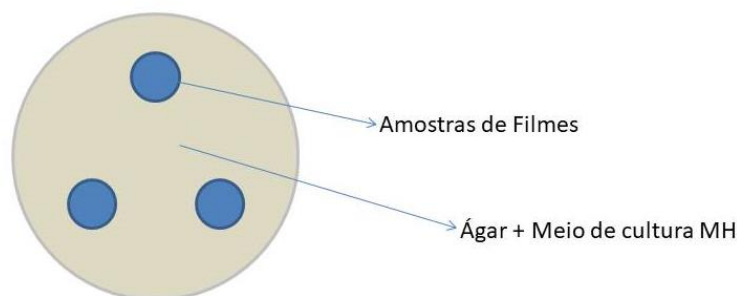


FIGURA 3.3- Representação esquemática das placas do teste de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão.

### 3.2.6.7.2- Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

O teste antimicrobiano para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das dispersões filmogênicas foi feito pela técnica de diluição em microplacas segundo a norma M7-A6 do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute [75]. As bactérias *E. coli* e a *S. aureus* foram inoculadas em 10 mL meio de cultura MH a 35°C overnight; em seguida foi feitas diluições a fim de obter 10 mL de suspensão bacteriana de  $10^6$  UFC/mL para cada uma das bactérias. Nas microplacas foram adicionados, nesta ordem, 100  $\mu$ L de meio MH, 100  $\mu$ L das dispersões analisadas no primeiro poço, uma vez que foi feita diluições subsequentes, e 10  $\mu$ L da solução diluída contendo as bactérias. Vale ressaltar que o teste foi feito em triplicata para cada amostra e as diluições das amostras foram feitas de forma que cada poço apresentava metade da concentração do poço anterior; a primeira microplaca de cada bactéria continha a primeira fileira o controle positivo e negativo (A1-A6: meio de cultura MH; A7-A12: meio de cultura MH + bactéria) e a segunda fileira (B1-B12) continha o controle das bactérias com 100  $\mu$ L do antibiótico estreptomicina 10 mg/mL, como mostrado na FIGURA 3.4. As microplacas foram deixadas em estufa a 35°C overnight e, posteriormente, foi feita a verificação do crescimento/inibição dos microrganismos. Para a melhor visualização dos poços que houve ou não crescimento de bactérias, adicionou-se 30  $\mu$ L do corante cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (CTT) 0,1%, já que quando em presença das mesmas, o corante apresenta uma coloração avermelhada.

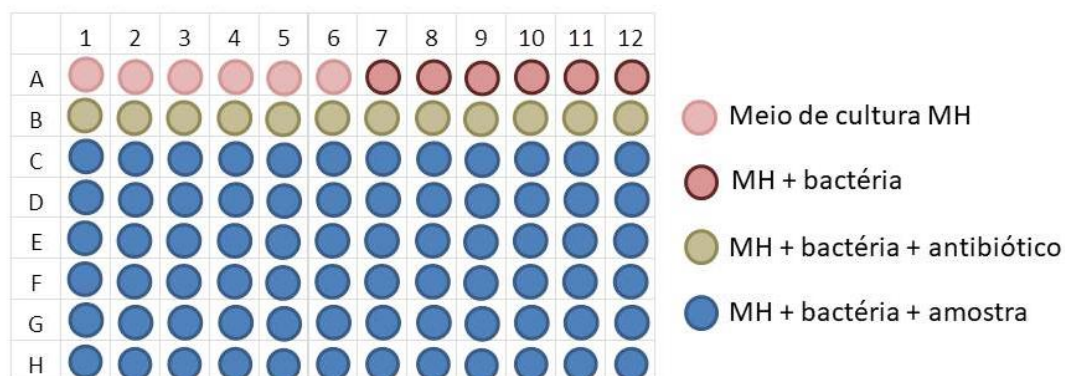


FIGURA 3.4- Disposição do conteúdo dos poços da primeira microplaca de cada bactéria.

### 3.2.6.8- Dimensões dos filmes

As espessuras foram determinadas pela média aritmética de cinco medidas em posições aleatórias de cada corpo de prova com um micrômetro digital Mitutoyo Manufacturing (modelo Digital Coolant Proof, Japão); as larguras dos filmes foram medidas por um Paquímetro digital Zaas Precision (modelo ZAA-1-0013, Brasil). Os valores obtidos foram utilizados nos cálculos das propriedades mecânicas.

### 3.2.6.9- Análise térmica

Cerca de 7 mg dos filmes foram aquecidos de 25 a 600°C a 10°C min<sup>-1</sup> em porta amostra de platina e atmosfera de ar sintético com vazão de 60 mL min<sup>-1</sup>, utilizando um analisador termogravimétrico TA Instruments (modelo SDT-Q600, Estados Unidos). A análise permitiu a obtenção das curvas termogravimétricas (TG) e de suas derivadas (DTG).

### 3.2.6.10- Análise mecânica

O desempenho mecânico dos filmes foi avaliado pelo teste de tensão uniaxial, o qual foi feito com pelo menos cinco corpos de prova para cada tipo de filme nanocompósito. Os testes foram feitos em instrumento de análise dinâmico-mecânica TA Instruments (modelo DMA Q800, Estados Unidos). Os ensaios realizados permitiram a obtenção da curva de tensão-deformação, a qual fornece os valores da resistência à tração ( $\sigma_{m\acute{a}x}$ ), deformação na ruptura ( $\epsilon_{rup}$ ) e do módulo de elasticidade

(E) (FIGURA 3.5). Os filmes analisados foram previamente condicionados a 25°C e 49% de umidade relativa (UR) por 48 horas.

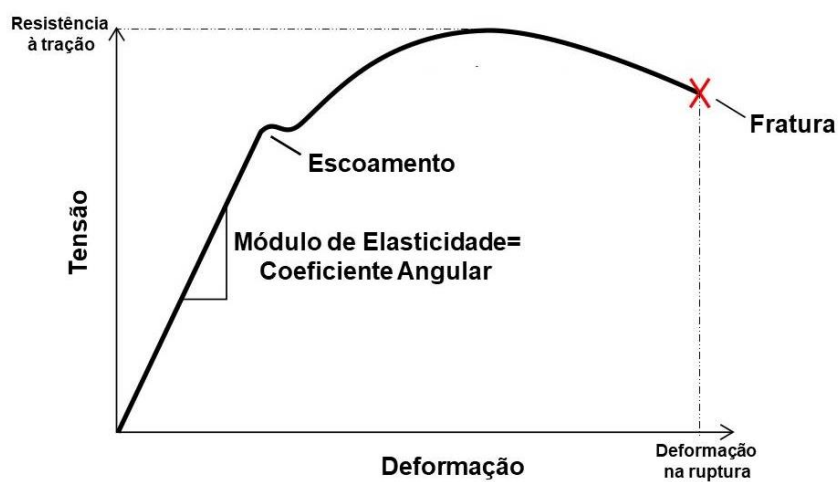


FIGURA 3.5- Representação de uma curva típica de tensão *versus* deformação durante ensaio de tração de filmes poliméricos (Modificado de Truesdell et al. [76]).

## CÁPITULO IV

### 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira etapa do trabalho foi feita visando à determinação do grau de metoxilação da pectina a ser utilizada na elaboração dos filmes e as melhores condições para o desenvolvimento dos nanocompósitos à base de pectina e nanofibras de celulose funcionalizadas. Assim sendo, foi investigado o efeito da i) cationização (adição nucleofílica do GTMAC) e da ii) oxidação (mediada pelo radical TEMPO) das NFC; esta última foi feita para efeito de comparação uma vez que já possui sua forma de atuação bastante elucidada pela literatura [15,55]. Avaliaram-se, também, iii) o grau de cationização das NFC, ou seja, o efeito da variação na proporção entre o reagente de cationização e os resíduos de glicose, assim como a iv) quantidade de NFC adicionada na composição dos filmes e a v) metodologia de dispersão das NFC. Foram testadas duas biomassas, relevantes no contexto da bioeconomia brasileira, como fontes de nanofibras de celulose, a saber: bagaço de cana-de-açúcar e polpa de eucalipto. Vale ressaltar que os critérios utilizados para a avaliação de tais fatores nesta etapa exploratória foram os testes mecânicos, uma vez que se desejava, com a adição de NFC, a melhoria da resistência à tração, alongação na ruptura e do módulo de elasticidade dos nanocompósitos [53].

#### 4.1- Análise do potencial Zeta em função do pH das pectinas AGM e BGM

O potencial Zeta descreve a magnitude de cargas elétricas formadas na interface entre uma partícula coloidal e seu meio dispersante, sua medida é feita de acordo com a mobilidade eletroforética das partículas em suspensão [77]. A FIGURA 4.1 mostra as curvas dos potenciais Zeta em função do pH para pectinas AGM e BGM.

Observa-se que, para ambos os casos, com o aumento do pH, o potencial Zeta torna-se mais negativo até alcançar um *plateau* em pH próximo de 6. Em pH próximo ao 1, verifica-se o ponto isoelétrico das pectinas, ou seja, onde a quantidade de cargas negativas e positivas são equivalentes.

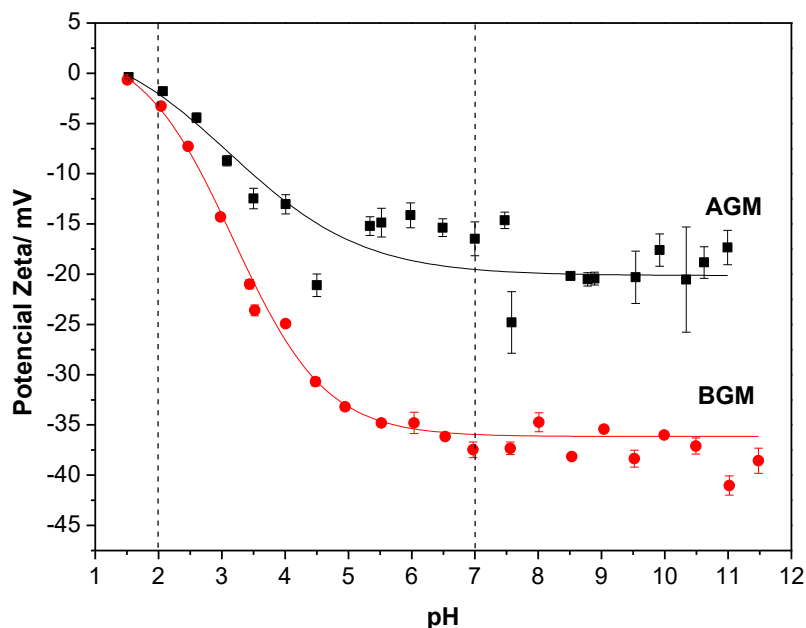


FIGURA 4.1. Curvas dos potenciais Zeta em função do pH para as pectinas de alto grau de metoxilação (AGM) e de baixo grau de metoxilação (BGM).

Desta forma, tem-se que após o pH 6, as pectinas adquirem a maior quantidade de cargas negativas, o que favorece as interações eletrostáticas. A pectina BGM apresentou maior quantidade de cargas negativas do que a de AGM por toda faixa analisada; isto ocorre uma vez que a pectina de BGM exibe maior quantidade de hidroxilas, as quais são desprotonadas com o aumento do pH e, conseqüentemente, proporcionam maior quantidade de cargas negativas ao sistema. Tendo em vista que o reforço mecânico em compósitos se dá pela interação entre a matriz e o reforço adicionado [42], optou-se pela utilização da pectina BGM na formulação dos filmes nanocompósitos. Isto, porque se tem o intuito de promover interações eletrostáticas entre a matriz polimérica e as NFC funcionalizadas, além das ligações de hidrogênio, interações de van der Waals, empilhamento  $\pi$ - $\pi$ , entre outras. Vale ressaltar que a disponibilidade das cargas superficiais em função do pH foi utilizada para a promoção de interações eletrostáticas entre a matriz de pectina e as NFC funcionalizadas com grupos iônicos. Assim, antes da adição das NFC no meio contínuo, o pH foi ajustado para próximo de 2, a fim de se ter potenciais próximos da neutralidade, evitando a aglomeração instantânea das NFC. Após a dispersão das nanofibras pelo sistema, variou-se o pH para valores acima de 7, já que nestas regiões se tem os menores valores de potencial Zeta, o que deve favorecer as interações eletrostáticas entre a pectina e as NFC [58].

## 4.2- Testes exploratórios dos filmes nanocompósitos à base de pectina e NFC

### 4.2.1- Filmes nanocompósitos de pectina e NFC de bagaço de cana-de-açúcar

As imagens digitais dos filmes nanocompósitos contendo NFC advindas do bagaço de cana-de-açúcar são mostrados na FIGURA 4.2 e suas respectivas microscopias óticas na FIGURA 4.3.

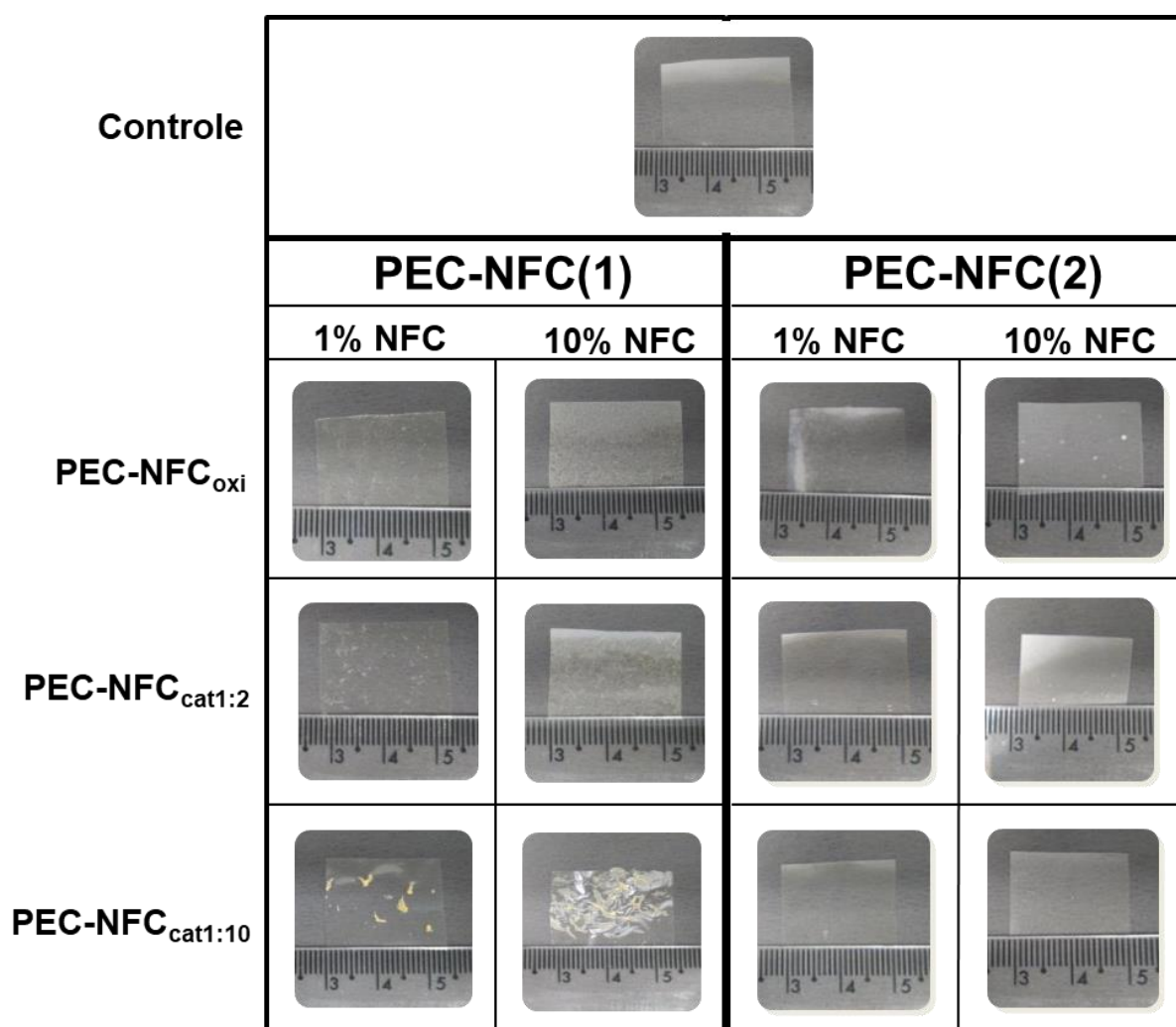


FIGURA 4.2- Imagens dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar produzidos por duas metodologias distintas.



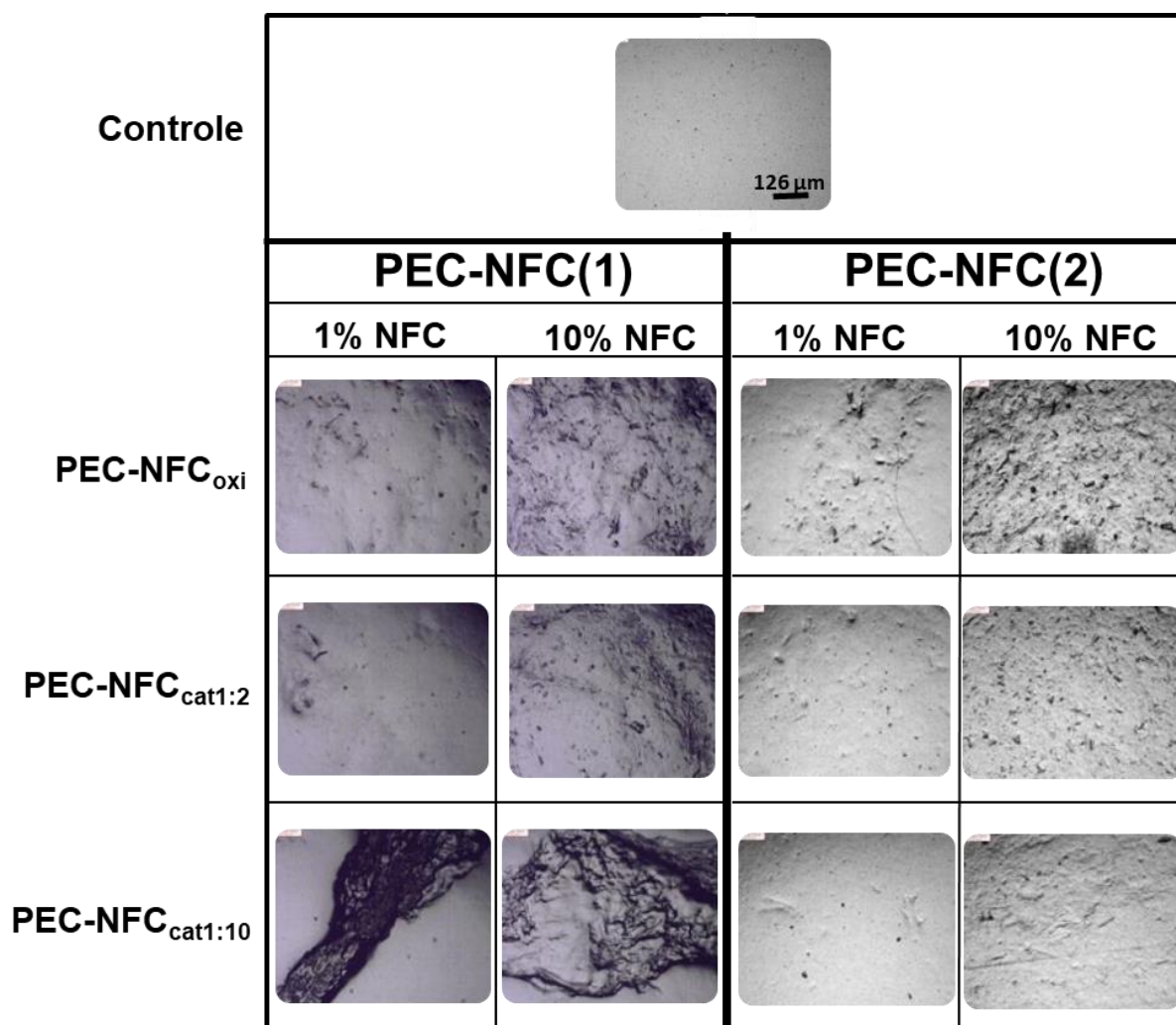


FIGURA 4.3- Imagens de microscopia ótica dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar produzidos por duas metodologias distintas. Aumento de 4 vezes.

Os filmes produzidos pela primeira metodologia (PEC-NFC (1)), mostraram que o filme de pectina pura apresenta uma homogeneidade de longo alcance, o que não ocorre nos filmes com adição de NFC. Nota-se que, quanto maior a quantidade de NFC adicionada (imagens na horizontal), maior a ocorrência de aglomerados de NFC. Os filmes contendo NFC<sub>oxi</sub> e NFC<sub>cat1:2</sub> apresentam aspectos superficiais semelhantes, indicando que a modificação utilizada não interferiu na morfologia dos nanocompósitos. Em relação ao grau de cationização das NFC (imagens na vertical), a proporção 1:10 apresentou aglomerados macroscópicos e significativamente maiores que no caso da proporção 1:2, provavelmente devido à quantidade relativamente alta de cargas positivas que promoveu maior interação entre as nanoestruturas, o que dificultou sua dispersão pela matriz polimérica.

