

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

**OBTENÇÃO DE NANOCELULOSE DE PALHA DE
CANA-DE-AÇÚCAR COM DIFERENTES TEORES DE
LIGNINA RESIDUAL**

Gabriela Fornaziero de Almeida*

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do título
de MESTRE(A) EM QUÍMICA, área de
concentração: FÍSICO-QUÍMICA

Orientador: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Coorientadora: Dra. Cristiane Sanchez Farinas

***bolsista CNPq**

**São Carlos – SP
2023**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

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

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Gabriela Fornaziero de Almeida, realizada em 10/10/2023.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso (EMBRAPA)

Profa. Dra. Juliana da Silva Bernardes (CNPEM)

Profa. Dra. Marcia Regina de Moura Aouada (UNESP)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

À minha querida família, noivo e amigos

Agradecimentos

- Agradeço, primeiramente, a Deus por me dar forças e saúde para trilhar meu caminho;
- Aos meus pais, Vani e Mário e a meus irmãos, Júlia e João, pelo apoio incondicional em todos os momentos do mestrado;
- Ao meu noivo, Matheus, por todo apoio e motivação;
- Ao Prof. Luiz Henrique Mattoso e a Profa. Cristiane Farinas pela notável orientação e coorientação, pelos conselhos e apoio em todos os momentos nestes últimos 2 anos;
- Ao Prof. Caio Otoni pela colaboração essencial no projeto de mestrado, pelos conselhos e por estar sempre disponível para ajudar;
- Aos amigos da Embrapa Instrumentação pelos bate-papos, risadas, desabafos e pela prontidão em ajudar. Dentre eles, agradeço ao Maycon Jhony, Rodrigo Silva, Letícia Santos, Natália Evangelista, Natália Silva, Rafaela Gama, Ludmilla Araújo, Giuliana Franco, Juliana Farinassi, Crisiane Maragon, entre muitos outros;
- Ao Stanley Bilatto e a Rafaella Takehara pela colaboração no planejamento do projeto e pelo apoio sempre que precisei;
- À Ana Carolina Corrêa, por toda ajuda e pela doação de reagentes;
- Aos técnicos da Embrapa Instrumentação, Silviane, Viviane, Adriana, Ana, Alice, Joana e Paulo pelo auxílio constante durante as atividades nos laboratórios;
- À Embrapa Instrumentação pela infraestrutura e a todos os funcionários, que possibilitaram a realização da pesquisa no ambiente em questão;
- À UFSCar e ao Departamento de Química pelo espaço acadêmico;
- À secretaria do PPGQ pela prontidão em sanar dúvidas;
- Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado;
- Ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano/CNPEM) pela infraestrutura e ao Carlos, Cleyton e Otávio, por conduzirem as análises de AFM e AFM-IR;
- À Usina Ipiranga Agroindustrial (Descalvado, SP) pela doação da palha.

Lista de abreviaturas

AFM - Microscopia de força atômica

AFM-IR - Nanoespectroscopia de infravermelho

ATR-FTIR - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada

CA - Celulose de alga

CB - Celulose bacteriana

CNPEM - Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

DRX - Difração de raios-X

ELS - Espalhamento de luz eletroforético

GP - Grau de polimerização

IC - Índice de cristalinidade relativo

LNNA - Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

MEV-FEG - Microscopia eletrônica de varredura com emissão por campo

NC - Nanocelulose

NCC - Nanocristal de celulose

NFC - Nanofibra de celulose

NC-L - Nanocelulose com lignina residual

NC-L_{PBB} - Nanocelulose da palha branqueada em condição branda

NC-L_{PBS} - Nanocelulose da palha branqueada em condição severa

NC-L_{PIN} - Nanocelulose da palha *in natura*

PBB - Palha branqueada em condição branda

PBS - Palha branqueada em condição severa

PIN - Palha *in natura*

R - Rendimento

R_s - Resíduo em 700 °C

TA - Teor de alfacelulose

TC - Teor de cinzas

TE - Teor de extrativos

TG - Termogravimetria

TH - Teor de holocelulose

TH_e - Teor de hemicelulose

TL - Teor de lignina total

TLI - Teor de lignina insolúvel

TLS - Teor de lignina solúvel

$T_{\text{máx}}$ - Temperatura máxima de decomposição térmica

T_{onset} - Temperatura inicial de decomposição térmica

TU - Teor de umidade

t-NCCs - Nanocristais de celulose de tunicados

U - Umidade absorvida

UR - Umidade relativa

Δm - Perda de massa

Lista de tabelas

TABELA 3.1 - Condições experimentais dos testes de branqueamento da palha <i>in natura</i> : tempo de reação (t, em horas) e o número de adições de NaClO ₂ e de HAc.	18
TABELA 3.2 - Metodologias para determinação da composição das palhas (MORAIS et al., 2010).	26
TABELA 4.1 - Rendimento em massa (R) dos testes de branqueamento da palha <i>in natura</i> e composição parcial das palhas branqueadas.	30
TABELA 4.2 - Composição da palha <i>in natura</i> segundo COSTA et al. (2015) (PIN*), da palha <i>in natura</i> (PIN) em estudo e das palhas branqueadas em condição branda (PBB) e severa (PBS).	31
TABELA 4.3 - Rendimentos das etapas de obtenção das NC-Ls.	37
TABELA 4.4 - Bandas vibracionais de ligações químicas características da celulose, hemicelulose e lignina com seus respectivos comprimentos de onda (cm ⁻¹).	38
TABELA 4.5 - Eventos de decomposição térmica observados para as amostras PIN* e NCC-L*, segundo BILATTO et al. (2020), PIN, PBB, PBS, NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS} , e as respectivas perdas de massa (Δm , %), temperaturas de decomposição iniciais (T_{onset}), máximas ($T_{m\acute{a}x}$) e os resíduos em 700 °C (R_s , %). **Para as amostras PIN* e NCC-L*, os resíduos foram determinados em 600 °C.	41
TABELA 4.6 - Umidade absorvida (mg _{água} /g _{NC-L}) pelas amostras NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS} , nos respectivos tempos (h).	45
TABELA 4.7 - Bandas vibracionais de ligações químicas características da celulose, hemicelulose e lignina com seus respectivos comprimentos de onda (cm ⁻¹).	52