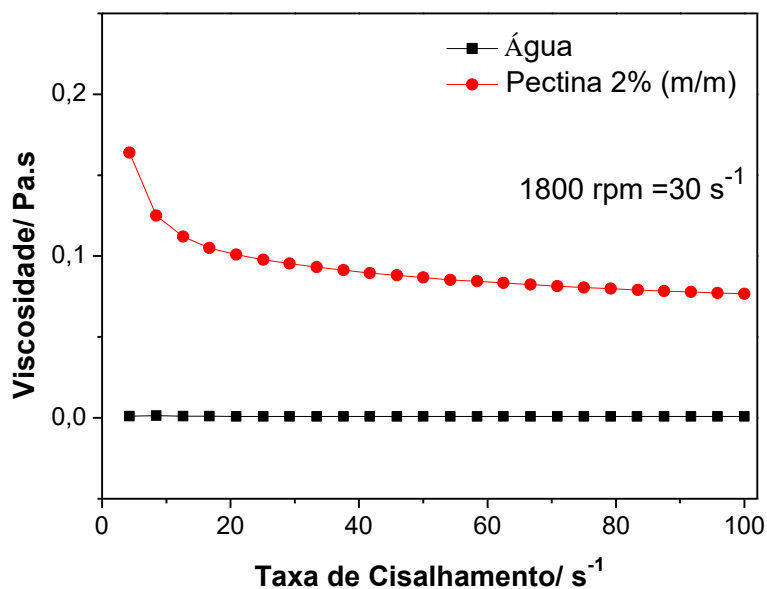
No caso dos filmes produzidos pela segunda metodologia (PEC-NFC (2)), as imagens mostraram superfícies mais homogêneas quando comparado aos filmes PEC-NFC (1). O tipo de modificação e a quantidade de NFC adicionada não afetou a morfologia dos filmes como observado no caso anterior. Desta forma, tem-se que a segunda metodologia apresentou-se mais eficiente na dispersão das NFC, já que, aparentemente, os filmes apresentaram uma homogeneidade considerável.

A diferença entre as duas metodologias está na fase contínua em que a adição das NFC ocorreu, que, provavelmente, interferiu na dispersão das mesmas. No caso dos filmes PEC-NFC (1), as NFC foram adicionadas em uma suspensão aquosa de pectina; já nos filmes PEC-NFC (2), a adição foi feita em água antes da adição da pectina. Sabendo que a viscosidade é um dos fatores que diferencia as duas fases contínuas, tem-se que a energia necessária para a promoção da dispersão das nanoestruturas está intimamente relacionada com a resistência causada por estas fases.

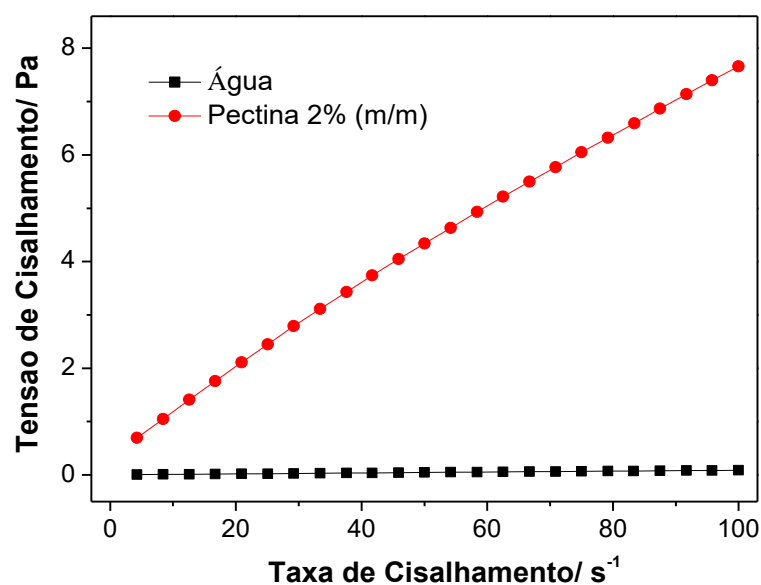
Considerando que o modo de agitação foi o mesmo para ambos os casos (ca. 1800 rpm), a adição das NFC em suspensão aquosa de pectina não propiciou uma boa dispersão das mesmas, visto que a presença de macromoléculas fez com que a resistência ao escoamento aumentasse, devido à fricção interna e ao enovelamento das cadeias poliméricas [79]. Desta maneira, a adição das NFC em água necessitou de um gasto energético menor para sua dispersão, o que favoreceu a formação de filmes mais homogêneos e sem aglomerados macroscópicos. A fim de se verificar tal afirmação, foi feito testes de reometria rotacional com as duas fases contínuas (FIGURA 4.4).

Nota-se que a suspensão aquosa de pectina exibe uma viscosidade maior que a da água por toda faixa analisada (FIGURA 4.4 (a)); tem-se, também, que no início da medida, a suspensão de pectina apresenta um perfil decrescente, devido ao desenovelamento e alinhamento das cadeias poliméricas em direção ao fluxo [58]. Entretanto, a água apresenta um comportamento Newtoniano, já que sua viscosidade independe da taxa de cisalhamento. As curvas que relacionam a tensão com a taxa de cisalhamento (FIGURA 4.4 (b)) mostram que as tensões de cisalhamento da dispersão de pectina são maiores que a água, uma vez que as macromoléculas exibem movimentos rotacionais e translacionais, que causam atritos entre suas cadeias e as moléculas de solvente, provocando o aumento de sua viscosidade em relação ao solvente puro [79]. Sendo assim, tem-se que a baixa dispersão das NFC

quando adicionadas na suspensão péctica é causada pela resistência à dispersão provocada pelas macromoléculas, que dificulta sua movimentação e homogeneização pelo sistema.



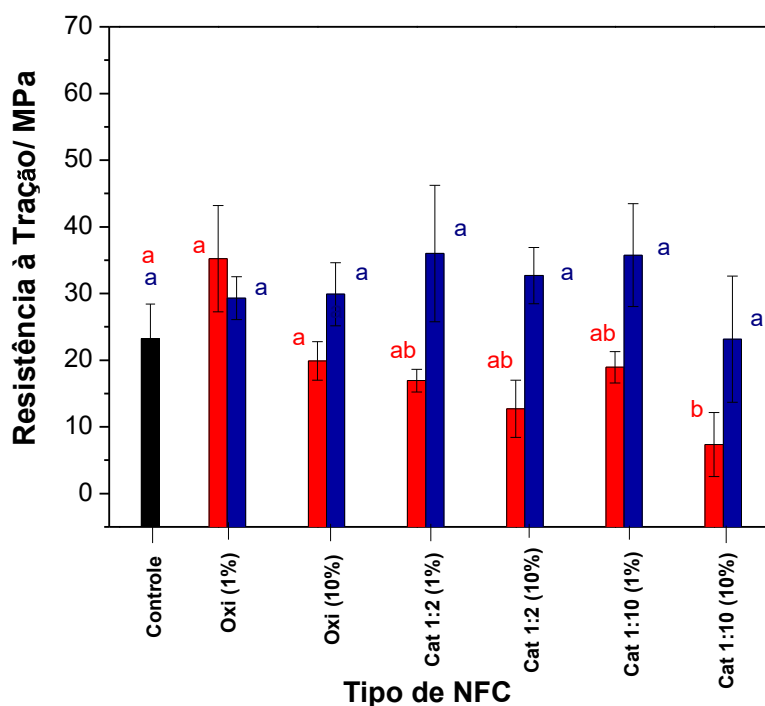
(a)



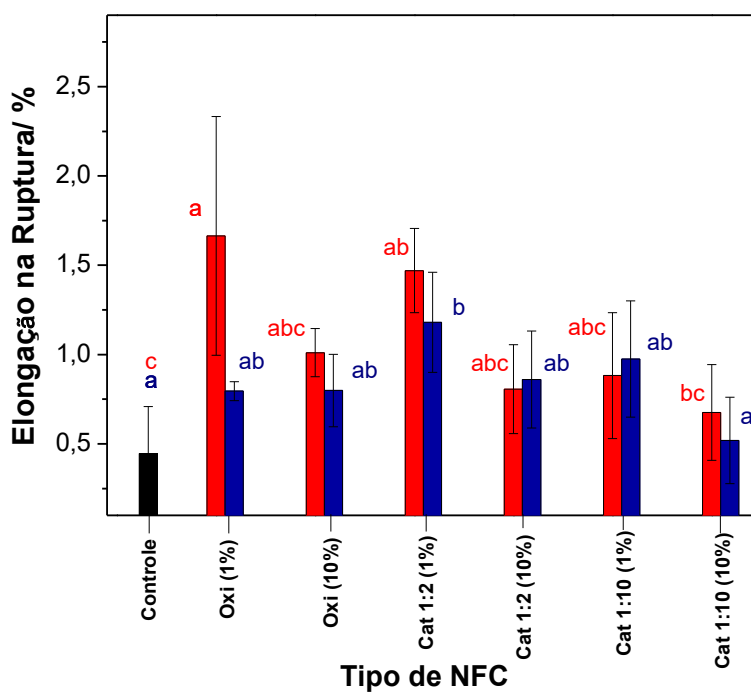
(b)

FIGURA 4.4- Curvas reológicas da água e da suspensão aquosa de pectina, sendo (a) viscosidade em função da taxa de cisalhamento e (b) tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento.

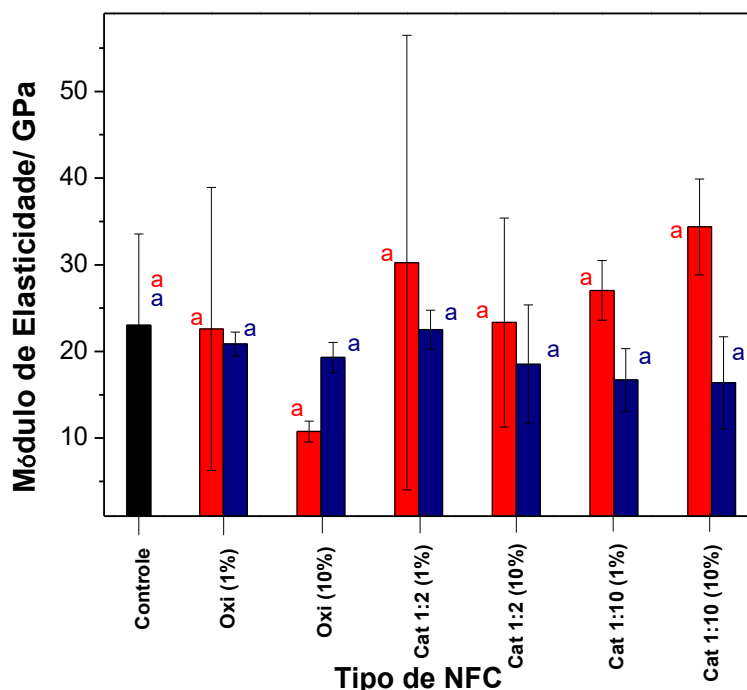
As curvas de tensão-deformação permitem a obtenção dos valores de  $\sigma_{\text{máx}}$ ,  $\epsilon_{\text{rup}}$  e  $E$ , os quais são mostrados na FIGURA 4.5.



(a)



(b)



(c)

FIGURA 4.5. Valores de (a) resistência à tração, (b) alongação na ruptura e (c) módulo de elasticidade de filmes à base de pectina e adicionados de diferentes tipos de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar. Os sobrescritos <sup>abc</sup> denotam significância do desvio padrão das medidas, sendo que letras iguais indicam valores que não são diferentes ( $p > 0,05$ ).

Legenda: ■ PEC-NFC (1) e ■ PEC-NFC (2).

De forma geral, observa-se que os valores de  $\sigma_{\text{máx}}$  (FIGURA 4.5 (a)) dos filmes nanocompósitos não foram estatisticamente diferentes ao do filme de pectina pura. Tendo em vista o tipo de funcionalização das NFC, os nanocompósitos contendo NFC oxidadas apresentaram uma tendência a terem desempenho mecânico superior às cationizadas. Atribui-se esta observação à repulsão eletrostática entre as cargas negativas das NFC oxidadas com aquelas da matriz pectínica, evitando a formação de aglomerados e, assim, favorecendo uma melhor dispersão das nanoestruturas pela matriz de pectina [80]. Por outro lado, os filmes PEC-NFC (2) tiveram valores de  $\sigma_{\text{máx}}$  maiores que os dos filmes produzidos pela primeira metodologia, o que pode estar relacionado com a baixa dispersão das NFC na fase contínua, o que favorece a formação de agregados e estes atuam como pontos de concentração de tensão mecânica, prejudicando o desempenho dos filmes sob tração. Nota-se, também, que

o grau de cationização e a quantidade de NFC adicionada na matriz não influenciaram significativamente o comportamento mecânico dos sistemas, o que seria uma indicação da baixa dispersão das NFC.

Tendo em vista tais observações, as interações eletrostáticas não se mostraram como um fator relevante na interação entre a matriz polimérica e o nanoreforço, uma vez que com o aumento do grau de cationização gera maior disposição de cargas positivas na superfície das NFC, o que deveria favorecer a interação entre a celulose e a pectina e, conseqüentemente, tornar o material mais resistente. Supõe-se que os nanocompósitos, quando dispersos em meio aquoso, podem ter apresentado interações eletrostática significativas com a protonação/desprotonação dos grupos funcionais do sistema; no entanto, no material sólido, tal efeito não foi observado já que as duplas camadas elétricas, formadas pela disposição de cargas, são forçadas a se sobreporem até que não houvesse umidade suficiente para ocorrer a protonação/desprotonação de tais grupamentos [81].

Em relação à metodologia de produção dos filmes, os filmes PEC-NFC (2) tiveram valores de  $\sigma_{\text{máx}}$  maiores que os dos filmes PEC-NFC (1), indicando que a dispersão das NFC é um fator que está intimamente relacionado com o comportamento mecânico do material, como observado pelas imagens de microscopia ótica. Tendo em vista a tendência observada, o desenvolvimento de uma metodologia de preparação que aumente a dispersão das NFC poderia fazer com que os filmes nanocompósitos tivessem um melhor desempenho mecânico [42]. Saha et al. [82] sugerem que a aglomeração das nanopartículas diminua a disponibilidade dos grupos hidroxilas, minimizando as ligações de hidrogênio responsáveis pela formação da rede tridimensional interconectada, o que desfavorece o efeito de reforço ocasionado pela adição de NFC.

Os valores de  $\epsilon_{\text{rup}}$  dos nanocompósitos (FIGURA 4.5 (b)) apresentam uma tendência a serem maiores que o do filme controle. Este comportamento pode ser justificado devido ao caráter negativo das cargas da matriz de pectina, uma vez que o sistema teve o pH ajustado para a região onde a pectina apresenta potenciais Zeta negativos, favorecendo a absorção de água pelos filmes nanocompósitos; esta, por sua vez, atua como plastificante permitindo que as cadeia poliméricas tenham maior mobilidade e, conseqüentemente, maiores elongações [83]. Vale ressaltar, que a aglomeração das NFC faz com que haja menos partículas interagindo com a matriz polimérica, favorecendo com que esta esteja livre para interagir com a água [82]. Em

relação ao tipo de funcionalização, grau cationização, composição dos filmes e metodologia utilizada, os valores de  $\epsilon_{rup}$  não apresentaram diferenças significativas entre si, com exceção ao caso do filme contendo NFC<sub>oxi(1%)</sub>, o qual apresenta um valor bastante elevado; entretanto, o mesmo apresenta um grande desvio padrão, o que não faz seu comportamento ser de grande relevância.

Os valores de E (FIGURA 4.5 (c)) dos filmes nanocompósitos não mostraram diferenças significativas em relação ao da pectina pura, indicando que a presença das NFC não interferiu na elasticidade do material. Sabendo que a elasticidade é determinada pelas regiões cristalinas [84] e que as NFC, aparentemente, não interagiram de forma eficiente com a matriz polimérica, era de se esperar que não houvesse mudança no caráter elástico do material.

Assim, tem-se que a incorporação das NFC na matriz pectínica não prejudicou seu desempenho mecânico e proporcionou uma maior alongação aos nanocompósitos, o que pode ser de grande interesse dependendo de sua aplicação.

#### **4.2.2- Filmes nanocompósitos de pectina e NFC de polpa de eucalipto**

As imagens dos nanocompósitos produzidos com NFC oriundas da polpa de eucalipto são mostradas na FIGURA 4.6 e as respectivas microscopias óticas são mostradas na FIGURA 4.7. Os filmes obtidos a partir de NFC oriundas de polpa de eucalipto apresentaram-se mais homogêneas que no caso dos filmes contendo NFC de bagaço da cana, uma vez que não apresentam aglomerados macroscópicos. Vale ressaltar que as propriedades da celulose estão intimamente relacionadas com a fonte de obtenção [48], o que justifica a mudança de comportamento.

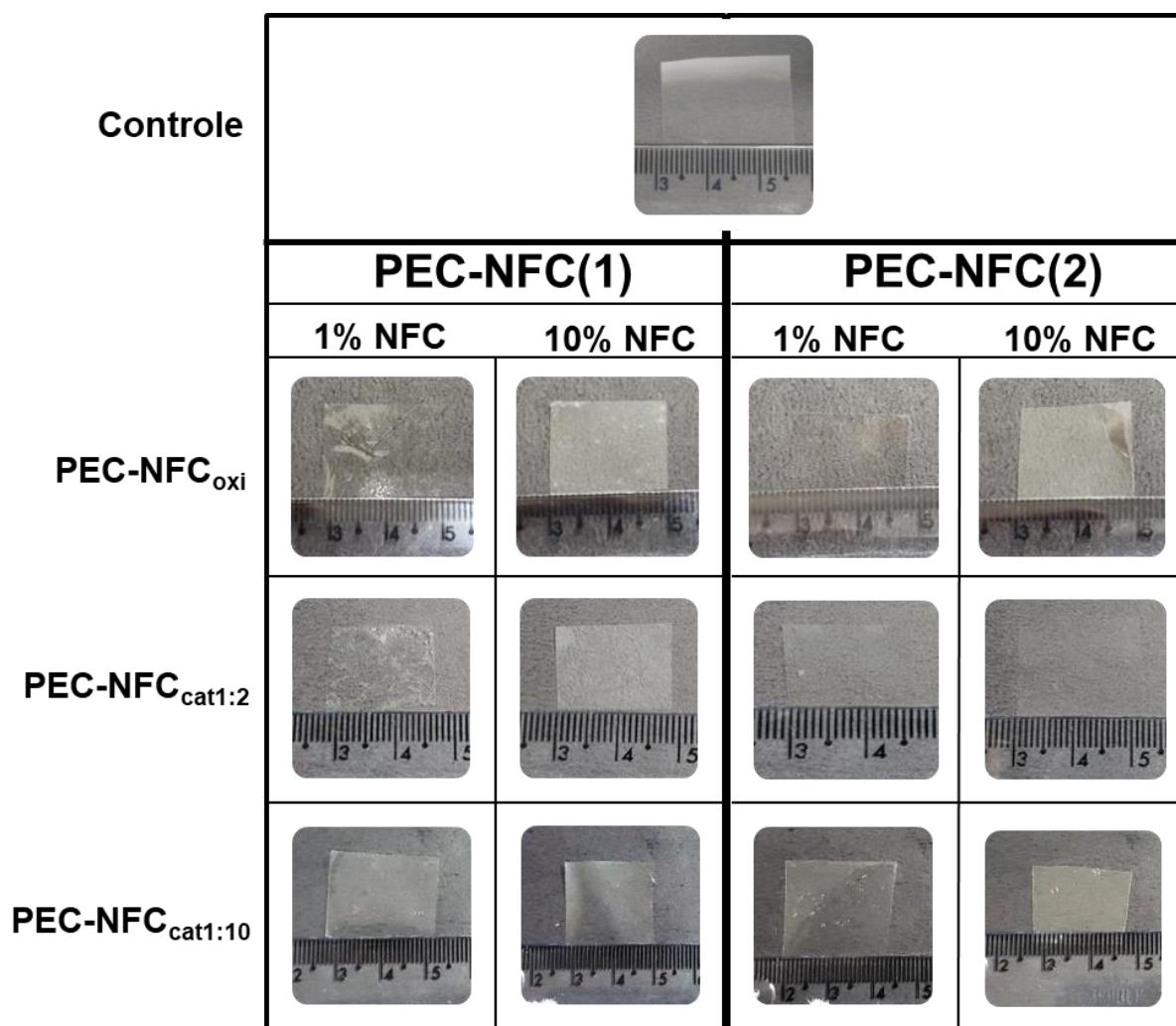


FIGURA 4.6- Imagens dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de polpa de eucalipto produzidos por duas metodologias distintas.

Em relação às imagens de microscopia ótica, nota-se que os filmes contendo 10% de NFC exibem um aspecto menos homogêneo devido à aglomeração microscópicas das NFC. Por outro lado, os filmes PEC-NFC (2) exibem um aspecto mais homogêneo que no caso dos filmes PEC-NFC (1), o que está relacionado com a dispersão das NFC e a viscosidade do meio contínuo, como já discutido nas análises de reometria rotacional na seção 4.1.3.1 (FIGURA 4.4).

Em relação ao tipo de funcionalização, observou-se que os filmes contendo NFC oxidadas tendem a formarem mais aglomerados que os contendo NFC cationizadas; isto pode ser explicado pela diminuição das forças repulsivas com a matriz polimérica negativamente carregada [85].



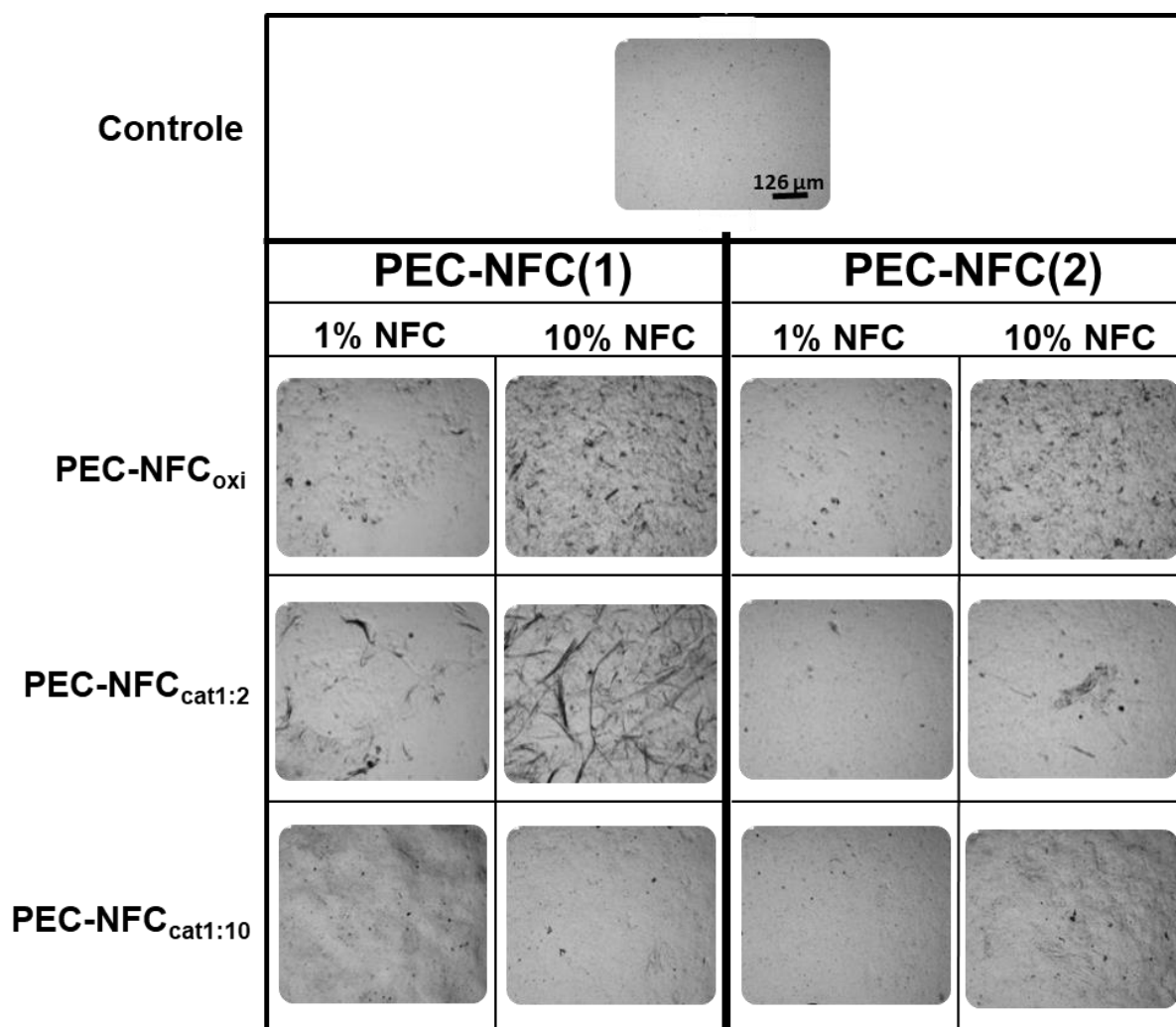
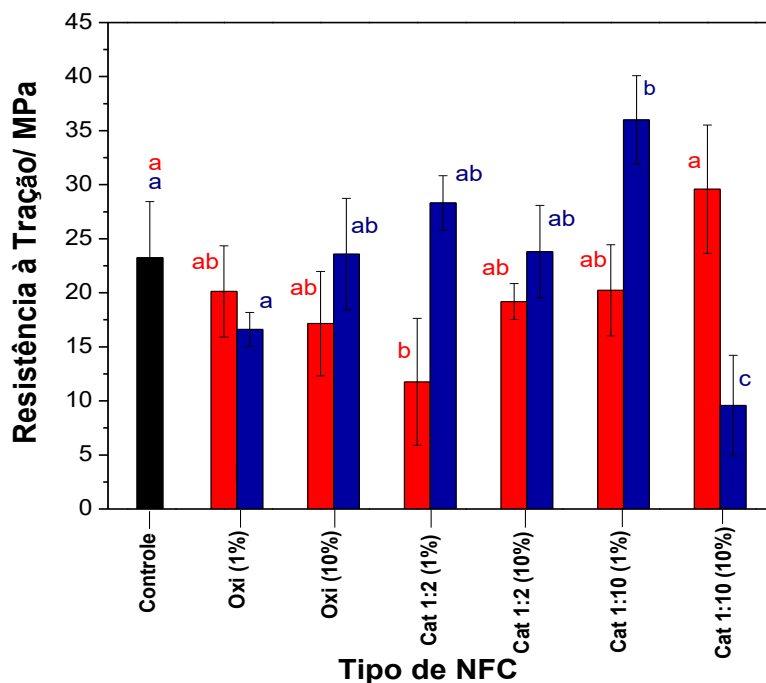


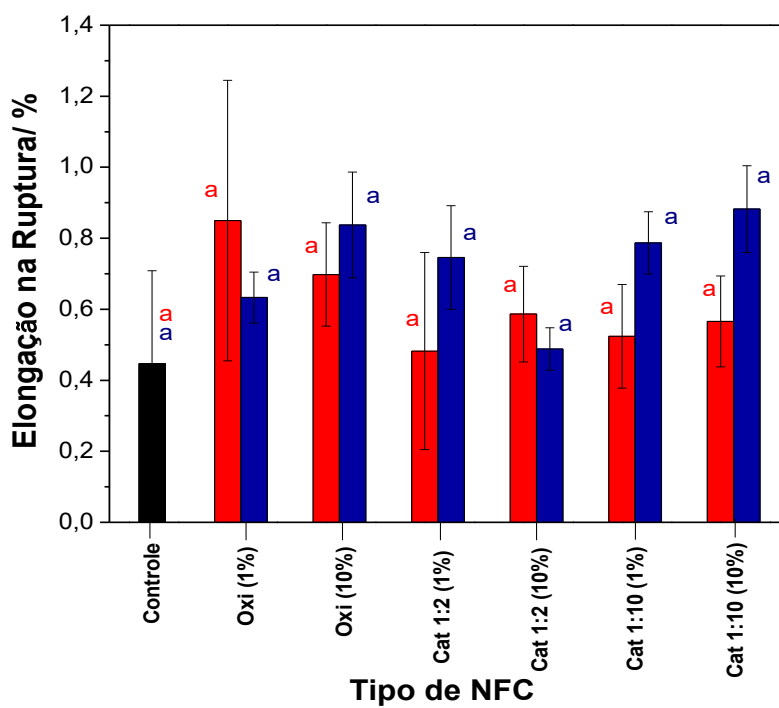
FIGURA 4.7- Imagens de microscopia ótica dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de polpa de eucalipto produzidos por duas metodologias distintas. Aumento de 4 vezes.

Já em relação ao grau de cationização, não foram observadas diferenças significativas entre si, a não ser pelo filme PEC-NFC<sub>cat1:2</sub> (10%), que aparentou uma baixa dispersão das NFC durante sua preparação.

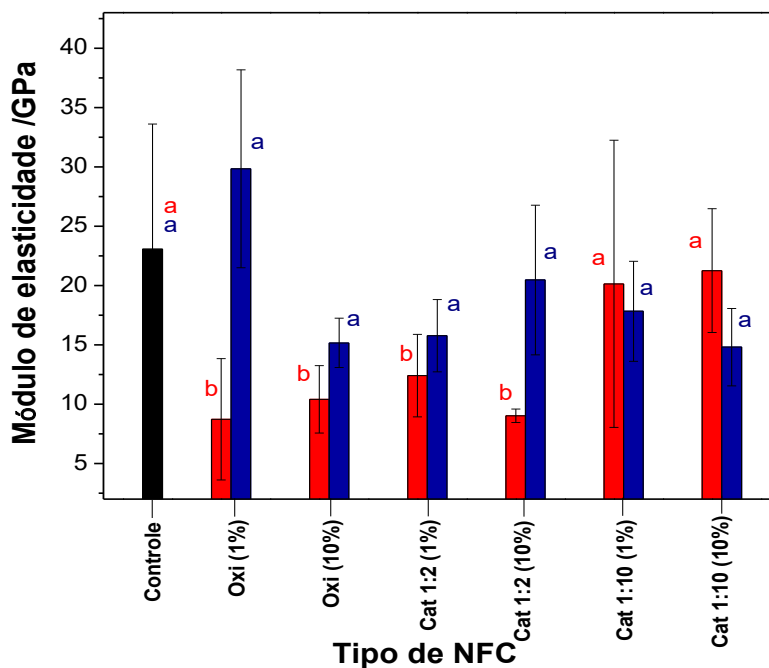
Os ensaios de tração uniaxial foram feitos a fim de avaliar a influência das NFC no desempenho mecânico dos filmes; os valores de  $\sigma_{\text{máx}}$ ,  $\epsilon_{\text{rup}}$  e do E são mostrados na FIGURA 4.8.



(a)



(b)



(c)

FIGURA 4.8. Valores de (a) resistência à tração, (b) alongação na ruptura e (c) módulo de elasticidade de filmes à base de pectina e adicionados de diferentes tipos de nanofibras de celulose de polpa de eucalipto. Os sobrescritos <sup>abc</sup> denotam significância do desvio padrão das medidas, sendo que letras iguais indicam valores que não são diferentes ( $p > 0,05$ ).

Legenda: ■ PEC-NFC (1) e ■ PEC-NFC (2).

De forma geral, observa-se que os valores de  $\sigma_{\text{máx}}$  (FIGURA 4.8 (a)) dos nanocompósitos não foram significativamente diferentes que o do filme de pectina pura. Os filmes PEC-NFC (1) apresentaram valores de  $\sigma_{\text{máx}}$  iguais ou inferiores aos filmes PEC-NFC (2); exceto para os filmes contendo  $\text{NFC}_{\text{cat}1:10}$  (10%), que apresentou maior resistência que o mesmo filme produzido pela metodologia (2). Em relação ao tipo de funcionalização, quantidade de NFC adicionada e grau de cationização, não foi observado influência significativa na  $\sigma_{\text{máx}}$ , indicando que não ocorreu interações adicionais entre a pectina e as NFC, como as interações eletrostáticas. Outro fator que tem efeito direto no desempenho mecânico de nanocompósitos é a dispersão das nanofibras pela matriz polimérica, já que a aglomeração das mesmas atua como defeitos e pontos de concentração de tensão, favorecendo a formação e a propagação de trincas [86]. Como salientado anteriormente, a promoção de uma melhor dispersão

das NFC favorece as propriedades mecânicas dos filmes, como a resistência à tração [42].

Os valores de  $\epsilon_{rup}$  (FIGURA 4.8 (b)) dos nanocompósitos apresentaram um aumento em relação ao filme controle, o que é de grande relevância em aplicações como embalagens; isto ocorre, uma vez que o caráter negativo do potencial Zeta da matriz polimérica favorece a absorção de água, a qual se comporta como plastificante. Nota-se, também, que os valores de  $\epsilon_{rup}$  não são significativamente diferentes entre si.

Os valores de E (FIGURA 4.8 (c)) dos filmes nanocompósitos não mostraram diferenças significativas em relação ao da pectina pura, exceto os filmes PEC-NFC (1) contendo NFC oxidada e cationizada 1:2. No entanto, tem-se que presença das NFC não interferiu na elasticidade do material, uma vez que não foi observada uma tendência nos valores do E em relação ao tipo de funcionalização e a quantidade de NFC adicionada. Como mencionado anteriormente, o aumento da elasticidade de materiais compósitos está associado às regiões cristalinas [84], mostrando que, aparentemente, a matriz de pectina não interagiu de forma eficiente com as NFC.

De forma geral, tem-se se que o comportamento mecânico dos nanocompósitos oriundos de NFC da polpa de eucalipto exibiu a mesma tendência observada para os que continha NFC advindas da cana-de-açúcar. Portanto, a mudança de fonte celulósica não deve prejudicar o desenvolvimento e a aplicação dos filmes em questão.

Tendo em vista que o grau de cationização não influenciou nas características mecânicas dos nanocompósitos, optou-se por trabalhar com as NFC cationizadas na proporção de 1:5. Segundo Li et al. [80], o baixo grau de funcionalização das NFC limita a quantidade de grupos iônicos na estrutura celulósica, o que promove uma interação interfacial relativamente baixa entre a matriz polimérica e o agente de reforço. Desta forma, quando o material sofre aplicação de força externa, ocorre uma concentração de tensão na região interfacial, o que induz a formação de defeitos e a diminuição da resistência mecânica do nanocompósito - efeito não observado aqui. Por outro lado, o alto grau de cationização (1:10) requer o uso de uma grande quantidade do reagente GTMAC, o qual tem um custo relativamente alto. Assim, a decisão de se trabalhar com um grau de cationização mediano, visou auxiliar na redução do número de variáveis do sistema estudado, o

que deve ajudar a focar no entendimento do modo de ação das NFC na matriz de pectina.

Vale lembrar que a produção de nanocompósitos contendo NFC oxidada é feita para analisar o efeito da natureza das cargas nos sistemas estudados, uma vez que há na literatura [15,55] muitos trabalhos abordando o uso de nanofibras oxidadas na produção de materiais biodegradáveis.

### 4.3- Caracterização das NFC de polpa de eucalipto

#### 4.3.1- Determinação do grau de substituição das NFC funcionalizadas

A substituição das hidroxilas por aminas quaternárias (NFC cationizadas) ou carboxilas (NFC oxidadas) tem como objetivo promover interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio entre a matriz de pectina e as nanofibras funcionalizadas, o que tornaria a interação dos dois compostos mais forte e, como resultado, melhores propriedades físico-químicas.

##### 4.3.1.1- NFC oxidadas: titulação condutimétrica

Para o caso das NFC<sub>oxi</sub>, o GS foi determinado a partir da curva de titulação condutimétrica, a qual é mostrada na FIGURA 4.9.

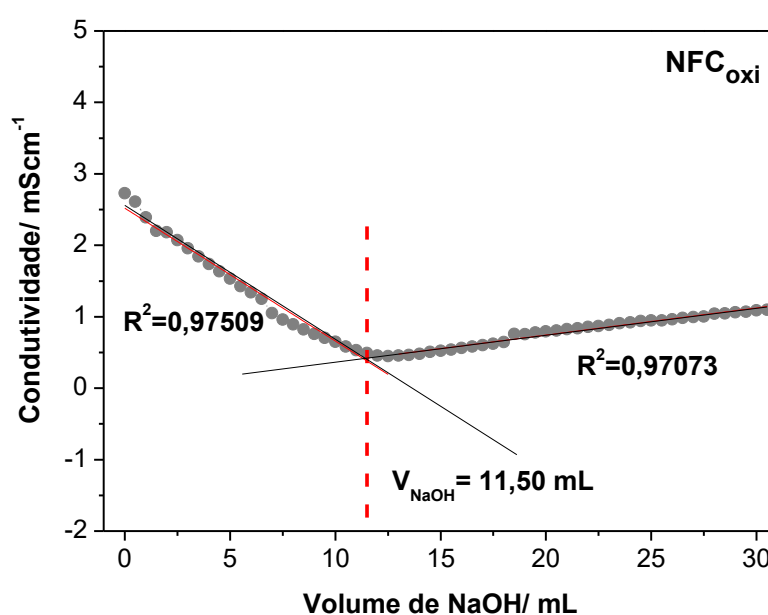


FIGURA 4.9- Curva de titulação condutimétrica das nanofibras de celulose oxidadas.

A curva obtida para as NFC oxidadas apresenta dois comportamentos. Inicialmente, observa-se um comportamento decrescente, o qual corresponde à neutralização do HCl e dos grupos carboxilatos das NFC oxidadas; posteriormente, tem-se o comportamento crescente da curva que condiz com o excesso de NaOH na suspensão [87]. A determinação do volume de NaOH no ponto final é obtido no ponto em que ocorre a descontinuação da curva, onde praticamente não há íons livres na suspensão; o volume encontrado é utilizado para o cálculo do GS a partir da EQUAÇÃO 3.1. Assim, tem-se que o GS para as NFC oxidadas é de 11,5% (cerca de 11,5% das hidroxilas estão oxidadas) que corresponde a uma densidade de cargas de 0,72 mmol g<sup>-1</sup>.

#### 4.3.1.2- NFC cationizadas: análise elementar

A determinação do GS das NFC cationizadas com aminas quaternárias foi feita pela contagem de nitrogênio presente na amostra. Desta forma, o GS das NFC<sub>cat1:5</sub> foi de 21,4% que corresponde a uma densidade de cargas de 1,3 mmol g<sup>-1</sup>.

#### 4.3.2- Potencial Zeta das NFC

A TABELA 4.1 mostra os valores do potencial Zeta das NFC utilizadas na produção dos nanocompósitos. As medidas foram feitas no pH de interesse (pH=7), já que as dispersões filmogênicas são ajustadas para este pH. Segundo Prathapan et al. [88], a nanocelulose apresenta pouca variação do potencial Zeta no intervalo de pH entre 2 e 10 devido ao seu baixo pK<sub>a</sub> (pK<sub>a</sub>=1,9), sendo que uma redução considerável do potencial Zeta, em módulo, é observada em pH abaixo de 1.

TABELA 4.1- Potencial Zeta das nanofibras de celulose em meio aquoso e pH 7.

<i>Tipo de NFC</i>	<i>Potencial Zeta/ mV (pH 7)</i>
NFC	-13 ± 0,3
NFC <sub>oxi</sub>	-25 ± 2
NFC <sub>cat 1:5</sub>	49 ± 1

As NFC sem modificação apresentaram potencial Zeta de -13 mV, o que não era esperado já que dados da literatura mostram que microfibras de celulose exibem potenciais Zeta próximos de zero. No entanto, o processo de microfluidização promove o rompimento da estrutura fibrilada da celulose de forma a expor os

grupamentos carboxilas advindos da hemicelulose residual, o que explica o aparecimento da carga líquida negativa [89]. Tendo em vista que o potencial Zeta é definido pelos grupos funcionais presentes na superfície das NFC, tem-se que a funcionalização das mesmas deve propiciar a variação de tais valores. A partir dos valores obtidos, tem-se que em as NFC<sub>oxi</sub> apresentaram potenciais Zeta com valores mais negativos, depois do processo de oxidação [90], já que a inserção de carboxilas diminui o  $pK_a$  das nanofibras funcionalizadas.

Já as NFC<sub>cat1:5</sub> mostraram uma reversão de cargas as quais variaram de -13 mV para 49 mV, o que deve intensificar as interações eletrostáticas com a matriz de pectina negativamente carregada. Assim, a partir do GS calculado previamente e a variação do potencial Zeta das NFC, constata-se que houve a funcionalização superficial das cadeias celulósicas [91].