Lista de figuras

FIGURA 1.1 - Palha de cana-de-açúcar no solo após a colheita mecanizada da cana.	4
FIGURA 1.2 - Estrutura da biomassa lignocelulósica (a) e de componentes (b). A celulose está representada pela cor verde (com sete microfibrilas formando uma fibra), a hemicelulose, pela cor amarela e a lignina, pela cor marrom.....	5
FIGURA 1.3 - Cadeia molecular de celulose e sua unidade de repetição (celobiose). Ligações de hidrogênio intramoleculares entre oxigênios e hidrogênios posicionados nos carbonos C6(O)-C2(H), e C3(H)-C5(O).	6
FIGURA 1.4 - Estrutura de uma fibra de celulose.	7
FIGURA 1.5 - Estrutura básica da lignina.....	8
FIGURA 1.6 - NCs de diferentes fontes. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de NCCs de polpa celulósica de madeira (a); NFCs produzidas com oxidação por TEMPO (b); NFCs de polpa de beterraba (c); t-NCCs (d) e CA, da alga verde <i>Microsterias denticulata</i> ; (e); imagens de microscopia eletrônica de varredura da CB, produzida por <i>Acetobacter xylinum</i> (f).	10
FIGURA 1.7- Número de publicações por ano relacionadas a NC-L (<i>Web of Science</i>). A expressão de busca utilizada foi: “ligno-nanocellulose” or “lignin containing cellulose nanomaterials” or “lignocellulosic nanocrystals” or “lignocellulosic nanofibrils” or “lignin containing nanocellulose” or (“residual lignin” and “nanocellulose”).	13
FIGURA 1.8 - Imagens de AFM de altura (a) e fase (b) da NFC-L com 14% de lignina residual. As nanopartículas de lignina estão mostradas pelas setas amarelas.	14
FIGURA 3.1 - Esquema da moagem da palha de cana-de-açúcar.	17
FIGURA 3.2 - Esquema do branqueamento da palha <i>in natura</i> nas condições branda (PBB) e severa (PBS).	19
FIGURA 3.3 - Esquema da obtenção da NC-L a partir das palhas PIN, PBB e PBS.	21
FIGURA 4.1 - Composição das palhas <i>in natura</i> e branqueadas em condições branda (PBB) e severa (PBS).	32
FIGURA 4.2 - Palhas <i>in natura</i> (PIN) e branqueadas (PBB e PBS) e seus respectivos teores de lignina total (TL).....	33

FIGURA 4.3 - Micrografias eletrônicas de varredura das palhas <i>in natura</i> (a, b, c), branqueada em condição branda (d, e, f) e em condição severa (g, h, i) nas ampliações x50, x1.000 e x5.000.	34
FIGURA 4.4 - NC-L _{PIN} (a), NC-L _{PBB} (b) e NC-L _{PBS} (c) em suspensão e liofilizadas. .	35
FIGURA 4.5 - Rendimento mássico (%) de hidrólise e concentração das suspensões de NC-L (% m/V).	36
FIGURA 4.6 - Espectros na região de infravermelho das amostras de PIN, PBB, PBS, NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS} nos intervalos de número de onda de 4000 a 400 cm ⁻¹	37
Figura 4.7 - Perfis termogravimétricos das amostras PIN, PBB, PBS, NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS} : Curva termogravimétrica (percentual de massa em função da temperatura) (a) e sua primeira derivada (DTG) (b).	40
FIGURA 4.8 - Padrões de DRX e índice de cristalinidade relativo (IC, %) das amostras PIN, PBB, PBS, NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS} . Difratogramas normalizados em relação ao pico de maior intensidade em 22,3°. Eixo Y: intensidade (unidade arbitrária).	42
FIGURA 4.9 - Representação esquemática dos grupamentos ésteres sulfato desprotonados na superfície da nanocelulose.	43
FIGURA 4.10 - Valores de potencial zeta das suspensões de NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS} na concentração de 0,1% (m/V) e contendo 4 mM de NaCl.	44
FIGURA 4.11 - Curvas da umidade absorvida (mg _{água} /g _{NC-L}) em função do tempo (h) para as amostras NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS} liofilizadas.	45
FIGURA 4.12 - Micrografias eletrônicas de varredura com emissão por campo (MEV-FEG) da NC-L _{PIN} nas ampliações 250x, 1000x, 30.000x e 50.000x.	46
FIGURA 4.13 - Micrografias eletrônicas de varredura com emissão por campo (MEV-FEG) da NC-L _{PBB} nas ampliações 250x, 2000x, 10.000x e 30.000x.	46
FIGURA 4.14 - Micrografias eletrônicas de varredura com emissão por campo (MEV-FEG) da NC-L _{PBS} nas ampliações 250x, 10.000x e 30.000x.	47
FIGURA 4.15 - Imagens de AFM das amostras das amostras NC-L _{PIN} (a, b), NC-L _{PBB} (c, d) e NC-L _{PBS} (e, f). Setas em vermelho indicam possíveis nanopartículas de lignina.	48
FIGURA 4.16 - Distribuição do diâmetro de NC-L _{PIN} (a); NC-L _{PBB} (b) e NC-L _{PBS} (c).	49
FIGURA 4.17 - Espectros na região do infravermelho (1920 a 950 cm ⁻¹) obtidos nos locais indicados nas imagens de AFM para NC-L _{PIN} (a); NC-L _{PBB} (b) e NC-L _{PBS} (c).	51