A medida do potencial Zeta é uma forma de avaliar a estabilidade das suspensões de NFC dado que, valores acima de 30 mV em magnitude, há o favorecimento das forças repulsivas entre as nanofibras prevenindo sua agregação [92]. Logo, a funcionalização das NFC, além de introduzir cargas na estrutura celulósica, propicia a formação de uma dispersão estável o que deve ser refletida nas propriedades finais dos nanocompósitos. Diante disso, as NFC<sub>cat1:5</sub> devem apresentar uma estabilidade considerável, quando dispersas em meio aquoso, já que exibem potencial Zeta superior a +30 mV devido às repulsões eletrostáticas promovida pelas aminas quaternárias, o que deve propiciar uma dispersão mais homogênea na matriz polimérica. Isto ocorre já que o amônio quaternário faz com que as NFC cationizadas com GTMAC se comportem como uma polieletrólito forte, as quais sempre estarão protonadas independente do pH do sistema; já a pectina e as NFC oxidadas com TEMPO, apresentam um comportamento de um polieletrólito fraco pois estarão desprotonadas apenas em pH acima de seus  $pK_a$  [78].

### **4.3.3- Determinação do tamanho hidrodinâmico das NFC**

A técnica DLS permite a medida dos tamanhos hidrodinâmicos de partículas em suspensão; assim, esta técnica foi utilizada para observar-se a tendência de aglomeração das NFC e verificar sua estabilidade quando suspensas em meio aquoso [86]. A TABELA 4.2 mostra os valores dos tamanhos hidrodinâmicos das nanofibras em suspensão; na TABELA 4.3 são apresentados os coeficientes de polidispersividade (IPd), o qual indica quão larga é a distribuição de tamanhos da

amostra analisada. Valores de IPd próximos de 0,3 sugerem um sistema bastante homogêneo, ou monomodal, enquanto valores próximos de 1 indicam baixa homogeneidade [93].

TABELA 4.2- Tamanhos hidrodinâmicos das nanofibras de celulose em suspensão aquosa.

<b><i>Tipo de NFC</i></b>	<b><i>Tamanho hidrodinâmico/ nm</i></b>
NFC	2040 ± 487
NFC <sub>oxi</sub>	3036 ± 803
NFC <sub>cat 1:5</sub>	1088 ± 226

TABELA 4.3- Coeficientes de polidispersividade das nanofibras de celulose em suspensão aquosa.

<b><i>Tipo de NFC</i></b>	<b><i>Coeficiente de polidispersividade</i></b>
NFC	0,5 ± 0,3
NFC <sub>oxi</sub>	1 ± 0
NFC <sub>cat 1:5</sub>	0,98 ± 0,03

Observa-se que as NFC<sub>cat1:5</sub> apresentam os menores tamanhos comparados às demais NFC; isto ocorre uma vez que tais nanofibras possuem forças repulsivas que desfavorecem sua aglomeração e, conseqüentemente, geram dispersões mais estáveis.

No caso das NFC e das NFC<sub>oxi</sub>, as forças atrativas são favorecidas a ponto de promoverem certa agregação das nanoestruturas, corroborando com as análises de potencial Zeta. O caso das NFC e das NFC<sub>oxi</sub>, as nanofibras não funcionalizadas tendem a terem menor agregação, o que pode ser justificado pelo seu potencial Zeta mais próximo da neutralidade [82]. Em relação aos IPd, tem-se que as NFC sem modificação e as NFC<sub>oxi</sub> apresentam uma suspensão mais homogênea que no caso das NFC<sub>cat1:5</sub>; isto, pode ser consequência da presença de aglomerados maiores na dispersão que provoca o um aumento na distribuição dos tamanhos das partículas.



#### 4.3.4- Morfologia das NFC

As dispersões de NFC cationizadas obtidas exibem um aspecto de gel esbranquiçado (FIGURA 4.10 (a)), e quando são liofilizadas seu aspecto é mais parecido com os das fibras (FIGURA 4.10 (b)); isto, porque a remoção da água, que é feita pela passagem do estado sólido para o vapor, promove a formação de poros.



FIGURA 4.10- Imagens da (a) suspensão de nanofibras de celulose e (b) das nanofibras de celulose secas.

A morfologia das NFC foi analisada pelas imagens obtidas por MEV como mostrada na FIGURA 4.11.

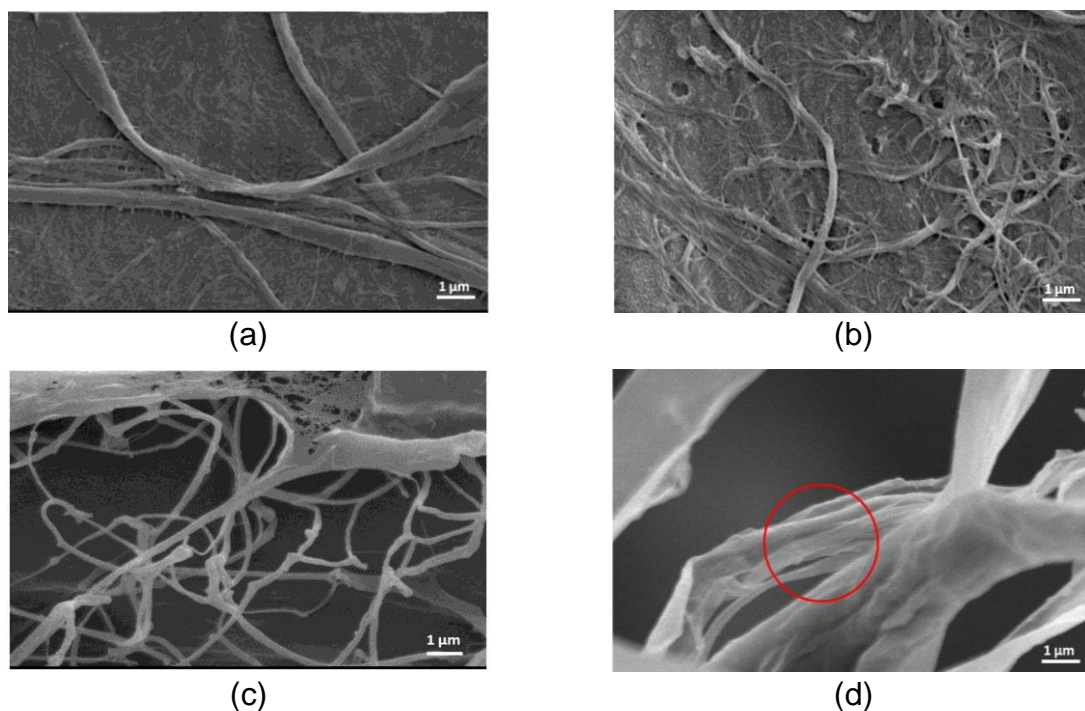


FIGURA 4.11- Imagens de microscopia eletrônica de varredura das (a) NFC sem modificação, (b)  $NFC_{oxi}$ , (c) e (d)  $NFC_{cat\ 1:5}$  (deferem apenas nas regiões analisadas). Aumento de 10.000 vezes.

Observa-se que todas as NFC apresentam uma estrutura fibrilar sem orientação preferencial. Não foi possível a visualização das nanofibras individualizadas, o que não permitiu a determinação dos diâmetros das NFC. Vale ressaltar que as fibras observadas por MEV são, na verdade, “feixes” de nanofibras agrupadas, como destacado pela FIGURA 4.11 (d). Desta forma, pode-se apenas estimar que as nanofibras apresentam um diâmetro abaixo de 250 nm. Assim, tem-se que as NFC obtidas exibem um caráter nanométrico, e que o tipo de funcionalização, aparentemente, não mostrou influência significativa na morfologia das nanoestruturas.

#### 4.3.5- Análise estrutural das NFC

A fim de se verificar os grupos funcionais característicos da celulose e possíveis deslocamentos de bandas resultantes da funcionalização das NFC, foram feitas análises FT-IR, cujos espectros são apresentados na FIGURA 4.12.

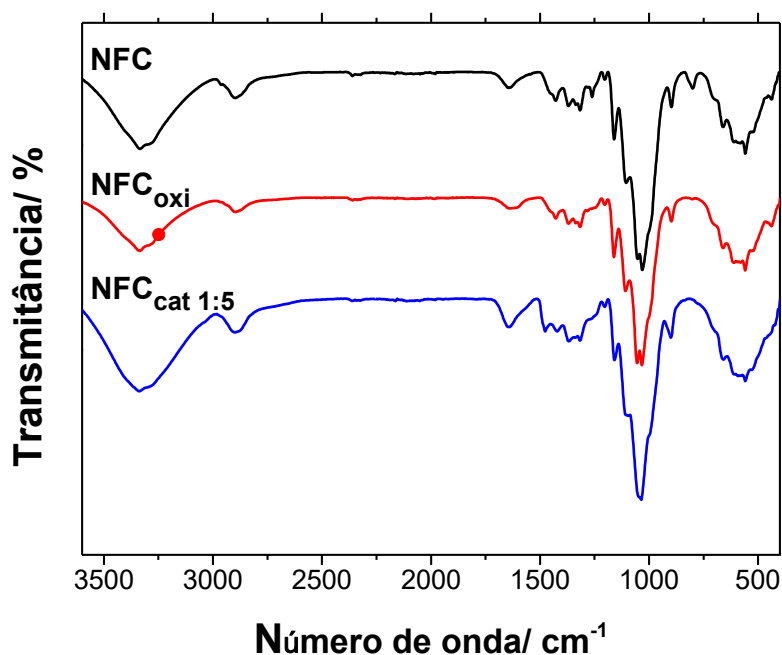


FIGURA 4.12- Espectros FT-IR das nanofibras de celulose funcionalizadas de polpa de eucalipto.

As bandas na região de 3300 cm<sup>-1</sup> são devidas aos estiramentos das ligações O-H da estrutura celulósica, moléculas de água presentes na amostra e ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas; as bandas na região de 2900 cm<sup>-1</sup> são referentes ao estiramento das ligações C-H do polissacarídeo. Em 1640 cm<sup>-1</sup>

apresentam bandas associadas aos dobramentos das hidroxilas referentes à absorção de umidade nanofibras [60,85]. As bandas em torno de  $1430\text{ cm}^{-1}$  estão associadas aos dobramentos das ligações  $-\text{CH}_2$ , a qual se apresenta mais evidente no espectro das  $\text{NFC}_{\text{cat}1:5}$  já possuem maior quantidade de metilas associadas aos grupos de substituição catiônicos (GTMAC) [88]. As bandas próximas a  $1160\text{ cm}^{-1}$  referem-se aos estiramentos assimétricos das ligações C-O-C que são consideradas o esqueleto do anel piranose da glicose [94]. As bandas na região de  $1030\text{ cm}^{-1}$  são relativas aos estiramentos das ligações C-O dos grupamentos éteres [59], as quais são mais intensas para as  $\text{NFC}_{\text{cat}1:5}$  já que apresentam maior grau de substituição e, conseqüentemente, maior disposição de éteres pela estrutura. As bandas em torno de  $890\text{ cm}^{-1}$  são referentes às ligações  $\beta$ -glicosídeas e as bandas na região entre  $700$  e  $900\text{ cm}^{-1}$  são devido às vibrações das ligações C-H e C-C. As bandas em  $1733$ ,  $1514$  e  $1252\text{ cm}^{-1}$  estão associadas à presença de resíduos de hemicelulose e lignina na estrutura celulósica [94].

A FIGURA 4.13 mostra o padrão de difração de raios-X das NFC oriundas da polpa de eucalipto. A estrutura das NFC é constituída por regiões com arranjos regulares (cristalitos) interrompidas por regiões amorfas [95]; desta forma, a obtenção do padrão de difração permite a avaliação de tais regiões cristalinas, assim como, a determinação de seus índices de cristalinidade (EQUAÇÃO 3.2).

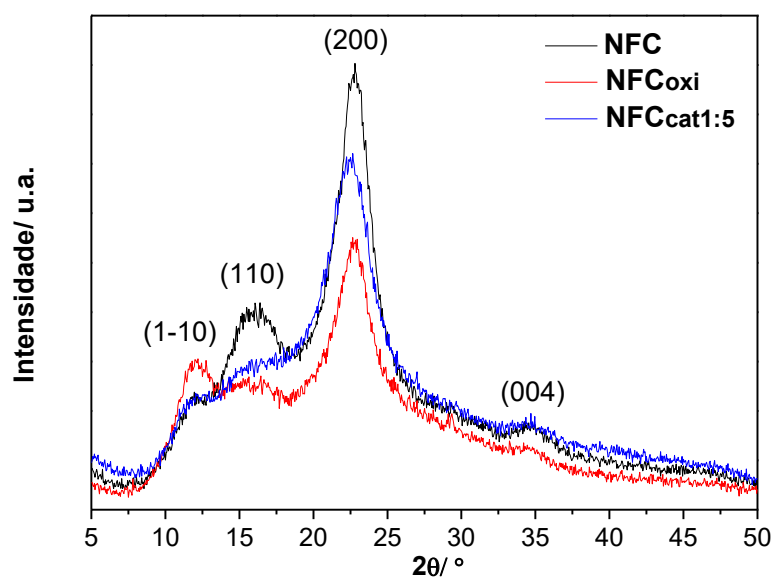


FIGURA 4.13- Difratogramas de raios-X das nanofibras de celulose.

Os difratogramas das NFC apresentam picos em  $2\theta=12^\circ$  referente ao plano cristalográfico (1-10) característico da forma polimorfa celulose I ou celulose nativa; os picos em  $16^\circ$  e  $35^\circ$  estão associados aos planos (110) e (004), respectivamente, os quais são típicos da celulose I [96]. Os picos em  $22,5^\circ$  são devido aos planos (200) da celulose I [97], os quais correspondem a principal região cristalina da celulose I [85]. O perfil alargado dos picos é devido às regiões amorfas presentes nas nanofibras [88]; uma vez que o material é semicristalino.

A deconvolução dos picos gerou quatro bandas nas regiões de  $2\theta= 16,5$ ; 19; 20,9 e 26 atribuídos aos planos cristalográficos (101), (10-1), (012) e (002), respectivamente (FIGURA 4.14). Os índices de cristalinidades são mostrados na TABELA 4.4.

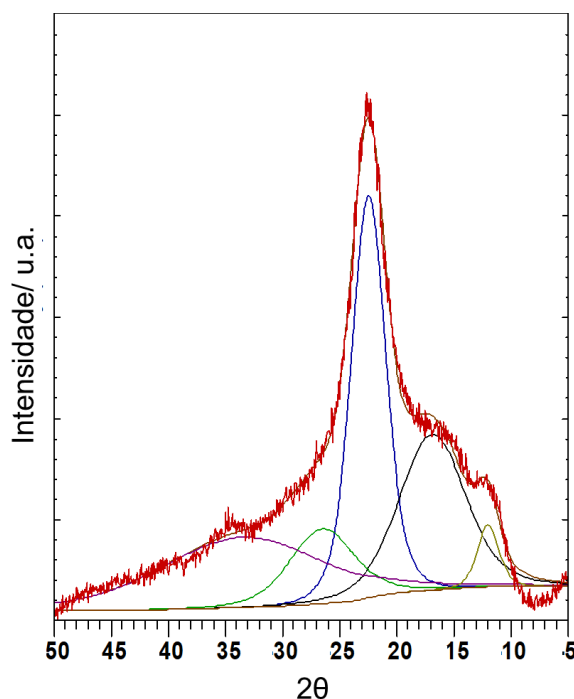


FIGURA 4.14- Deconvolução dos picos do difratograma das nanofibras de celulose cationizadas na proporção 1:5.

TABELA 4.4- Índices de cristalinidades das nanofibras de celulose.

<b><i>Tipo de NFC</i></b>	<b><i>Índice de cristalinidade/ %</i></b>
NFC	82
NFC <sub>oxi</sub>	69
NFC <sub>cat 1:5</sub>	75

Tendo em vista os perfis dos difratogramas e os valores do índice de cristalinidade, pode-se afirmar que a funcionalização das NFC altera a cristalinidade do material. A inserção de grupos iônicos e volumosos tende a afastar as cadeias celulósicas uma das outras, o que desfavorece o empacotamento das mesmas e, conseqüentemente, diminuem a cristalinidade do material. No entanto, a variação dos valores do IC não apresentam grandes mudanças indicando que a modificação deve estar ocorrendo principalmente na superfície [58].

#### 4.3.6- Análise reológica das suspensões de NFC

A FIGURA 4.15 mostra as curvas da viscosidade em relação à taxa de cisalhamento das dispersões aquosas contendo 0,2 % de NFC.

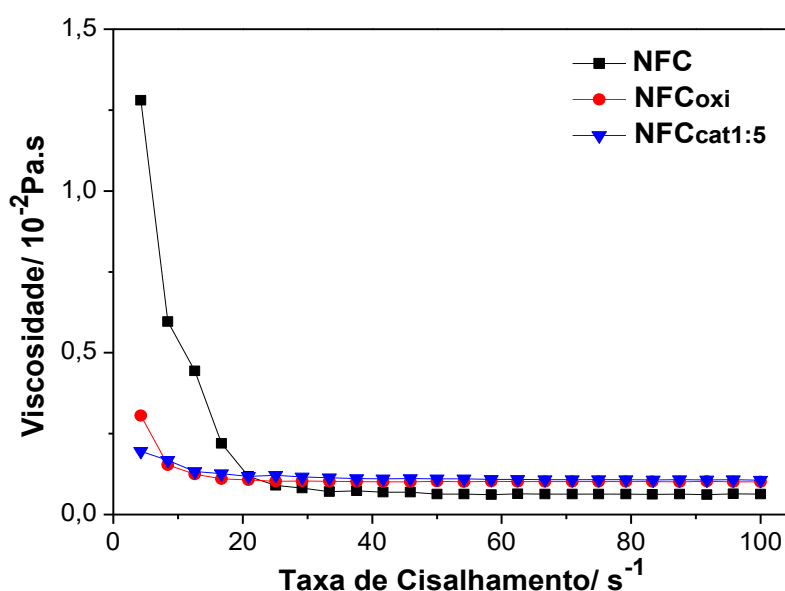


FIGURA 4.15- Curvas reológicas de suspensões aquosas de nanofibras de celulose.

De forma geral, observa-se que com o aumento da taxa de cisalhamento há a diminuição da viscosidade das dispersões o que, segundo Chaker et al. [58], é um comportamento típico das suspensões aquosas de NFC devido às suas propriedades hidrodinâmicas. Em relação aos perfis das curvas, observa-se uma transição do perfil pseudoplástico (diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento) para o Newtoniano (viscosidade constante independente da taxa de cisalhamento aplicada). Assim, tem-se que em baixas taxas de cisalhamento a viscosidade é elevada já que o gradiente de velocidade não é suficiente para que haja

o desemaranhamento e o alinhamento das cadeias poliméricas, as quais exibem resistência ao fluxo.

Com o aumento da taxa de cisalhamento, as cadeias tendem a se orientarem e a desenovelarem a ponto de não oferecerem resistência ao fluxo, causando o abaixamento da viscosidade até um valor constante [98]. Desta forma, tem-se que a progressão da taxa de cisalhamento desfavorece as interações intermoleculares entre as nanofibras, ocasionando a quebra da rede interconectada característica das NFC para que estas se orientem na direção do cisalhamento. Vale lembrar que a rede interconectada é reestabelecida quando a dispersão é posta em repouso, não afetando suas propriedades físico-químicas [58].

Em relação às nanofibras analisadas, nota-se que no intervalo de 0 a 20  $s^{-1}$  as NFC funcionalizadas apresentaram viscosidades inferiores ao da NFC sem modificação, isto ocorre porque as nanofibras carregadas proporcionam repulsões entre as cadeias celulósicas, prejudicando a estabilidade da rede interconectada citada previamente, e como resultado, estas NFC apresentam menor resistência ao fluxo. Vale ressaltar que as NFC funcionalizadas exibem variações relativamente baixas de viscosidades no intervalo analisado, possivelmente pelo efeito da repulsão eletrostática já discutida anteriormente. Assim, tem-se que a modificação das NFC não tem um efeito significativo, principalmente na região entre 20 e 100  $s^{-1}$ , na viscosidade do sistema analisado.

#### **4.3.7- Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)**

A avaliação da atividade microbiana das NFC foi feita pela determinação da CIM de dispersões aquosas contendo as NFC. Esta metodologia permite determinar a menor concentração que um agente antimicrobiano inibe o crescimento de um microorganismo [99]. Este teste é feito pela técnica de diluição em microplacas; as concentrações obtidas são mostradas na TABELA 4.5.

TABELA 4.5- Concentrações mínimas inibitórias das nanofibras de celulose funcionalizadas.

<b>Tipo de NFC</b>	<b>Concentração mínima inibitória/ %</b>	
	<b><i>Escherichia coli</i></b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>
NFC	0,673	não inibiu
NFC <sub>oxi</sub>	0,185	não inibiu
NFC <sub>cat 1:5</sub>	0,128	0,321

Observa-se que todas as NFC analisadas promoveram a inibição do crescimento da *E. coli*, sendo que para a NFC<sub>cat1:5</sub>, a inibição ocorreu em uma concentração menor. Já para a *S. aureus*, somente as NFC<sub>cat1:5</sub> promoveram tal inibição com uma concentração maior que para a *E. coli*. As propriedades antibacterianas das NFC cationizadas são devidas à sua funcionalização com aminas quaternárias, as quais são comumente utilizadas como antissépticos e desinfetantes. As aminas quaternárias apresentam cargas positivas que interagem eletrostaticamente com os lipídios e as proteínas negativamente carregados presentes na membrana citoplasmática bacteriana. Desta forma, há a formação de uma camada impermeável da membrana, impedindo a permeação de nutrientes pela mesma e, conseqüentemente, suspendendo a atividade metabólica da célula [58,100]. A inibição das NFC sem modificação e das NFC<sub>oxi</sub>, observada para a *E. coli*, está relacionada ao caráter aniônico destas nanofibras, o qual afeta a aderência das bactérias nos substratos e podem promover a desnaturação das proteínas bacterianas [101].