RESUMO

OBTENÇÃO DE NANOCELULOSE DE PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR COM DIFERENTES TEORES DE LIGNINA RESIDUAL: o Brasil é um país que se destaca pela produção de cana-de-açúcar. Uma das consequências desta produção é a elevada geração de subprodutos nas indústrias sucroalcooleiras, como a palha de cana-de-açúcar. Devido ao significativo teor de celulose presente nesta biomassa, uma forma de agregar valor a este subproduto é utilizá-lo como matéria-prima para obtenção de nanocelulose. Estudos da última década têm mostrado que a produção de nanocelulose com lignina residual (NC-L) é uma alternativa sustentável para modificar as suas propriedades. A presença da lignina pode reduzir a hidrofiliabilidade da nanocelulose, além de aumentar sua estabilidade térmica e sua compatibilidade com matrizes poliméricas hidrofóbicas. Tendo em vista o crescente interesse no estudo da NC-L e o fato de a palha ter sido pouco explorada para este fim, este trabalho teve como objetivo isolar NC-L de palha de cana-de-açúcar, controlando o teor de lignina residual, a fim de avaliar o efeito da lignina nas propriedades morfológicas, térmicas, estruturais e superficiais das nanoestruturas produzidas. Palhas com diferentes teores de lignina foram obtidas utilizando o branqueamento com dióxido de cloro em duas condições (branda e severa), variando-se o tempo de reação e a quantidade do reagente. As NC-Ls foram produzidas via hidrólise com ácido sulfúrico. A partir de três amostras de biomassa (PIN, palha *in natura*; PBB, palha branqueada em condição branda; e PBS, palha branqueada em condição severa), foram produzidas três NC-Ls: NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}. Os teores de lignina obtidos foram de $17,3 \pm 0,3\%$ para PIN, $14,7 \pm 0,3\%$ para PBB e $4,6 \pm 0,8\%$ para PBS. Foram observados maiores rendimentos de hidrólise para as NC-Ls obtidas das palhas branqueadas, as quais são mais puras em termos da celulose. A microscopia de força atômica confirmou a produção de nanofibras e nanocristais de celulose, independente da presença e severidade do branqueamento. Por fim, a presença da lignina na NC-L não influenciou significativamente sua hidrofiliabilidade e diâmetro, entretanto reduziu sua estabilidade coloidal e índice de cristalinidade, e aumentou sua estabilidade térmica.

Palavras-chaves: Nanocelulose marrom; nanocristal; nanofibra; lignina residual; nanomateriais; celulose; palha de cana-de-açúcar; resíduo agroindustrial.

ABSTRACT

PRODUCTION OF NANOCELLULOSE FROM SUGARCANE STRAW BEARING DIFFERENT CONTENTS OF RESIDUAL LIGNIN: Brazil stands out for its high production of sugarcane. This production generates a significant amount of byproducts, such as sugarcane straw. Due to its high cellulose content, converting straw into nanocellulose can be a promising alternative to add value to such a side-stream. Recent studies have shown that producing nanocellulose with residual lignin is a sustainable alternative to modify its surface properties. Residual lignin reduces the hydrophilicity of the nanocellulose, improves its compatibility with hydrophobic polymers and increases its thermal stability. Given the growing interest in the study of lignin-containing nanocellulose (L-NC) and the possibility of using sugarcane byproducts for this purpose, this work aimed to obtain L-NC from sugarcane straw with different residual lignin contents to investigate the effect of lignin on the thermal, morphological, surface, and structural properties of nanocellulose. The lignin content in the straws was varied by bleaching with chlorine dioxide under two conditions of reaction time and amount of bleaching chemicals. Three types of L-NC were produced using sulfuric acid hydrolysis from three biomass samples, namely: unbleached straw (U), mildly bleached straw (MB), and severely bleached straw (SB). The resulting lignin contents were $17.3 \pm 0.3\%$ for US, $14.7 \pm 0.3\%$ for MB, and $4.6 \pm 0.8\%$ for SB. Higher yields were observed for the L-NC obtained from bleached straws, which are purer in terms of cellulose. Atomic force microscopy confirmed the isolation of cellulose nanocrystals and nanofibers, regardless of the bleaching severity. Finally, lignin was found to increase the thermal stability of nanocellulose while reducing its crystallinity index, and colloidal stability. Its width and hydrophilicity did not vary significantly.

Keywords: Brown nanocellulose; nanocrystal; nanofiber; residual lignin; nanomaterials; cellulose; sugarcane straw; agri-food waste.

Sumário

CAPÍTULO 1

1 - Introdução	1
1.1 - Contextualização	1
1.2 - Fundamentação teórica	3
1.2.1 - A cana-de-açúcar no Brasil e seus subprodutos	3
1.2.2 - Biomassa lignocelulósica: estrutura e composição	5
1.2.2.1 - Celulose	6
1.2.2.2 - Hemiceluloses	7
1.2.2.3 - Lignina	7
1.2.2.4 - Extrativos e minerais	8
1.2.3 - Branqueamento de biomassa	8
1.2.4 - Nanocelulose: propriedades, métodos de obtenção e aplicações	9
1.2.5 - Nanocelulose com lignina residual	12

CAPÍTULO 2

2 - Objetivos	15
2.1 - Objetivo geral	15
2.2 - Objetivos específicos	15

CAPÍTULO 3

3 - Material e métodos	16
3.1 - Material	16
3.2 - Metodologia	16
3.2.1 - Coleta da palha de cana-de-açúcar	16
3.2.2 - Moagem da palha de cana-de-açúcar	16
3.2.3 - Testes de branqueamento da palha de cana-de-açúcar	17
3.2.4 - Branqueamentos da palha em condição branda e severa	18
3.2.5 - Hidrólise ácida: obtenção da nanocelulose	19
3.2.6 - Caracterizações	21
3.2.6.1 - Composição das palhas <i>in natura</i> e branqueadas	22
3.2.6.2 - Microscopia eletrônica de varredura	26
3.2.6.3 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada	26

3.2.6.4 - Termogravimetria	27
3.2.6.5 - Difração de raios-X	27
3.2.6.6 - Espalhamento de luz eletroforético	27
3.2.6.7 - Absorção de água	28
3.2.6.8 - Microscopia de força atômica	28
3.2.6.9 - Nanoespectroscopia de infravermelho	28
CAPÍTULO 4	
4 - Resultados e discussões.....	30
4.1 - Rendimento dos testes de branqueamento e composição parcial das palhas <i>in natura</i> e branqueadas	30
4.2 - Rendimento dos branqueamentos em condição branda e severa e composição das palhas <i>in natura</i> e branqueadas	31
4.3 - Morfologia das palhas <i>in natura</i> e branqueadas	34
4.4 - Rendimento da obtenção das NC-Ls	35
4.5 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada.....	37
4.6 - Análise térmica.....	39
4.7 - Índice de cristalinidade	41
4.8 - Potencial zeta das suspensões de NC-L	43
4.9 - Interação NC-L/água.....	44
4.10 - Morfologia das NC-Ls	45
4.11 - Nanoespectroscopia de infravermelho das NC-Ls	50
CAPÍTULO 5	
5 - Considerações finais	53
5.1 - Conclusões	53
5.2 - Trabalhos futuros	55
CAPÍTULO 6	
6 - Referências	56
Apêndice	62

CAPÍTULO 1

1 - Introdução

1.1 - Contextualização

O Brasil é um país que se destaca pela produção de açúcar e etanol provenientes da cana-de-açúcar. Na safra de 2022/2023, com a colheita de 610 milhões de toneladas de cana, foi possível produzir 37 milhões de toneladas de açúcar e 27 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2023). Como consequência desta produção, tem-se a elevada geração de subprodutos nas indústrias sucroalcooleiras, como o bagaço e a palha de cana-de-açúcar. Estes materiais são exemplos de biomassa lignocelulósica, sendo compostos principalmente pela celulose, hemiceluloses e pela lignina. Estas duas últimas revestem e unem, respectivamente, a celulose, conferindo resistência, flexibilidade e hidrofobicidade ao vegetal (COLODETTE e GOMES, 2015).

A palha é composta por folhas, ponteiros e pedaços de colmo, que permaneceram no solo após a colheita mecanizada da cana. Estima-se que sejam gerados 140 kg de palha para cada tonelada de cana produzida (COSTA et al., 2015). Atualmente, a palha é queimada nas usinas para gerar energia ou mantida no solo para melhorar as condições de plantio. Entretanto, este subproduto tem teor significativo de celulose (32,4 - 44,4%, segundo COSTA et al., (2015)), sendo possível transformá-lo em nanocelulose para agregação de valor e mitigação de desperdícios (BILATTO et al., 2020).

A nanocelulose (NC) é obtida pela fragmentação das fibras de celulose presentes na biomassa. Sua dimensão, morfologia e carga superficial são determinadas pelo método de obtenção, o qual inclui etapas de: pré-tratamento, que homogeneiza e purifica a biomassa em termos do teor de celulose; e tratamento mecânico, químico ou enzimático, ou uma combinação deles, responsável por fragmentar as fibras de celulose e gerar a NC. Os nanocristais de celulose (NCC) apresentam “formato de agulha”, comprimento e diâmetro típicos de 50-350 e 5-20 nm, respectivamente, e são comumente obtidos via tratamentos químicos, como a hidrólise ácida. Já as nanofibras de celulose (NFC), por serem produzidas por tratamentos mais brandos, como o tratamento mecânico, apresentam um perfil mais flexível que os NCCs, com comprimentos frequentemente maiores que 1 µm e larguras típicas de 4-100 nm (FOSTER et al., 2018).

A NC tem sido amplamente estudada por ser de fonte renovável, por ser biodegradável e biocompatível, por apresentar possibilidade de funcionalizações física e química, e por possuir elevadas resistência mecânica e área superficial específica. Estas propriedades permitem que a NC seja utilizada em diversas aplicações, como na produção de embalagens, sensores, curativos, cosméticos e eletrônicos. Em muitos dos casos, a nanocelulose atua como reforço, modificando as propriedades da matriz em que se encontra (PHANTHONG et al., 2018; TRACHE et al., 2017).

Estudos da última década (AGARWAL et al., 2018; CHEN et al., 2021; ESPINOSA et al., 2019; FENG et al., 2023; FERRER et al., 2012; GENTIL et al., 2023; HUANG e JIANG, 2023; ROJO et al., 2015; SABARUDDIN et al., 2020; YUAN et al., 2021) têm mostrado que a produção de nanocelulose com lignina residual (NC-L) é uma alternativa sustentável para agregar propriedades à NC. A presença da lignina residual pode reduzir sua hidrofiliabilidade, agregar capacidades antioxidante e de absorção de luz na região do UV e aumentar a estabilidade térmica e a compatibilidade com matrizes poliméricas hidrofóbicas (TROVAGUNTA et al., 2021).

A lignina pode ser extraída da estrutura vegetal com a utilização de agentes de branqueamento, como o cloro (Cl_2), dióxido de cloro (ClO_2), hipoclorito (ClO^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3). O ClO_2 é bastante conhecido e empregado na indústria de polpa de celulose por ser capaz de “produzir polpas de alvuras altas e estáveis, limpas e com boas propriedades de resistência” (COLODETTE e GOMES, 2015). Isso ocorre por este pré-tratamento ser bastante seletivo, proporcionando uma degradação oxidativa eficiente da lignina e não atuando significativamente na degradação dos carboidratos presentes no vegetal. Pelo fato de o ClO_2 apresentar uma rápida decomposição, ele é normalmente gerado a partir do clorito de sódio (NaClO_2) em meio acidificado (com ácido acético, por exemplo), no momento do branqueamento (FARR et al., 2003; SHARMA et al., 2020).

A hidrólise com ácido sulfúrico é um dos métodos mais estudados e conhecidos para a obtenção de NCC. Neste processo, a porção amorfa da celulose é preferencialmente hidrolisada, enquanto a porção cristalina (NCC) é isolada. As propriedades finais da nanocelulose, assim como o rendimento de obtenção, são influenciadas pela concentração do ácido e pelo tempo e pela temperatura de reação. Além disso, com esta metodologia, parte dos grupos hidroxila da superfície dos

nanocristais são substituídos por grupos éster sulfato, o que contribui para a formação de uma suspensão coloidal estável em água (OKSMAN e SAIN, 2006).