#### **4.4- Caracterização dos filmes de pectina e NFC: Filmes PEC-NFC (3)**

Nesta etapa do trabalho foi feita a produção e a caracterização dos filmes de pectina e NFC funcionalizadas a partir das melhores condições observadas nos testes exploratórios feitos inicialmente. Como já discutido, a baixa dispersão das NFC pela matriz polimérica pode não promover o efeito desejado de melhoria das propriedades mecânicas. Desta forma, as suspensões de nanofibras foram sonicadas antes da adição da pectina em pó, como forma de quebrar os aglomerados e promover sua homogeneização pelo sistema.

A FIGURA 4.16 é uma representação esquemática das interações intermoleculares entre as cadeias de pectina e as NFC funcionalizadas. A pectina é composta majoritariamente por ácido galacturônico, o qual possui grupos carboxílicos podendo ou não estar na forma metoxilada. No caso da pectina BGM, a maior parte das carboxilas não estão metoxiladas, fazendo com que esta tenha um menor  $pK_a$ . Diante disso, tem-se que tais grupamentos apresentam grande potencial de interação eletrostática com as nanofibras funcionalizadas com grupos carregados, além das ligações de hidrogênio, entre outras.



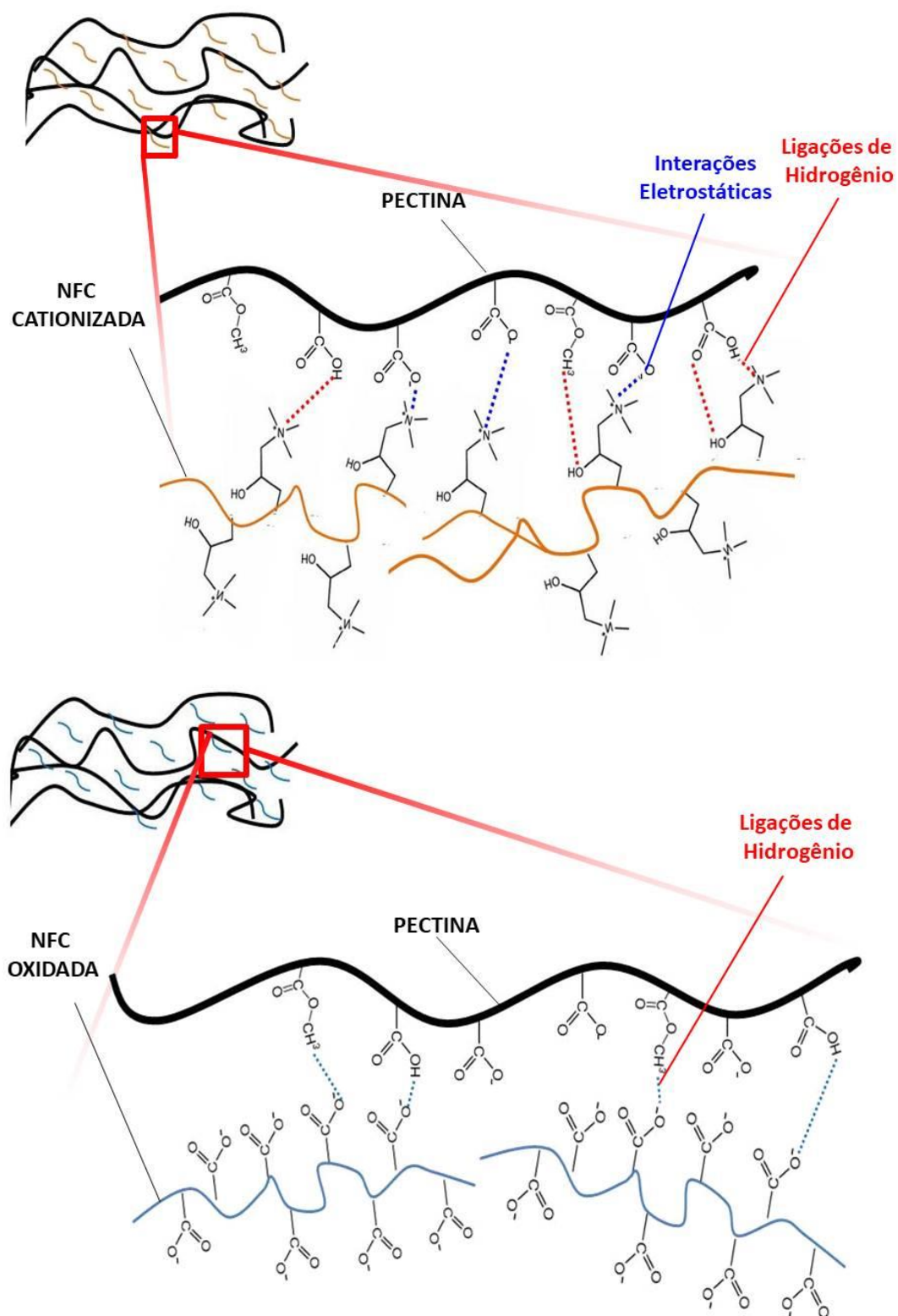


FIGURA 4.16- Representação esquemática das interações intermoleculares entre as nanofibras de celulose modificadas e a matriz polimérica de pectina (Autoria própria).

#### 4.4.1- Espessuras dos filmes

Para as análises mecânicas de tensão uniaxial do item 4.4.10 os nanocompósitos tiveram suas espessuras medidas após serem condicionados em umidade controlada (UR=49%) por 24 horas. As espessuras variaram entre 23 e 43  $\mu\text{m}$  e a adição das NFC não provocou mudanças significativas nas espessuras dos filmes. (TABELA 4.6).

TABELA 4.6- Espessuras dos filmes de pectina e dos nanocompósitos.

<b>Filmes</b>	<b>Espessura/ <math>10^{-6}\text{m}</math></b>
Controle	$37 \pm 4$
NFC <sub>oxi</sub> (1%)	$26 \pm 1$
NFC <sub>oxi</sub> (10%)	$41 \pm 1$
NFC <sub>cat 1:5</sub> (1%)	$27 \pm 6$
NFC <sub>cat 1:5</sub> (10%)	$43 \pm 3$
NFC <sub>cat 1:10</sub> (1%)	$23 \pm 5$
NFC <sub>cat 1:10</sub> (10%)	$38 \pm 4$

#### 4.4.2- Análise visual dos filmes nanocompósitos

A partir dos filmes nanocompósitos obtidos (FIGURA 4.17), fizeram-se algumas observações subjetivas. Os filmes apresentaram-se contínuos, manuseáveis e com ausência de formação de rachaduras após a secagem.

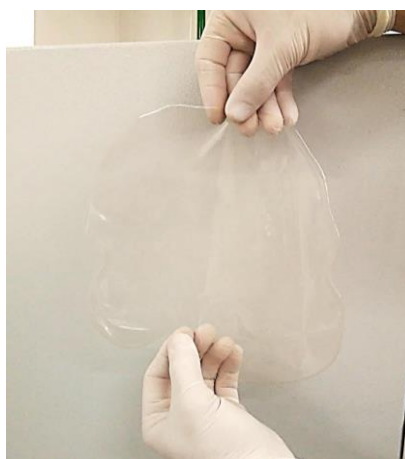


FIGURA 4.17- Imagem do filme de pectina pura após a secagem.

A homogeneidade dos filmes pode ser observada pelas imagens da FIGURA 4.18; nota-se que não houve a formação de aglomerados macroscópicos,

indicando uma maior dispersão das NFC devido ao processo de sonicação das suspensões filmogênicas. A adição das NFC, aparentemente, não tornou os filmes opacos, o que é de grande relevância quando se trata de uma possível aplicação como embalagens alimentícias. A secagem dos filmes foi feita em substrato de poliéster a temperatura ambiente, o que não resultou no aparecimento de tensões residuais devido à secagem desigual das regiões do material.

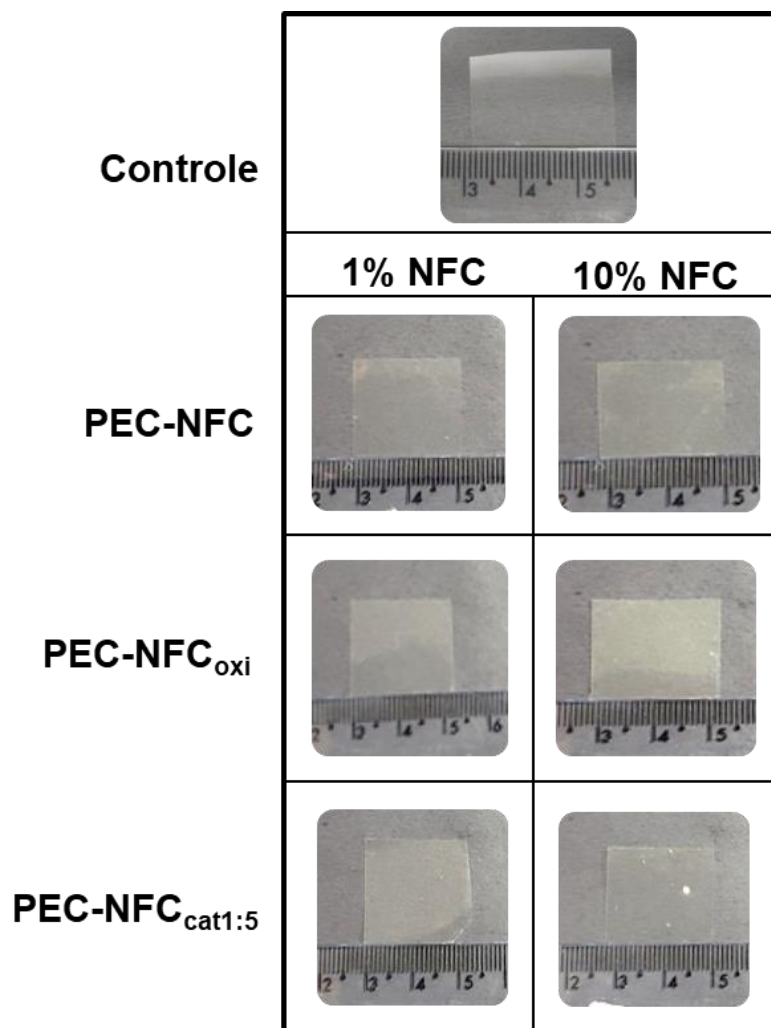


FIGURA 4.18- Imagens dos filmes nanocompósitos contendo nanofibras de celulose de polpa de eucalipto.

Algumas considerações devem ser feitas em relação à preparação das soluções filmogênicas. Observou-se a uma mudança de coloração relacionada à variação de pH, ou seja, com o aumento do pH a solução se tornou mais escura, como mostrado na FIGURA 4.19.

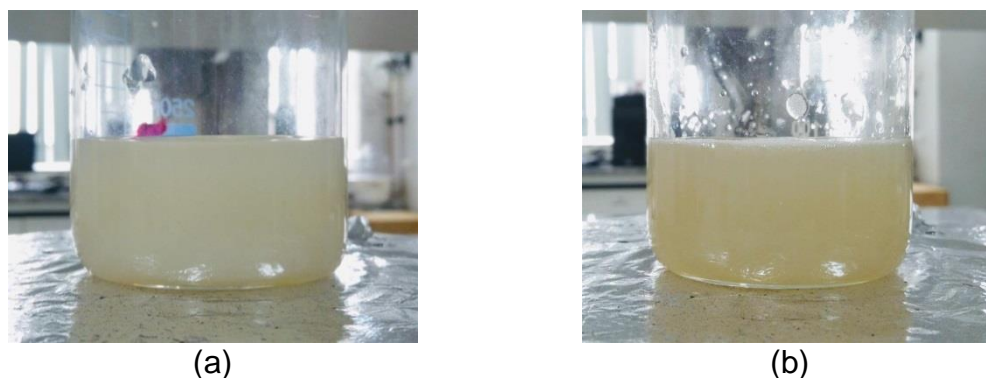


FIGURA 4.19- Imagens das suspensões filmogênicas de pectina e nanofibras de celulose em (a) pH 3 e (b) pH 7.

A agitação utilizada para a solubilização da pectina foi em torno de 1800 rpm, o que favorece a formação de microbolhas na suspensão filmogênica. O processo de desaeração em dessecador sob vácuo diminuiu consideravelmente a quantidade de microbolhas, o que favorece a formação de filmes contínuos e uniformes.

#### 4.4.3- Morfologia dos filmes nanocompósitos

A morfologia superficial dos filmes nanocompósitos foi analisada por imagens obtidas por microscopia ótica que estão mostradas na FIGURA 4.20.

Observa-se que os filmes de pectina apresentam um aspecto mais homogêneo; entretanto, os nanocompósitos, em geral, possuem aglomerações devido à presença das nanofibras [102]. As imagens obtidas mostram que os filmes que contêm 10% de NFC são os que exibem uma morfologia menos uniforme que os filmes contendo apenas 1% de NFC. Nota-se que dentre os filmes contendo 10% de NFC, os PEC-NFC<sub>cat1:5</sub> são os que exibem maior homogeneidade, indicando uma melhor dispersão das NFC na matriz polimérica. No caso dos filmes PEC-NFC<sub>oxi (10%)</sub>, estes apresentam maior aglomeração das NFC. Tais observações corroboram com os dados apresentados anteriormente, os quais mostravam que as dispersões de NFC<sub>cat1:5</sub> tem maior estabilidade em solução, devido às forças repulsivas superficiais [85].

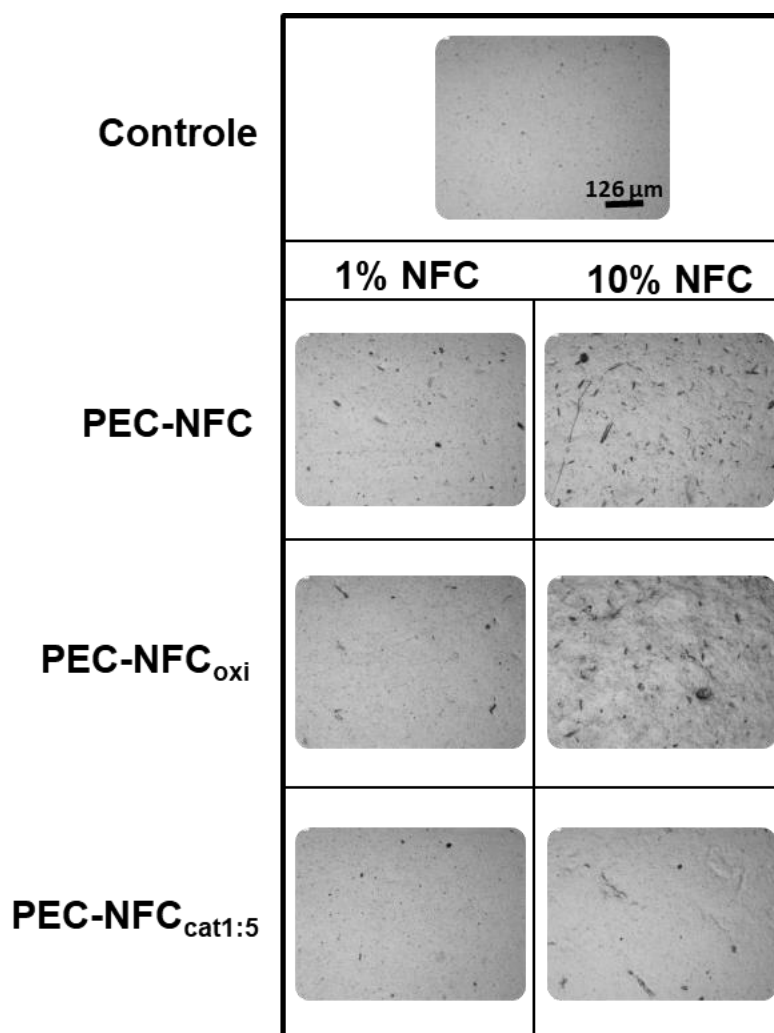


FIGURA 4.20- Imagens de microscopia ótica dos filmes nanocompósitos.

#### 4.4.4- Determinação dos tamanhos hidrodinâmicos das partículas na suspensão filmogênica.

A técnica DLS relaciona os movimentos brownianos com o tamanho das partículas em suspensão. Assim, quanto maior a partícula, mais lentamente esta se movimentará pelo meio. Diante disto, foi feita a análise DLS para as dispersões filmogênicas, a fim de observar a dispersão/aglomeração das NFC em meio da matriz de pectina, como mostrado pela FIGURA 4.21.

Nota-se que a adição de NFC nas suspensões filmogênicas provocou um aumento do tamanho hidrodinâmico das partículas, exceto para as dispersões contendo 1% de NFC<sub>oxi</sub> e 10% de NFC<sub>cat1:5</sub>.

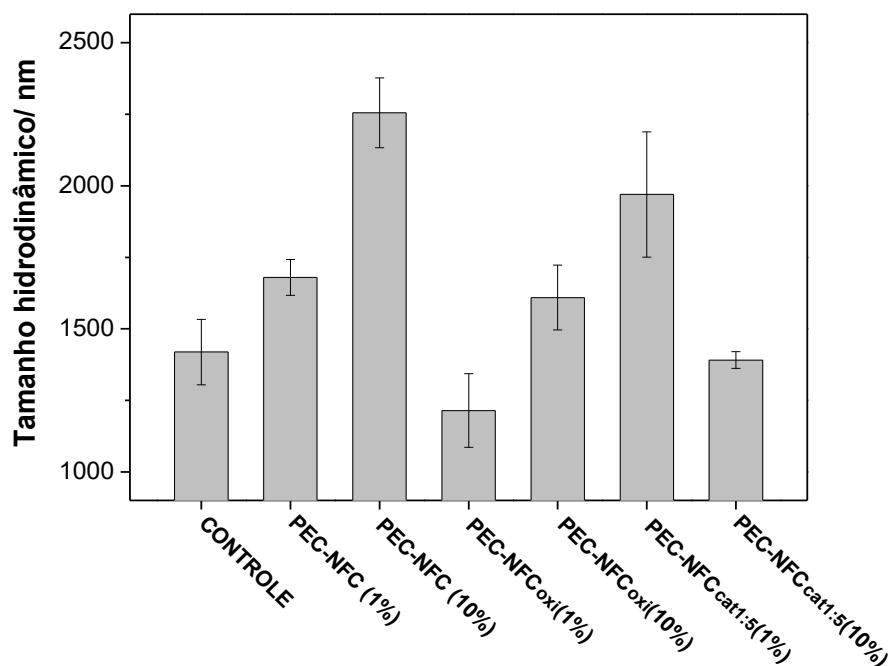


FIGURA 4.21- Valores dos tamanhos médios hidrodinâmicos dos aglomerados na suspensão filmogênica.

Observa-se uma tendência das dispersões contendo 10% de nanofibras apresentarem partículas com tamanhos hidrodinâmico maiores, o que pode ser devido à agregação das NFC ou à interação entre as nanofibras e as cadeias de pectina promovendo a formação de complexo [42]. Já as que contém apenas 1% de nanofibras exibem um comportamento semelhante do da pectina, indicando uma menor agregação ou baixa interação com a pectina.

A TABELA 4.7 mostra os valores do IPd, o qual indica baixa dispersão dos tamanhos hidrodinâmicos quando próximo e 0,3 e uma alta dispersão quando próxima de 1 [93].

Todas as dispersões analisadas apresentaram uma distribuição dos valores abaixo de 0,6, sugerindo uma distribuição considerável dos tamanhos. A tendência de uma distribuição relativamente pequena dos tamanhos hidrodinâmicos indica que o efeito que causa o aumento das dimensões das partículas acontece por todo o sistema, podendo descartar a ocorrência de aglomerações isoladas pela suspensão.

TABELA 4.7- Coeficientes de polidispersividade das suspensões filmogênicas.

<b>Filmes</b>	<b>Coeficiente de polidispersividade</b>
Controle	0,5 ± 0,1
NFC (1%)	0,3 ± 0,01
NFC (10%)	0,6 ± 0,06
NFC <sub>oxi</sub> (1%)	0,3 ± 0,2
NFC <sub>oxi</sub> (10%)	0,6 ± 0,08
NFC <sub>cat 1:5</sub> (1%)	0,5 ± 0,1
NFC <sub>cat 1:5</sub> (10%)	0,4 ± 0,1

#### 4.4.5- Potencial Zeta das suspensões dos nanocompósitos

A FIGURA 4.22 mostra os valores de potenciais Zeta para as dispersões filmogênicas. Sabe-se que potenciais Zeta acima de 30 mV, em magnitude, promovem dispersões estáveis devido às repulsões eletrostáticas intermoleculares.