Tendo em vista o crescente interesse no estudo da NC-L e o fato de a palha ter sido pouco explorada para este fim, é relevante encontrar respostas para questões como: É necessário realizar pré-tratamentos para obter nanocelulose de palha de cana-de-açúcar? A NC-L obtida a partir da palha *in natura* apresentará bons rendimentos? Qual será o efeito da lignina residual nas propriedades da NC-L (como, na sua morfologia, estabilidade térmica, cristalinidade, estabilidade coloidal, e hidrofilicidade)?

Esta dissertação foi estruturada em seis capítulos da seguinte maneira:

Capítulo 1 – Contextualização e fundamentação teórica do trabalho;

Capítulo 2 – Objetivos gerais e específicos da pesquisa;

Capítulo 3 – Material e métodos utilizados na obtenção de palhas e NC-Ls com diferentes teores de lignina residual;

Capítulo 4 – Resultados e discussões do efeito da lignina residual nas propriedades das palhas e das NC-Ls produzidas;

Capítulo 5 – Conclusões finais e possíveis desdobramentos;

Capítulo 6 – Referências bibliográficas.

1.2 - Fundamentação teórica

1.2.1 - A cana-de-açúcar no Brasil e seus subprodutos

A cana-de-açúcar é uma monocotiledônea do gênero *Saccharum*, da família Graminae, que apresenta um bom desenvolvimento em regiões tropicais e subtropicais. Foi trazida para o Brasil no século XVI, em uma expedição realizada por Martim Afonso de Sousa (SILVA et al., 2021; O'HARA, 2016). Atualmente, o Brasil se destaca como maior produtor de cana-de-açúcar do mundo. Como já citado, na safra de 2022/2023, foram produzidas 610 milhões de toneladas de cana, sendo o estado de São Paulo responsável por cerca de 50% da produção nacional (CONAB, 2023).

O açúcar e o etanol são os principais produtos provenientes da cana. Na última safra, o Brasil produziu 37 milhões de toneladas de açúcar e 27 bilhões de litros de etanol, sendo o estado de São Paulo responsável por 60,7% da produção do açúcar e por 41,1% da produção do etanol (CONAB, 2023). O setor sucroalcooleiro é de grande importância para o país, sendo que apresenta uma participação significativa próxima a 2% no Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro, e gera mais de 800 mil

empregos (SILVA et al., 2021). Além da produção para consumo interno, a exportação também tem um papel significativo para a economia. Na safra de 2022/2023, a China comprou US\$1,57 bilhão em açúcar e a Holanda foi responsável por comprar 31,4% do etanol exportado (CONAB, 2023).

A produção de açúcar e etanol acompanha a geração de subprodutos em diferentes etapas do processo produtivo. A palha, por exemplo, é gerada durante a colheita, já o bagaço é resultado do processo de moagem da cana para extração do caldo. Além destes subprodutos, pode-se citar a torta de filtro, o melaço e a vinhaça. Visando promover uma economia circular e buscando minimizar impactos ao meio ambiente, atualmente estes subprodutos já são reaproveitados pela indústria. O bagaço de cana, por exemplo, é utilizado na geração de energia elétrica e na produção de etanol de segunda geração. A torta de filtro e a vinhaça são utilizadas como fertilizantes, e o melaço é utilizado na produção de ração animal (SILVA et al., 2021).

A palha de cana-de-açúcar, como mencionado anteriormente, é composta pelos resíduos que remanesceram no solo após a colheita mecanizada da cana, que inclui folhas, ponteiros, pedaço de colmo, raízes e partículas de solo (Figura 1.1). Quanto a suas aplicações, este subproduto pode ser mantido no solo para melhorar as condições de plantio, e, assim como o bagaço, pode ser utilizado na geração de energia elétrica nas usinas e na produção de etanol de segunda geração (AGUIAR et al., 2021; BONASSA et al., 2015; SILVA et al., 2021). Além disso, como já citado, devido ao elevado teor de celulose presente na palha, esta pode ser uma matéria-prima promissora para a produção de nanocelulose (AGUIAR et al., 2020; BILATTO et al., 2020; LU et al., 2021).

FIGURA 1.1 - Palha de cana-de-açúcar no solo após a colheita mecanizada da cana.

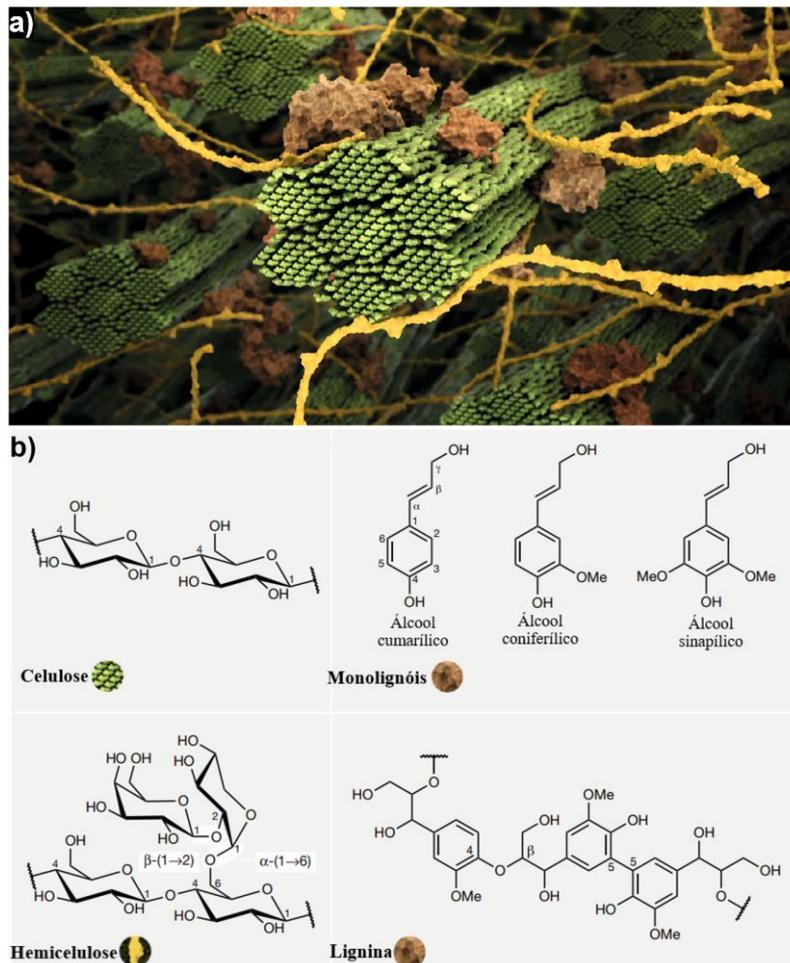


Fonte: BRASILAGRO, 2019.

1.2.2 - Biomassa lignocelulósica: estrutura e composição

A biomassa lignocelulósica apresenta como principais componentes os polissacarídeos (celulose e hemiceluloses) e a lignina, e, em menor quantidade, os extrativos e os minerais. Como exemplos, citam-se as gramíneas, os resíduos da indústria de alimentos, subprodutos agrícolas, como no caso da palha de cana, e até mesmo resíduos florestais (RODIONOVA et al., 2022). A celulose, as hemiceluloses e a lignina são os componentes estruturais da biomassa, e estão presentes na parede celular vegetal. Enquanto a hemicelulose reveste as fibras de celulose, a lignina atua como um “cimento”, unindo as fibras de celulose paralelamente (Figura 1.2) (COLODETTE e GOMES, 2015).

FIGURA 1.2 - Estrutura da biomassa lignocelulósica (a) e de componentes (b). A celulose está representada pela cor verde (com sete microfibrilas formando uma fibra), a hemicelulose, pela cor amarela e a lignina, pela cor marrom.

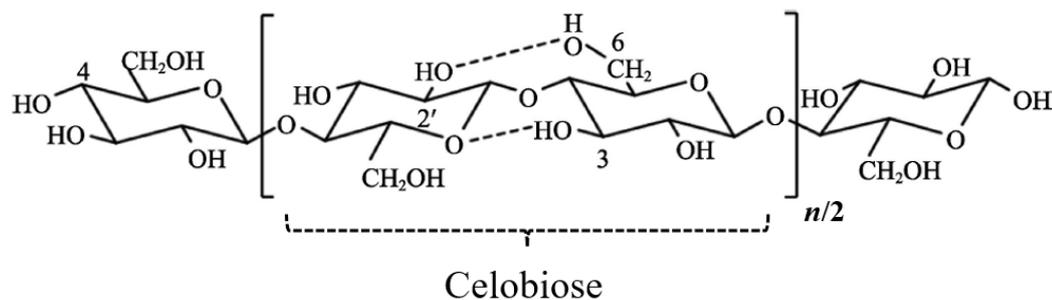


Fonte: PETRIDIS e SMITH, 2018.

1.2.2.1 - Celulose

A celulose é um polímero natural superabundante, estando presente na parede celular de vegetais, algas e animais marinhos (como os tunicados) e podendo ser produzida por bactérias (FOSTER et al., 2018). A celulose é um homopolímero linear, formado pela união de unidades β -D-anidroglicopiranosose via ligações do tipo (1-4) glicosídicas. A Figura 1.3 mostra a estrutura química da celulose e sua unidade de repetição, a celobiose. O valor de n representa o grau de polimerização (GP) da celulose, que pode variar de 500 a 14.000 dependendo da fonte e de seu método de obtenção (EWULONU et al., 2019; RODIONOVA et al., 2022).

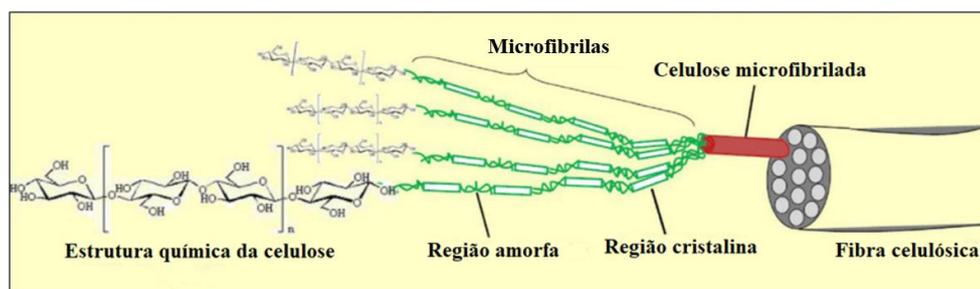
FIGURA 1.3 - Cadeia molecular de celulose e sua unidade de repetição (celobiose). Ligações de hidrogênio intramoleculares entre oxigênios e hidrogênios posicionados nos carbonos C6(O)-C2(H), e C3(H)-C5(O).



Fonte: modificado de EWULONU et al., 2019.

Cada unidade de β -D-anidroglicopiranosose apresenta três grupos hidroxilas, os quais possibilitam a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares. A Figura 1.3 mostra as duas ligações de hidrogênio intramoleculares que existem em uma célula unitária de celulose. Já as ligações de hidrogênio intermoleculares ocorrem entre o hidrogênio do C6 de uma cadeia de celulose com o oxigênio do C3 de uma segunda cadeia. Estas ligações de hidrogênio permitem a organização das cadeias da celulose em uma estrutura de microfibrilas, nas quais alternam regiões cristalinas e amorfas, ou seja, regiões de alto e de baixo ordenamento (Figura 1.4) (RODIONOVA et al., 2022).

FIGURA 1.4 - Estrutura de uma fibra de celulose.



Fonte: LAVOINE et al., 2012.