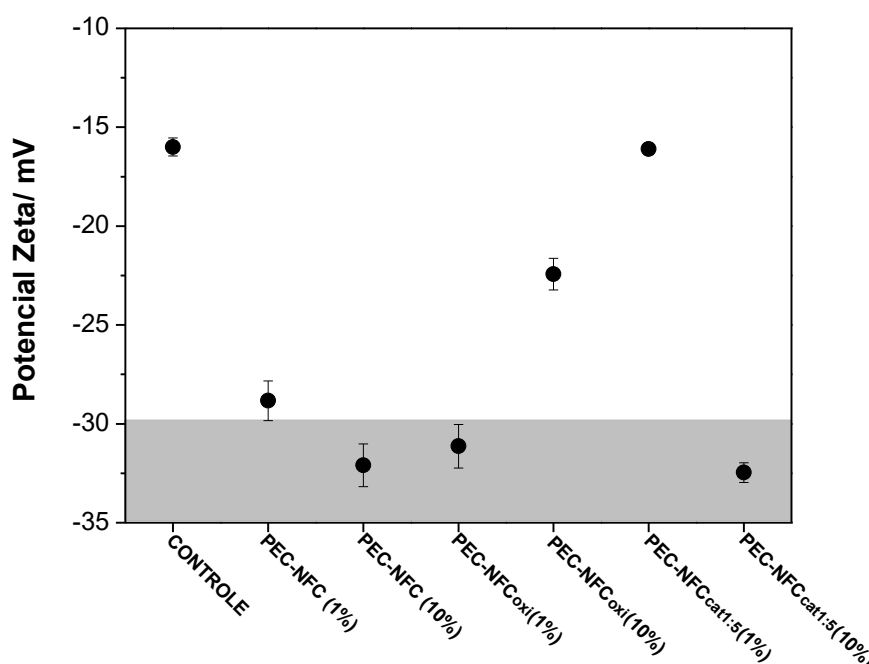


FIGURA 4.22- Valores de potencial Zeta das suspensões filmogênicas.

As dispersões poliméricas que apresentam potenciais Zeta na faixa da estabilidade exibiram os menores tamanhos hidrodinâmicos como o esperado, com exceção do nanocompósito contendo 10% de NFC não funcionalizada. Vale lembrar que a funcionalização com grupos carregados auxilia no processo de nanoestruturação, já que as forças eletrostáticas repulsivas diminuem a energia

necessária para tal processo. Desta forma, tem-se que as dispersões contendo 10% de NFC sem modificação apresentaram uma aglomeração imediata das nanofibras.

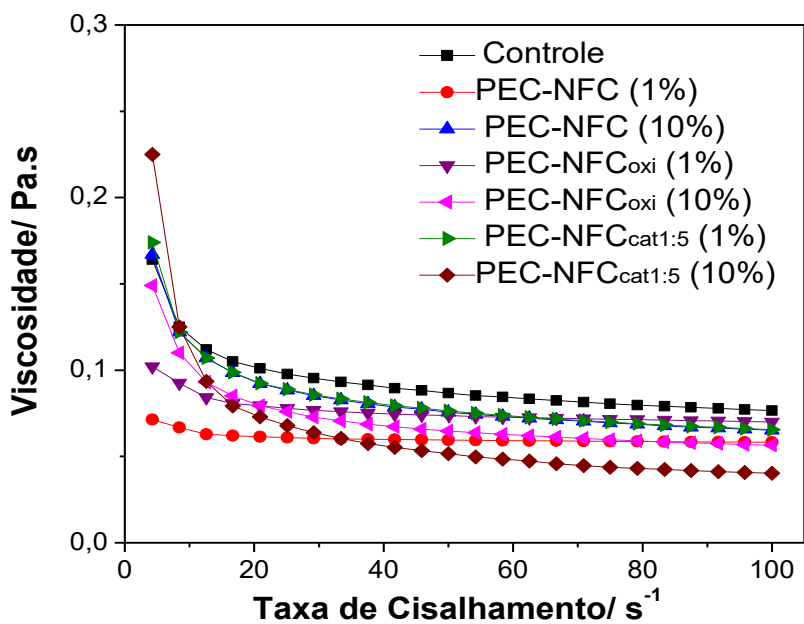
#### **4.4.6- Análise reológica das suspensões filmogênicas**

O efeito da inserção das NFC na reologia das suspensões filmogênicas foi analisado por reometria rotacional, as quais são mostradas na FIGURA 4.23. Os perfis das curvas da viscosidade em função da taxa de cisalhamento (FIGURA 4.23 (a)) indicam a transição de um perfil pseudoplástico para um Newtoniano, típica de suspensões poliméricas. Como já mencionado anteriormente, este comportamento ocorre devido ao desemaranhamento e alinhamento das cadeias em função do aumento da taxa de cisalhamento das cadeias poliméricas [79]. Assim, a progressão da taxa de cisalhamento desfavorece a rede interconectada característica da celulose, provocando o desmaranhamento das nanofibras e estas tendem a alinhar-se na direção do cisalhamento, diminuindo a viscosidade [58].

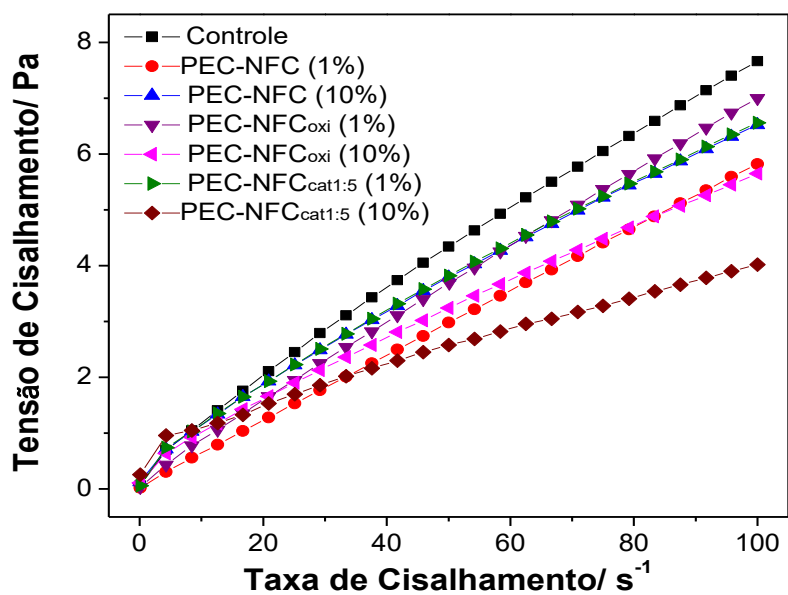
Tendo em vista as suspensões filmogênicas, nota-se que a de pectina pura apresentou valores de viscosidades maiores que para as suspensões contendo NFC. Isto, porque a presença de cargas superficiais nas NFC gera repulsão eletrostática entre si, favorecendo o alinhamento das cadeias poliméricas com o fluxo, o que resulta na diminuição da viscosidade [79].

Dentre as dispersões filmogênicas contendo o mesmo tipo de NFC, verifica-se que as que contêm 10% de nanofibras exibem maiores valores de viscosidade do que contêm apenas 1% das mesmas, já que quanto maior a concentração de macromoléculas, maior a capacidade de emaranhamento e, assim, maior a viscosidade das suspensões [79]. Nota-se que no início da análise, os valores das viscosidades são relativamente altos em relação ao resto da curva e apresentam uma maior distinção entre si; ou seja, a suspensão contendo apenas pectina deve apresentar maior enovelamento entre as cadeias, fazendo com que apresente maior resistência ao alinhamento com o fluxo.





(a)



(b)

FIGURA 4.23- Curvas reológicas das suspensões de pectina e nanofibras de celulose funcionalizadas.

Tendo isto em vista, pode-se supor que a presença de NFC desfavorece a interação entre as moléculas de pectina, deixando-as mais afastadas uma das outras. A FIGURA 4.23 (b) mostra a tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento, ou seja, a força necessária para promover um valor estabelecido de

taxa de cisalhamento [103]. Desta forma, tem-se que as dispersões com menores tensões de cisalhamento devem apresentar uma menor viscosidade e, conseqüentemente, uma menor resistência para que haja a dispersão de solutos. De forma geral, tem-se que as curvas reológicas não exibiram comportamentos com diferenças significativas devido à adição das nanofibras, o que é interessante do ponto de vista do processamento do material.

#### 4.4.7- Análise estrutural dos nanocompósitos

A FIGURA 4.24 mostra os espectros FT-IR dos nanocompósitos a fim de se verificar a presença as bandas típicas da pectina e da celulose, e os possíveis deslocamentos de bandas referentes às interações entre as nanofibras e a matriz polimérica.

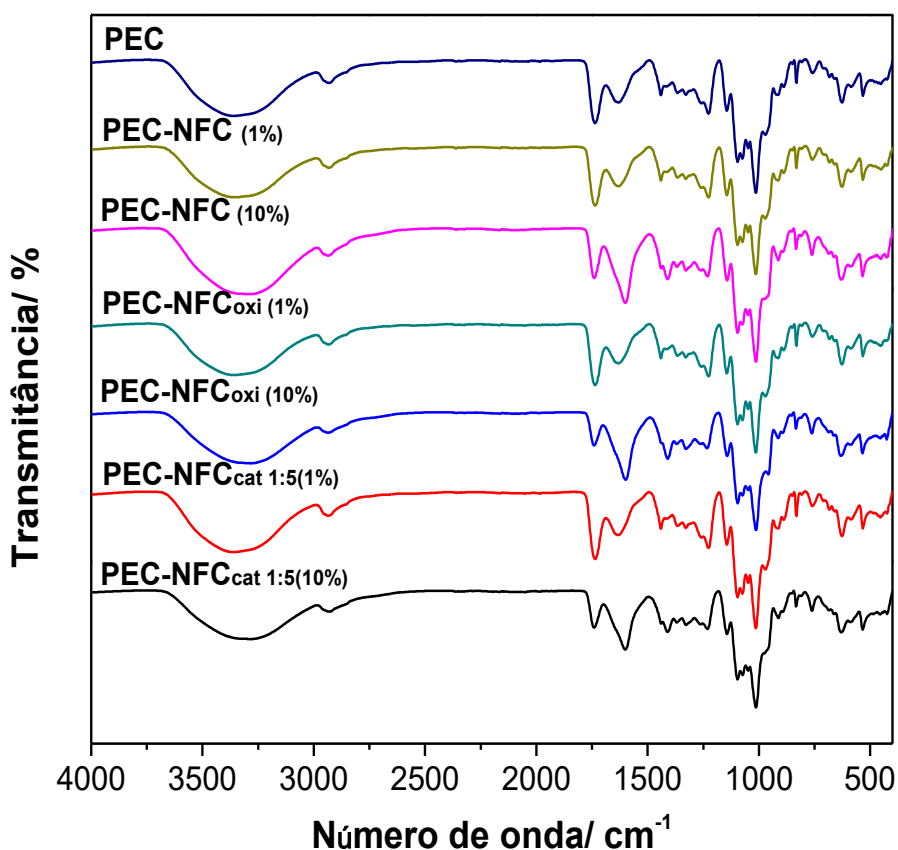


FIGURA 4.24- Espectros FT-IR da pectina e dos nanocompósitos a base de pectina e nanofibras de celulose.

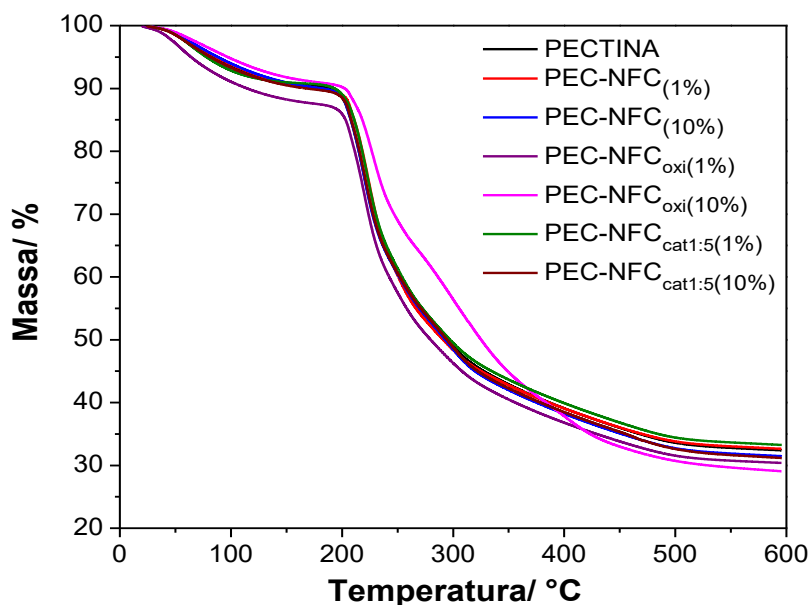
Observa-se que todos os espectros apresentam o mesmo perfil uma vez que possuem a mesma matriz polimérica. A banda larga em 3300 cm<sup>-1</sup> é relativa ao

estiramento das ligações -O-H associadas às cadeias poliméricas, ligações de hidrogênio e moléculas de água livre na amostra. As bandas em  $2930\text{ cm}^{-1}$  ocorrem devido ao estiramento das ligações -C-H alifáticos das metilas e as bandas em  $1740\text{ cm}^{-1}$  estão associadas ao estiramento da ligação -C=O dos ácidos carboxílicos da pectina. As bandas em  $1600\text{ cm}^{-1}$  e  $1450\text{ cm}^{-1}$  são referentes ao estiramento assimétrico e simétrico das ligações -COO<sup>-</sup>, respectivamente. As bandas em  $1220\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento assimétrico das ligações -C-O ésteres; já as bandas  $1150\text{ cm}^{-1}$  e  $1090\text{ cm}^{-1}$  são devido ao estiramento das ligações -C-O-C- presentes nos anéis da pectina. As bandas na região entre  $1000\text{ cm}^{-1}$  e  $500\text{ cm}^{-1}$  referem-se aos estiramentos e dobramentos das ligações -C-H da cadeia polissacarídica [99,104]. Vale ressaltar que as bandas referentes à celulose ocorrem nas mesmas regiões da pectina e, devido sua quantidade relativamente baixa no nanocompósito, não se observou bandas típicas da celulose modificada [99]. Desta forma, tem-se que os espectros FT-IR não mostraram evidências da incorporação das nanofibras na estrutura polimérica; também, não houve deslocamento e variação significativa da intensidade das bandas.

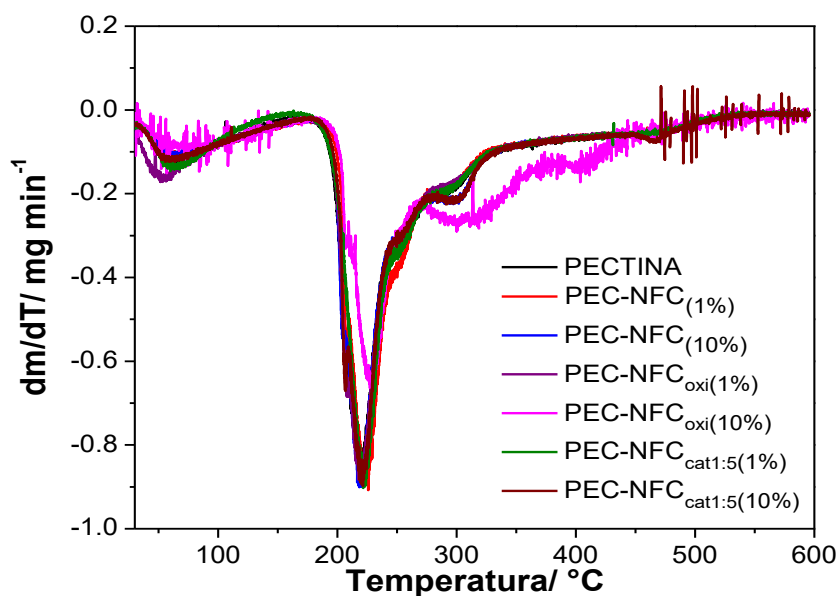
#### **4.4.8- Análise térmica dos nanocompósitos**

A estabilidade térmica dos nanocompósitos foi investigada por meio da TG. As curvas que relacionam a perda de massa à temperatura são mostradas na FIGURA 4.25. Observa-se que as curvas obtidas apresentam um perfil bastante parecido, as quais possuem dois estágios principais de degradação que ocorrem entre  $180$  e  $270\text{ °C}$  e entre  $270$  e  $600\text{ °C}$ .

Em um primeiro momento, tem-se uma perda de massa de aproximadamente 10% devido à dessorção física das moléculas de água presente na amostra, a qual ocorre entre  $25$  a  $100\text{ °C}$ . No intervalo de  $180$  a  $270\text{ °C}$ , verifica-se uma brusca perda de massa, em torno de 50%, típica da quebra de ligações glicosídicas dos polissacarídeos, degradação das proteínas e a desidratação intramolecular. Acima de  $270\text{ °C}$  tem-se perdas de massa sutis (cerca de 10%) que ocorrem devido à oxidação térmica e a combustão de resíduos carbonáceos, os quais promovem a geração de  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  [93, 105].



(a)



(b)

FIGURA 4.25- (a) Curvas termogravimétricas e (b) curvas termogravimétricas derivada dos filmes nanocompósitos de pectina e nanofibras de celulose.

Para o caso do filme PEC-NFC<sub>oxi(10%)</sub> foi observado o deslocamento do pico referente à degradação polissacarídica para valores maiores de temperatura. Isto se deve à presença das NFC oxidadas, as quais apresentam grupamentos carboxilas que interagem por meio de ligações de hidrogênio com os grupamentos carboxilas e metoxilas da pectina.

De forma geral, os nanocompósitos não exibiram estabilidade térmica diferente em relação ao filme de pectina pura (TABELA 4.8), uma vez que as curvas de degradação estão praticamente sobrepostas. Tais observações indicam que as interações entre as NFC e a matriz polimérica não foram fortes o suficiente para restringir a mobilidade das cadeias poliméricas de forma a dificultar sua quebra e, conseqüentemente, sua decomposição.

TABELA 4.8- Temperaturas iniciais ( $T_{onset}$ ) referente à degradação polissacarídea dos filmes nanocompósitos.

<b>Filmes</b>	<b><math>T_{onset}</math> (200-300°C)</b>
Controle	200,7
NFC (1%)	209,2
NFC (10%)	205,9
NFC <sub>oxi</sub> (1%)	202,5
NFC <sub>oxi</sub> (10%)	200,7
NFC <sub>cat 1:5</sub> (1%)	199,1
NFC <sub>cat 1:5</sub> (10%)	199,1

#### 4.4.9- Análise antimicrobiana dos nanocompósitos

##### 4.4.9.1- Teste de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão (Teste do Halo)

Os testes antimicrobianos foram feitos pela técnica de difusão em ágar, o qual teve como objetivo verificar a capacidade de inibição do crescimento bacteriano na região em contato com os filmes. Entretanto, após o tempo de espera para o crescimento das bactérias, notou-se que os filmes haviam se solubilizado sobre o substrato de ágar, já que possuem forte caráter hidrofílico (FIGURA 4.26). Desta forma, não foi possível a observação das propriedades antimicrobianas dos nanocompósitos por esta técnica.

Diante disso, optou-se por avaliar as propriedades antimicrobianas pela determinação da CIM das dispersões filmogênicas.

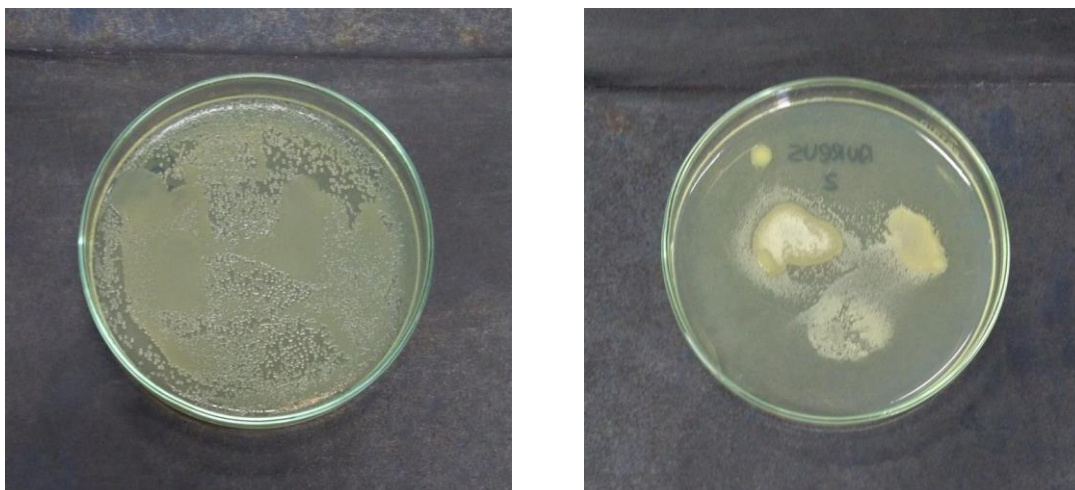


FIGURA 4.26- Imagens das placas da análise antimicrobiana de difusão em ágar.