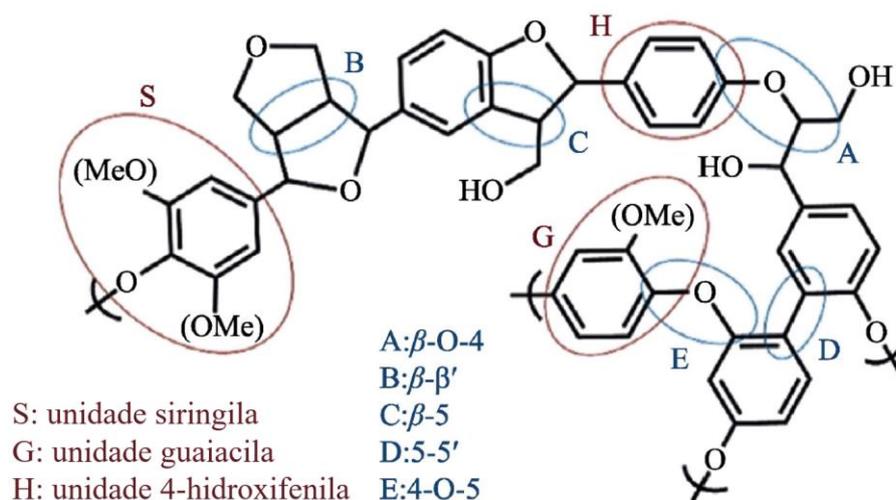
1.2.2.2 - Hemiceluloses

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo composto pela união de diferentes unidades de açúcares e ácidos como “ β -D-xilose, β -D-manose, α -D-galactose, β -D-glicose, α -L-arabinose, ácido 4-O-metilglicurônico, ácido α -D-galacturônico e ácido β -D-glicurônico” (COLODETTE e GOMES, 2015). Para as monocotiledôneas, como a cana-de-açúcar, a hemicelulose predominante é a xilana. Diferente da celulose, a hemicelulose apresenta cadeias ramificadas, estrutura amorfa e menor grau de polimerização, o que a torna mais susceptível à hidrólise ácida. Quanto a sua função, acredita-se que a hemicelulose atue como um intermediário entre a lignina e a celulose, e que possa influenciar o teor de umidade do vegetal. (COLODETTE e GOMES, 2015; COSTA et al., 2015; RODIONOVA et al., 2022).

1.2.2.3 - Lignina

A lignina é uma macromolécula que apresenta uma estrutura heterogênea, amorfa e que é “formada pela polimerização radical dos álcoois p-coumarílico, coniferílico e sinapílico” (COSTA et al., 2015) (Figura 1.2). Como resultado desta polimerização, as principais unidades encontradas na macromolécula são a 4-hidroxifenila, a guaiacila e a siringila (Figura 1.5). A lignina presente nas gramíneas, como na cana-de-açúcar, apresenta em sua estrutura, as três unidades, e por isso é denominada lignina tipo 4-hidroxifenila-guaiacila-siringila, ou tipo H-G-S. A lignina está presente na parede celular do vegetal, desempenha função estrutural, junto à celulose e à hemicelulose, função antimicrobiana e contribui reduzindo “a permeabilidade da parede celular à água, o que facilita seu transporte longitudinal na planta” (COLODETTE e GOMES, 2015).

FIGURA 1.5 - Estrutura básica da lignina.



Fonte: EWULONU et al., 2019.

1.2.2.4 - Extrativos e minerais

Os extrativos são componentes não estruturais da biomassa lignocelulósica, compostos por moléculas de baixa e média massa molar, os quais podem ser extraídos em água ou por solventes orgânicos. Suas funções incluem “cor, aroma, sabor, proteção contra micro-organismos e, ou, herbívoros e reserva nutritiva” (COLODETTE e GOMES, 2015). Sua composição pode incluir terpenos e terpenóides, açúcares, ácidos graxos, gorduras, óleos, fenóis e ceras, dentre outros. Já os minerais constituem a fração inorgânica da biomassa lignocelulósica. Tem-se como exemplos, a sílica, o cálcio, o potássio e outros metais como o magnésio, o ferro e o zinco. Quando a biomassa é submetida a decomposição térmica, o material inorgânico remanescente é denominado como cinzas (MORAIS et al., 2010; COLODETTE e GOMES, 2015).

1.2.3 - Branqueamento de biomassa

O branqueamento é um processo químico responsável pela remoção e/ou modificação de grupos cromóforos presentes na biomassa. Um agente de branqueamento ideal degrada seletivamente os grupos cromóforos, não reage com os carboidratos da biomassa, e apresenta baixos custo e impacto ambiental (COLODETTE e GOMES, 2015; FARR et al., 2003).

Como já mencionado, a lignina pode ser extraída da biomassa utilizando agentes branqueadores como o cloro (Cl_2), dióxido de cloro (ClO_2), hipoclorito (ClO^-),