#### 4.4.9.2- Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

As CIM obtidas para as suspensões filmogênicas são mostradas na TABELA 4.9 e as microplacas utilizadas nos testes são apresentadas na FIGURA 4.27.

TABELA 4.9- Concentrações inibitória mínima das dispersões filmogênicas de pectina e nanofibras de celulose para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (os valores entre parenteses correspondem à concentração de nanofibras de celulose na suspensão).

<b>Filmes</b>	<b>Concentração inibitória mínima/ % PEC-NFC (%NFC)</b>	
	<b><i>Escherichia coli</i></b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>
Controle	não inibiu	1
PEC-NFC (1%)	não inibiu	1 (0,5)
PEC-NFC (10%)	2 (10)	não inibiu
PEC-NFC <sub>oxi</sub> (1%)	não inibiu	2 (1)
PEC-NFC <sub>oxi</sub> (10%)	1 (5)	não inibiu
PEC-NFC <sub>cat1:5</sub> (1%)	2 (1)	2 (1)
PEC-NFC <sub>cat1:5</sub> (10%)	1 (5)	não inibiu

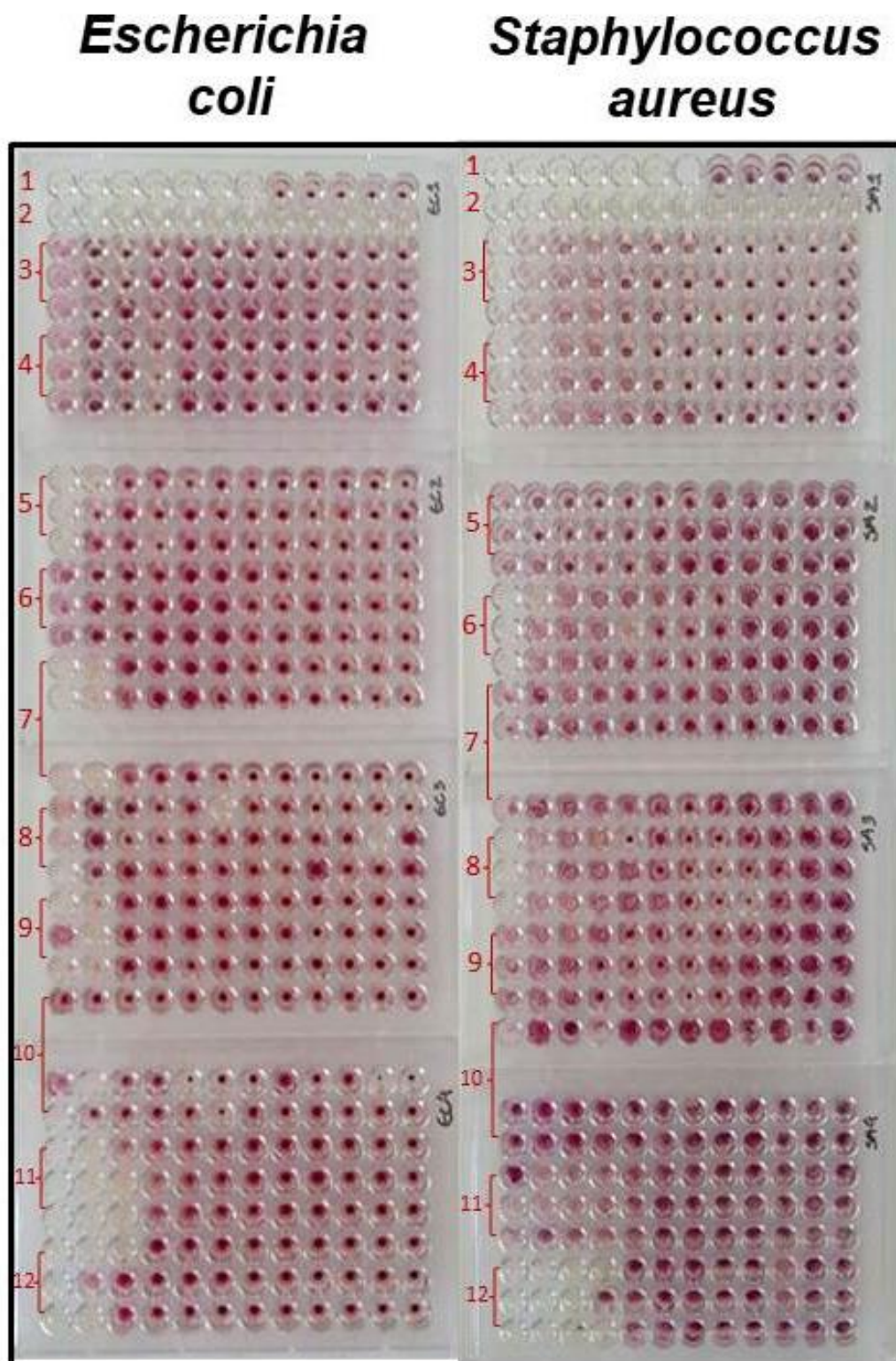
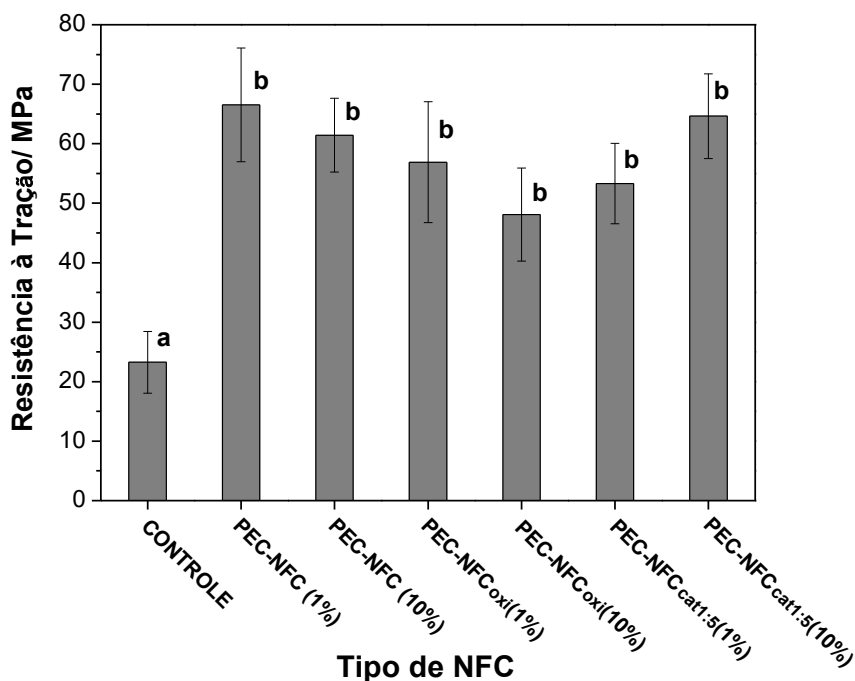


FIGURA 4.27- Microplacas utilizadas no ensaio de determinação da concentração inibitória mínima para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A numeração indicada na figura é referente às amostras descritas na seção 3.2.6.7.2.

Para a *E. coli*, todas as dispersões filmogênicas contendo 10% de NFC apresentaram atividade antimicrobiana, sendo que as que continham NFC funcionalizadas inibiram o crescimento da bactéria com metade da concentração da que possuía NFC não funcionalizada. Nota-se, também, que a dispersão filmogênica contendo 1% de NFC<sub>cat1:5</sub> também apresentou tal inibição, indicando que a presença da matriz polimérica não interferiu nas propriedades antimicrobianas destas nanofibras. Já no caso da *S. aureus*, apenas as dispersões contendo 1% de nanofibras inibiram o crescimento, mostrando que a alta concentração de NFC exibe um comportamento contrário do esperado. Vale ressaltar que o CIM não é o teste mais apropriado para a avaliação das propriedades antimicrobianas dos filmes, já que seria mais interessante avaliar a atividade inibitória da superfície dos filmes.

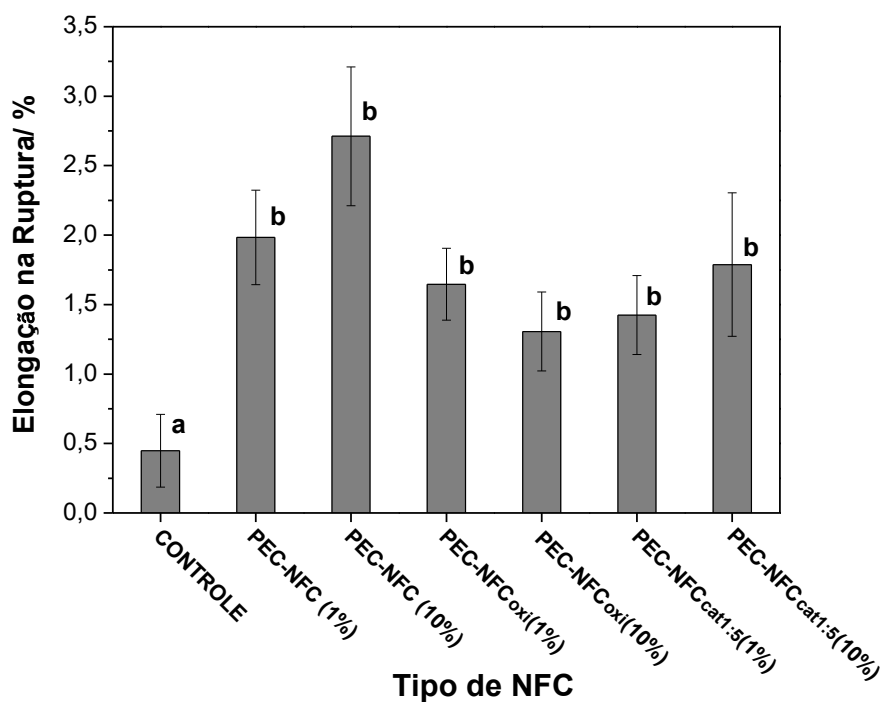
#### 4.4.10- Análise mecânica dos nanocompósitos

As propriedades mecânicas dos nanocompósitos foram avaliadas pela determinação dos valores de  $\sigma_{\text{máx}}$ ,  $\epsilon_{\text{rup}}$  e do E obtidos a partir dos testes de tensão uniaxial, como mostrado pela FIGURA 4.28.

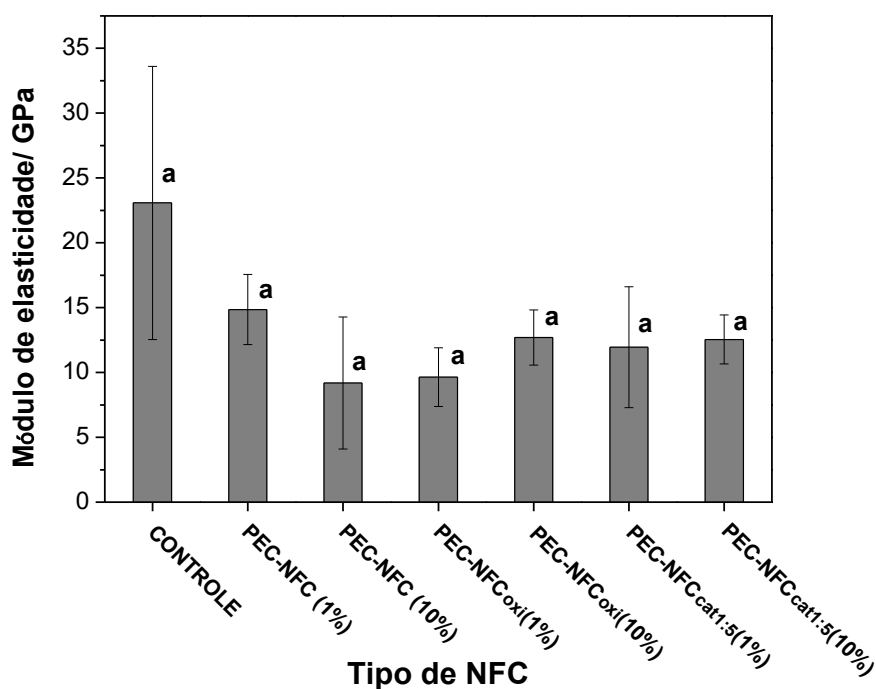


(a)





(b)



(c)

FIGURA 4.28- Valores de (a) resistência à tração, (b) alongação na ruptura e do (c) módulo de elasticidade de filmes à base de pectina e adicionados de diferentes tipos de nanofibras de celulose de polpa de eucalipto. Os sobrescritos <sup>abc</sup> denotam significância do desvio padrão das medidas, sendo que letras iguais indicam valores que não são diferentes ( $p > 0,05$ ).

Os valores de  $\sigma_{\text{máx}}$  dos nanocompósitos apresentaram um aumento de 107 % em relação ao filme de pectina. As NFC atuam restringindo a mobilidade das cadeias de pectina devido às interações secundárias, principalmente entre os grupos polares dos dois compostos [60]. No entanto, não se observou influência do tipo de funcionalização das nanofibras, indicando que o reforço da matriz se dá por meio da formação de ligações de hidrogênio e não pelas interações eletrostáticas [58]. Outro fator importante é que a quantidade de NFC adicionada não provocou variação significativa dos valores de resistência à tração. Desta forma, tem-se o aumento da  $\sigma_{\text{máx}}$  é devido a incorporação das NFC e que interação entre a matriz e as nanoestruturas deve ocorrer, predominantemente, pelas interações de hidrogênio.

Em relação aos valores de  $\epsilon_{\text{rup}}$ , nota-se que os nanocompósitos apresentam um aumento de aproximadamente 200% em relação ao filme de pectina. Como observado pelas medidas de potencial Zeta, as NFC exibem um caráter iônico o que promove um aumento da absorção de umidade, promovendo a alocação de moléculas de água entre as cadeias poliméricas, as quais atuam como plastificantes. Assim sendo, as cadeias de pectina devem apresentar maior deslizamento entre si, ocasionando uma maior deformação dos filmes quando submetidos às tensões de tração.

Com base no que foi discutido, pode-se supor que o desempenho mecânico dos nanocompósitos é um balanço entre a restrição da mobilidade das cadeias causada pela inserção de nanofibras e, entre o afrouxamento das interações intermoleculares devido à presença de um plastificante. Desta maneira, tem-se que a pouca variação das propriedades mecânicas dentre os nanocompósitos pode ser justificada pela compensação destes dois efeitos. Diante disso, a diferença não significativa dos valores de E para os filmes nanocompósitos pode estar relacionado com estes dois aspectos discutidos anteriormente; assim, tem-se que a adição de NFC não altera o módulo de elasticidade do material.

## CAPÍTULO V

### 5- CONCLUSÕES FINAIS

Tendo em vista os resultados apresentados, conclui-se que:

- ✓ A viscosidade da fase contínua tem efeito na dispersão das nanofibras, a qual interfere na resistência à movimentação e uniformização nas nanoestruturas pelo sistema;
- ✓ a baixa dispersão das NFC promove a formação de aglomerados que atuam como pontos de concentração de tensão, os quais favorecem a formação e propagação de trincas de forma a prejudicar o desempenho mecânico dos nanocompósitos;
- ✓ uma dispersão eficiente das NFC pela matriz polimérica promove uma melhora das propriedades físico-químicas resultantes, como o aumento da resistência mecânica;
- ✓ os filmes contendo NFC oxidadas e cationizadas apresentaram comportamentos mecânicos semelhantes, indicando que as interações entre a matriz de pectina e as nanofibras funcionalizadas não é regida pelas forças eletrostáticas, e sim, pelas ligações de hidrogênio, entre outras;
- ✓ a introdução de grupos polares favorece a incorporação de água, a qual pode atuar como plastificante, favorecendo a mobilidade das cadeias poliméricas e, conseqüentemente, a alongação dos filmes;
- ✓ a funcionalização das NFC com grupamentos iônicos aumenta a magnitude do potencial Zeta, o que propicia a formação de suspensões mais estáveis devido às forças repulsivas;
- ✓ a funcionalização das NFC diminui a cristalinidade das mesmas, uma vez que a inserção de grupamentos iônicos e mais volumosos que a hidroxila desfavorece o empacotamento das nanoestruturas;
- ✓ as interações entre as NFC funcionalizadas e a matriz pectina não foram suficientes para aumentarem a estabilidade térmica dos nanocompósitos;

- ✓ a inserção de grupamentos amins quaternárias promove atividade antimicrobiana às NFC, assim como, menores concentrações inibitórias mínimas para a *E. coli* e a *S. aureus*;
- ✓ suspensões poliméricas exibem uma transição do comportamento reológico pseudoplástico para o Newtoniano, devido ao desemaranhamento e o alinhamento das cadeias poliméricas em direção do fluxo de cisalhamento;
- ✓ a incorporação de NFC na matriz de pectina aumentou em 2 vezes a resistência à tração e em 3 vezes a elongação na ruptura dos filmes nanocompósitos;
- ✓ as propriedades mecânicas dos nanocompósitos são um balanço entre a limitação da mobilidade das cadeias pécticas, devido as interações com as NFC, e o afrouxamento das mesmas em razão da adsorção de água, a qual atua como plastificante.

## CÁPITULO VI

### 6- REFERÊNCIAS

- [1] AVACHAT, A.M., DASH, R.R., SHROTRIYA, S.N. "Recent investigations of plant based natural gums, mucilages and resins in novel drug delivery systems". Indian J. Pharm. Educ., **45**:86, 2011
- [2] LIMA, G.J.A. Uso de polímero natural do quiabo como auxiliar de floculação e filtração em tratamento de água e esgoto. Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Engenharia- UERJ, 2007, Dissertação de mestrado, 154 p.
- [3] ZAHARUDDIN, N.D., NOORDIN, M.I., KADIVAR, A. "The use of *Hibiscus esculentus* (Okra) gum in sustaining the release of propranolol hydrochloride in a solid oral dosage form". BioMed. Res. Int., **2014**:1, 2014.
- [4] GHORI, M.U., MOHAMMAD, M.A., RUDRANGI, S.R.S., FLEMING, L.T., MERCHANT, H.A., SMITH, A.M., CONWAY, B.R. "Impact of purification on physicochemical, surface and functional properties of okra biopolymer". Food Hydrocolloid., **71**:311, 2017.
- [5] ALVES, V.D., CASTELLÓ, R., FERREIRA, A.R., COSTA, N., FONSECA, I.M., COELHO, I.M. "Barrier properties of carrageenan/pectin biodegradable composite films". Procedia Food. Sci., **1**:240, 2011.
- [6] ZHANG, A.T., WANG, W., ZHANG, D., ZHANG, X., MA, Y., ZHOU, Y., QI, L. "Biotemplated synthesis of gold nanoparticle–bacteria cellulose nanofiber nanocomposites and their application in biosensing". Adv. Funct. Mater., **20**: 1152, 2010.
- [7] LOREVICE, M.V., OTONI, C.G., MOURA, M.R., MATTOSO, L.H.C. "Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films", Food Hydrocolloid., **52**: 735, 2016.
- [8] MOHNEN, D. "Pectin structure and biosynthesis". Curr. Opin. Plant Biol., **11**:266, 2008.
- [9] LAVOINE, N., DESLOGES, I., DUFRESNE, A., BRAS, J. "Microfibrillated cellulose – its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review". Carbohydr. Polym., **90**:735, 2012.
- [10] DONG, C., TAKAGI, H. "Flexural properties of cellulose nanofibre reinforced green composites". Compos. Part B, **58**:418, 2014.
- [11] TEIXEIRA, E.M., OLIVEIRA, C.R., MATTOSO, L.H.C., CORRÊA, A.C., PALADIN, P.D. "Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida". Polímeros, **4**: 264, 2010.

- [12] KHATTAB, M.M., ABDEL-HADY, N., DAHMAN, Y. "Cellulose nanocomposites: opportunities, challenges, and applications". *Cell-Reinf. Nanofib. Compos.*, **1**: 373, 2017.
- [13] TURBAK, A.F., SNYDER, F.W., SANDBERG, K.R. Micro-fibrillated cellulose and process for producing it. Patent n° CH 648071 (A5), 1985.
- [14] ECYCLE. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/component/content/article/68-embalagens/>. Acesso em: 30 de janeiro de 2019.
- [15] SONI, B., HASSAN, E.B., SCHILLING, M.W., MAHMOUD, B. "Transparent bionanocomposite films based on chitosan and TEMPO-oxidized cellulose nanofibers with enhanced mechanical and barrier properties". *Carbohydr. Polym.*, **151**:779, 2016.
- [16] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGEM- ABRE. Disponível em: <http://www.abre.org.br/setor/apresentacao-do-setor/a-embalagem/funcoes-das-embalagens/>. Acesso em: 08 de junho de 2018
- [17] DESIGN. Disponível em: <https://o3design.com.br/a-importancia-da-embalagem/>. Acesso em: 8 de junho de 2018.
- [18] SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS. DOSSIÊ TÉCNICO: EMBALAGENS PARA PRODUTOS ALIMENTÍCIOS. Disponível em: <http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTY0MQ>. Acesso em: 8 de junho de 2018.
- [19] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGEM- ABRE. Disponível em: <http://www.abre.org.br/setor/dados-de-mercado/dados-de-mercado/>. Acesso em: 08 de junho de 2018
- [20] MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE- MMA. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/responsabilidade-socioambiental/producao-e-consumo-sustentavel/saco-e-um-saco/saiba-mais>. Acesso em: 08 de junho de 2018.
- [21] MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE- MMA. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/responsabilidade-socioambiental/producao-e-consumo-sustentavel/consumo-consciente-de-embalagem/impacto-das-embalagens-no-meio-ambiente>. Acesso em: 08 de junho de 2018.
- [22] PLÁSTICO.COM.BR. Disponível em: <https://www.plastico.com.br/abief-embalagens-plasticas-flexiveis-o-crescimento-continua>. Acesso em: 8 de junho de 2018.
- [23] FECHINE, G. J. M. "Polímeros biodegradáveis: tipos, mecanismos, normas e mercado mundial". São Paulo, Ed. Mackenzie, 2013.
- [24] ESPITIA, P.J.P., DU, W.X., AVENA-BUSTILLOS, R.J., SOARES, N.F.F., MCHUGH, T.H. "Edible films from pectin: physical-mechanical and antimicrobial properties - A review". *Food Hydrocolloid.*, **35**:287, 2014.
- [25] AZIZ, M.S.A., SALAMA, H.E., SABAA, M.W. "Biobased alginate/castor oil edible films for active food packaging". *Food Sci. Tech.*, **96**:455, 2018.

- [26] VILLADIEGO, A. M. D., GARRUTI, D. S., BRITO, E.S., PINTO, G. A. S., AZEREDO, H.M.C., FARIA, J. A. F., BRUNO, L. M., MATTOSO, L. H. C., BASTOS, M. S. R., SILVEIRA, M. F. A., ROSA, M. F., MELO, N. R., WURLITZER, N. J., SOARES, N. F. F., RODRIGUES, P. P. C. F., AZEREDO, R. M. C., CRUZ, R. S., GERALDINE, R. M. FURTADO, R. F., SILVA, W. A. "Fundamentos de estabilidade de alimentos". Brasília, 2012.
- [27] LOREVICE, M.V., OTONI, C.G., MOURA, M.R., MATTOSO, H.C. "Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films". *Food Hydrocolloid.*, **52**:732, 2016.
- [28] MANRICH, A., MOREIRA, F.K.V., OTONI, C.G., LOREVICE, M.V., MARTINS, M.A., MATTOSO, L.H.C. "Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin". *Carbohyd. Polym.*, **164**:83, 2017.
- [29] MARTELLI, M.R., MOURA, M.R., MATTOSO, L.H.C., ASSIS, O.B.G. "Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films". *J. Food Sci.*, **78**:98, 2013.
- [30] WU, S. WANG, W., YAM, K., DING, F., SHI, X., DENG, H., DU, Y. "Electrochemical writing on edible polysaccharide films for intelligent food packaging". *Carbohyd. Polym.*, **186**:236, 2018.
- [31] FOOD INGREDIENTS BRASIL, "Pectinas: propriedades e aplicações". **29**:46, 2014.
- [32] WILLATS, W.G.T., MCCARTNEY, L., MACKIE, W., KNOX, J.P. "Pectin: cell biology and prospects for functional analysis". *Plant Mol. Biol.*, **47**:9, 2001.
- [33] SEYFRIED, M., SOLDERA-SILVA, A., BOVO, F., STEVAN-HANCKE, F.R., MAURER, J.B.B., ZAWADZKI-BAGGIO, S.F. "Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras". *Rev. Bras. Plantas Med.*, **18**:201, 2016.
- [34] HAMMAN, J.H. "Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems". *Mar. Drugs*, **8**:1305, 2010.
- [35] MUTHUKUMARAN, M., PRIYANKA, K.R.I., BHASKAR, S., KALPANA, B., DINAKAR, R. "Novel extraction, characterization and pharmaceutical application of okra mucilage (*abelmoschus esculentus*) as a pharmaceutical excipient". *World J. Pharma. Pharm. Sci.*, **6**:321, 2017.
- [36] FREITAS, M.L.F., ALBANO, K.M., TELIS, V.R.N. "Characterization of biopolymers and soy protein isolate-high-methoxyl pectin complex". *Polímeros*, **27**:62, 2017.
- [37] CANTERI, M.H.G., MORENO, L., WOSIACKI, G., SCHEER, A.P. "Pectina: da matéria-prima ao produto final". *Polímeros*, **22**:149, 2012.
- [38] VIANA, R. M., SÁ, N. M. S. M., BARROS, M. O., BORGES, M. F., AZEREDO, H. M. C. "Nanofibrillated bacterial cellulose and pectin edible films added with fruit purees". *Carbohyd. Polym.*, **196**:27, 2018.

- [39] SANTAGATA, G., MALLARDO, S., FASULO, G., LAVERMICOCCA, P., VALERIO, F., DI BIASE, M., DI STASIO, M., MALINCONICO, M., VOLPE, M. G. "Pectin-honey coating as novel dehydrating bioactive agent for cut fruit: enhancement of the functional properties of coated dried fruits". *Food Chem.*, **258**:104, 2018.
- [40] SUCHETA, RAI, S.K., CHATURVEDI, K., YADAV, S.K. "Evaluation of structural integrity and functionality of commercial pectin based edible films incorporated with corn flour, beetroot, orange peel, muesli and rice flour". *Food Hydrocolloid.*, **91**:127, 2019.
- [41] SMYTH, M.; M'BENGUE, M.S.; TERRIEN, M.; PICART, C.; BRAS, J.; FOSTER, E.J. "The effect of hydration on the material and mechanical properties of cellulose nanocrystal-alginate composites". *Carbohydr. Polym.*, **179**:186, 2018.
- [42] CHAICHI, M.; HASHEMI, M.; BADI, F.; MOHAMMADI, A. "Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose". *Carbohydr. Polym.*, **157**:167, 2017.
- [43] SEIDL, P. R. "Biomassa E Química Verde". IN: *Biomassa Para Química Verde*. JÚNIOR, S. V. (Ed.). Brasília, 2013, 5p.
- [44] AZEREDO, H.M.C.; MATTOSO, L.H.C.; WOOD, D.; WILLIAMS, T.G.; AVENABUSTILLOS, R.J.; MCHUGH, T.H. "Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers". *J. Food sci.*, **74**:31, 2009.
- [45] EYEBE, G.A., BIDEAU, B., BOUBEKEUR, N., LORANGER, E., DOMINGUE, F. "Environmentally-friendly cellulose nanofiber sheets for humidity sensing in microwave frequencies". *Sensor. Actuat. B-Chem.*, **245**:484, 2017.
- [46] BLANCO, A.; MONTE, M.C.; CAMPANO, C.; BALEA, A.; MERAYO, N.; NEGRO, C. "Nanocellulose for industrial use: cellulose nanofibers (CNF), cellulose nanocrystals (CNC), and bacterial cellulose (BC)". IN: *Handbook of nanomaterials for industrial applications*. Nova Iorque, Ed. Elsevier, 2018.
- [47] BOUFI, S.; GONZÁLEZ, I.; DELGADO-AGUILAR, M.; TARRÉS, Q.; PÈLACH, À. M.; MUTJÉ, P. "Nanofibrillated cellulose as an additive in papermaking process: A review". *Carbohydr. Polym.*, **154**:151, 2016.
- [48] CLARO, P.I.C.; CORRÊA, A.C.; CAMPOS, A.; RODRIGUES, V.B.; LUCHESI, B.R.; SILVA, L.E.; MATTOSO, L.H.C.; MARCONCINI, J.M. "Curaua and eucalyptus nanofibers films by continuous casting: Mechanical and thermal properties". *Carbohydr. Polym.*, **181**:1093, 2018.
- [49] HUBBE, M.A.; FERRER, A.; TYAGI, P.; YIN, Y.; SALAS, C.; PAL, L.; ROJAS, O.J. "Nanocellulose in thin films, coatings, and plies for packaging applications: a review". *Bioresources*, **12**:2143, 2017.
- [50] LIMA, E.G. "Dicionário de nanotecnologia: nanotecnologia e novas ciências, termos e nomenclatura". Rio de Janeiro, Ed. Clube de autores, 2013.



- [51] NUNES, T.F.G. Produção, caracterização e aplicação de nanofibras de celulose. Coimbra, Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra- UC, 2014. Dissertação de mestrado, 105p.
- [52] POTULSKI, D.C.; VIANA, L.C.; MUNIZ, G.I.B.; ANDRADE, A.S.; KLOCK, U. "Caracterização de nanofilmes de celulose nanofibrilada obtida em diferentes consistências". *Sci. For.*, **44**:361, 2016.
- [53] TIBOLLA, H.; PELISSARI, F.M.; MARTINS, J.T.; LANZONI, E.M.; VICENTE, A.A.; MENEGALLI, F.C.; CUNHA, R.L. "Banana starch nanocomposite with cellulose nanofibers isolated from banana peel by enzymatic treatment: In vitro cytotoxicity assessment". *Carbohydr. Polym.*, **207**:69 2019.
- [54] ISOGAI, A., SAITO, T., FUKUZUMI, H., "TEMPO-oxidized cellulose nanofibers". *Nanoscale*, **3**:71, 2011.
- [55] ROJ, F., BELGACEM, M.N., GANDINI, A., BRAS, J. "Recent advances in surface-modified cellulose nanofibers". *Prog Polym. Sci.*, **88**:241, 2019.
- [56] SUNASEE, R., HEMRAZ, U.D. "Synthetic strategies for the fabrication of cationic surface-modified cellulose nanocrystals". *Fibers*, **6**:1 2018.
- [57] LITTUNEN, K., CASTRO, J.S., SAMOYLENKO, A., XU, Q., QUAQQIN, S., VAINIO, S., SEPPALA, J. "Synthesis of cationized nanofibrillated cellulose and its antimicrobial properties". *Eur. Polym. J.*, **75**:116, 2016.
- [58] CHAKER, A., BOUFI, S. "Cationic nanofibrillar cellulose with high antibacterial properties". *Carbohydr. Polym.*, **131**:224, 2015.
- [59] GAO, Y.; LI, Q.; SHI, Y.; CHA, R. "Preparation and application of cationic modified cellulose fibrils as a papermaking additive". *Int. J. Polym. Sci.*, **2016**:1, 2016.
- [60] PELISSARI, F.M., ANDRADE-MAHECHA, M.M., SOBRAL, P.J.A., MENEGALLI, F.C. "Nanocomposites based on banana starch reinforced with cellulose nanofibers isolated from banana peels". *J. Colloid Interf. Sci.*, **505**:154, 2017.
- [61] KHORASANI, A.C.; SHOJAOSADATI, S.A. "Bacterial nanocellulose-pectin bionanocomposites as prebiotics against drying and gastrointestinal condition". *Int. J. Biol. Macromol.*, **83**:9, 2016.
- [62] MOLGAARD, S.L.; HENRIKSSON, M.; CÁRDENAS, M.; SVAGAN, A.J. "Cellulose-nanofiber/polygalacturonic acid coatings with high oxygen barrier and targeted release properties". *Carbohydr. Polym.*, **114**:179, 2014.
- [63] MENEGUIN, A.B.; CURY, B.S.F.; EVANGELISTA, R.C. "Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery". *Carbohydr. Polym.*, **99**:140, 2014.
- [64] OLIVEIRA, F.B.; BRAS, J.; PIMENTA, M.T.B.; CURVELO, A.A.S.; BELGACEM, M.N. "Production of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse fibers and pith" *Ind. Crops Prod.*, **93**:48, 2016.

- [65] TEIXEIRA, E. DE M.; BONDANCIA, T. J.; TEODORO, K. B. R.; CORRÊA, A. C.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. "Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations". *Ind. Crops Prod.*, **33**:63, 2011.
- [66] SUZANO PAPEL E CELULOSE. <http://suzanoblog.provisorio.ws/voce-sabe-como-a-nossa-celulose-e-fabricada>. Acesso em 12 de abril de 2019.
- [67] SAITO, T., KIMURA, S., NISHIYAMA, Y., ISOGAI, A. "Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose". *Biomacromolecules*, **8**:2485, 2007.
- [68] ZAMAN, M.; XIAO, H.; CHIBANTE, F.; NI, Y. "Synthesis and characterization of cationically modified nanocrystalline cellulose". *Carbohydr. Polym.*, **89**:163, 2012.
- [69] ALMEIDA, M.E., TEIXEIRA, H.F., KOESTER, L.S. "Preparação de emulsões submicrométricas: aspectos teóricos sobre os métodos empregados na atualidade". *Lat. Am. J. Pharm.* **27**:780, 2008.
- [70] OLIVEIRA, A.M. Produção de nanopartículas poliméricas com tamanho controlado com potencial aplicação na liberação controlada de agentes antitumorais. ABC Paulista, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia- UFABC, 2014. Dissertação de mestrado, 59 p.
- [71] ZHANG, K.; FISCHER, S.; GEISLER, A.; BRENDLER, E. "Analysis of carboxylate groups in oxidized never-dried cellulose II catalyzed by TEMPO and 4-acetamide-TEMPO". *Carbohydr. Polym.*, **87**:894, 2012.
- [72] HARVEY, D. "Modern analytical chemistry". Ed. McGraw-Hill, 2000.
- [73] PARK, S.; BAKER, J.O.; HIMMEL, M.E.; PARILLA, P.A.; JOHNSON, D. "Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulose performance". *Biotechnol. Biofuels*, **3**:1, 2010.
- [74] NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard – eighth edition. pennsylvania USA, 2003. NCCLS documento M2-A8, volume 23 (1) (ISBN 1-56238-485-6).
- [75] NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4], 2003.
- [76] TRUESDELL, C., NOLL, W. The non-linear field theories of mechanics. Springer, 3ed, 2004.
- [77] SEJERSEN, M.T.; SALOMSEN, T., IPSEN, R.; CLAEK, R.; ROLIN, C.; ENGELSEN, S.B. "Zeta potential of pectin-stabilized casein aggregates in acidified milk drinks". *Int. Dairy J.*, **17**:302, 2007.
- [78] HPS KHALIL, A.; SAURABH, C.K.; AS, A.; FAZITA, M.R.N.; SYAKIR, M.I.; DAVOUDPOUR, Y.; RAFATULLAH, M.; ABDULLAH, C.K.; HAFIZ, M.K.M. "A review on chitosan-cellulose blends and nanocelulose reinforced chitosan biocomposites: properties and their applications". *Carbohydr. Polym.*, **150**: 216, 2016.

- [79] LUCAS, E.F.; SOARES, B.G.; MONTEIRO, E.E.C. "Caraterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica". Rio de Janeiro, Ed. E-papers, 2001.
- [80] LI, M.C.; MEI, C.; XU, X.; LEE, S.; WU, Q. "Cationic surface modification of cellulose nanocrystals: toward tailoring dispersion and interface in carboxymethyl cellulose films". *Polymer*, **107**:200, 2016.
- [81] BOLUK, Y.; LAHIJI, R.; ZHAO, L.; MCDERMOTT, M.T. "Suspension viscosities and shape parameter of cellulose nanocrystals (CNC)". *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **377**:297, 2011.
- [82] SAHA, N.R.; SARKAR, G.; ROY, I.; RANA, D.; BHATTACHARYYA, A.; ADHIKARI, A.; MUKHOPADHYAY, A.; CHATTOPADHYAY, D. "Studies on methycellulose/pectin/montmorillonite nanocompósito films and their application possibilities". *Carbohyd. Polym.*, **136**:1218, 2016.
- [83] CANEVAROLO JR, S.V. "Ciência dos polímeros". São Paulo, Ed. Artliber, 2002.
- [84] RABELLO, M. "Aditivação de polímeros". São Paulo, Ed. Artliber, 2000.
- [85] MORANTES, D.; MUNOZ, E.; KAM, D.; SHOSEYOV, O. "Highly charged cellulose nanocrystals applied as a water treatment flocculant". *Nanomaterials*, **9**:1, 2019.
- [86] CALLISTER JR., W.D. "Ciência e engenharia de materiais: uma introdução". Rio de Janeiro, Ed. LTC, 2008.
- [87] LASSEUGUETTE, E. "Grafting onto microfibrils of native cellulose". *Cellulose*, **15**:71, 2008.
- [88] PRATHAPAN, R.; THAPA, R.; GARNIER, G; TABOR, R.F. "Modulating the Zeta potential of cellulose nanocrystals using salts and surfactants". *Colloid. Surfaces A.*, **509**:11, 2016.
- [89] BECK-CANDANEDO, S.; ROMAN, M.; GRAY, D.G. "Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions". *Biomacromolecules*, **6**:1048, 2005.
- [90] SEHAQUI, H.; MAUTNER, A.; LARRAYA, U.P.; PFENNINGER, N.; TINGAUT, P.; ZIMMERMANN, T. "Cationic cellulose nanofibers from waste pulp residues and their nitrate, fluoride, sulphate and phosphate adsorption properties". *Carbohyd. Polym.*, **135**:334, 2016.
- [91] HASANI, M.; CRANSTON, E.D.; WESTMAN, G.; GRAY, S.G. "Cationic surface functionalization of cellulose nanocrystals". *Soft Matter*, **4**:2238, 2008.
- [92] MORAES, C.M.; PAULA, E.; ROSA, A.H.; FRACETO, L.F. "Physicochemical stability of poly(lactide-co-glycolide) nanocapsules containing the local anesthetic bupivacaine". *J. Braz. Chem. Soc.*, **21**:995, 2010.
- [93] LOREVICE, M.V. "Desenvolvimento de filmes nanocompósitos para aplicação como embalagem comestível". São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar, 2015, Dissertação de mestrado, 134 p.

- [94] BANSAL, M.; CHAUHAN, G.S.; KAUSHIK, A.; SHARMA, A. "Extraction and functionalization of bagasse cellulose nanofibras to Schiff-base based antimicrobial membranes". *Int. J. Biol. Macromol.*, **91**:887, 2018.
- [95] ALEMDAR, A.; SAIM, M. "Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues – wheat straw and soy hulls". *Bioresource Technol.*, **99**:1664, 2008.
- [96] SAMPATH, U.G.R.M.; CHING, Y.C.; CHUAH, C.H.; SINGH, R.; LIN, P.C. "Preparation and characterization of nanocellulose reinforced semi-interpenetrating polymer network of chitosan hydrogel". *Cellulose*, **24**:2215, 2017.
- [97] BENINI, K.C.C.C.; VOORWALD, H.J.C. "Preparation of nanocellulose from *Imperata brasiliensis* grass using Taguchi method". *Carbohyd. Polym.*, **192**:337,2018.
- [98] BRETAS, R.E.S.; D'AVILA, M.A. "Reologia de polímeros fundidos". São Carlos, Ed. EdUFSCar, 2010.257 p.
- [99] MENDES, J.F.; MARTINS, J.T.; MANRICH, A.; SENA NETO, A.R.; PINHEIRO, A.C.M.; MATTOSO, L.H.C.; MARTINS, M.A. "Development and physical-chemical properties of pectin film reinforced with spent coffee grounds by continuous casting". *Carbohyd. Polym.*, **210**:92, 2019.
- [100] KIM, J.Y.; LEE, J.K.; LEE, T.S.; PARK, W.H. "Synthesis of chitooligosaccharide derivative with quaternary ammonium group and its antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*". *Int. J. Biol. Macromol.* **32**:23, 2003.
- [101] EIDELSBURGER, U. 2001 Feeding short-chain organic acids to pigs. Nottingham. Nottingham University Press. p.107-121.
- [102] VIANA, R.M.; SÁ, N.M.S.M.; BARROS, M.O.; BORGES, M.F.; AZEREDO, H.M.C. "Nanofibrillated bacterial cellulose and pectin edible films added with fruit purees". *Carbohyd. Polym.*, **196**:27, 2018.
- [103] CANEVAROLO JR, S.V. "Técnicas de caracterização de polímeros". São Paulo, Ed. Artliber, 2003.
- [104] GNANASAMBANDAM, R.; PROCTOR, A. "Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy". *Food Chem.*, **68**:327, 2000.
- [105] LI, X.G.; HUANG, M.R.; BAI, H. "Thermal decomposition of cellulose ethers". *J. Appl. Polym. Sci.*, **73**:2927, 1999.