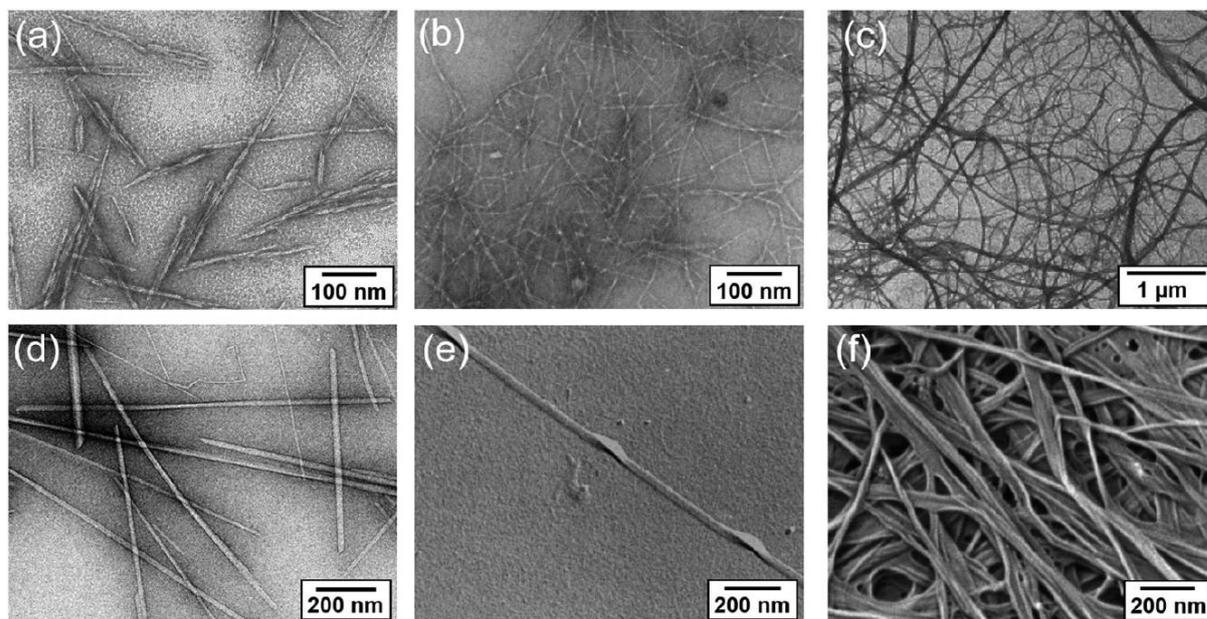
peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3). Cada agente apresenta vantagens e desvantagens de utilização que podem impactar o meio ambiente e/ou as propriedades da polpa de celulose (COLODETTE e GOMES, 2015).

O branqueamento com cloro apresenta vantagens como baixo custo e alta eficiência de deslignificação, entretanto produz um efluente de alta toxicidade devido a formação de compostos organoclorados. Esta desvantagem é superada nos branqueamentos realizados com peróxido de hidrogênio, oxigênio ou ozônio, pois o efluente gerado é livre de cloro. Apesar dessa vantagem, o branqueamento com esses três últimos agentes não atinge uma alta alvura sem degradar parte dos carboidratos presentes na biomassa, o que pode afetar a resistência da polpa celulósica. O branqueamento com hipoclorito ou dióxido de cloro também gera efluentes tóxicos, porém com uma quantidade significativamente menor de compostos organoclorados. O branqueamento com hipoclorito apresenta uma vantagem de custo em relação ao branqueamento com dióxido de cloro. Entretanto, enquanto o tratamento com hipoclorito pode afetar a resistência da polpa de celulose, o branqueamento com dióxido de cloro remove seletivamente a lignina, sem degradar significativamente os carboidratos presentes no vegetal (SHARMA et al., 2020).

1.2.4 - Nanocelulose: propriedades, métodos de obtenção e aplicações

Como mencionado anteriormente, a nanocelulose (NC) é obtida pela fragmentação das fibras de celulose presentes na biomassa. É denominada desta maneira, pois pelo menos uma de suas dimensões é menor que 100 nm. As NCs podem ser agrupadas nas categorias: nanocristais de celulose (NCCs), nanofibrilas de celulose (NFCs), NCCs de tunicados (t-NCCs), celulose de algas (CA) e celulose bacteriana (CB), conforme a fonte da celulose, a morfologia e tamanho das nanoestruturas. Na Figura 1.6 é possível observar os diferentes tipos de nanocelulose. Ressalta-se que, além da fonte de celulose, outros fatores diferenciam as nanocelulose produzidas são, o método de extração e a química de superfície (FOSTER et al., 2018; TRACHE et al., 2020).

FIGURA 1.6 - NCs de diferentes fontes. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de NCCs de polpa celulósica de madeira (a); NFCs produzidas com oxidação por TEMPO (b); NFCs de polpa de beterraba (c); t-NCCs (d) e CA, da alga verde *Micrasterias denticulata*; (e); imagens de microscopia eletrônica de varredura da CB, produzida por *Acetobacter xylinum* (f).



Fonte: FOSTER et al., 2018.

A NC extraída de fontes vegetais, como a palha de cana-de-açúcar, pode ser classificada como NCC ou NFC. Com já citado, os NCCs podem ser obtidos via hidrólise ácida (com ácido sulfúrico, clorídrico ou ácidos orgânicos) ou enzimática, a qual promove a clivagem das ligações glicosídicas da celulose, preferencialmente em sua região amorfa. O comprimento típico dos NCCs varia de 50 a 350 nm e o diâmetro de 5 a 20 nm. Sua morfologia é semelhante à de uma agulha (Figura 1.6a) e sua estrutura é mais rígida e menor quando comparada às nanofibras, pois é composta majoritariamente pela porção cristalina da celulose. As NFC são usualmente obtidas via tratamentos mecânicos e apresentam uma estrutura mais flexível, devido à presença tanto da fração cristalina quanto da fração amorfa da celulose (Figura 1.6c). Como já mencionado, possuem comprimentos maiores que 1 μm e larguras que variam de 4 a 100 nm (FOSTER et al., 2018; HUANG et al., 2019a; TRACHE et al., 2020).

A NC é um material de fonte renovável, é biodegradável e biocompatível, apresenta possibilidade de funcionalização, e possui elevada resistência mecânica e área superficial específica (PHANTHONG et al., 2018; TRACHE et al., 2017). Este

conjunto de características permite que a NC seja aplicada em diferentes áreas do conhecimento, como na melhora de propriedades de embalagens, na produção de filtros para purificação de água, na construção de dispositivos para conversão e armazenamento de energia, e até mesmo na produção de dispositivos eletrônicos (LIU et al., 2022). Apesar das inúmeras vantagens do estudo da nanocelulose, ainda existem limitações como o seu elevado custo de produção e a sua natureza hidrofílica que resulta em uma baixa compatibilidade com matrizes hidrofóbicas (TROVAGUNTA et al., 2021).

A literatura reporta a obtenção de nanocelulose de diversas fontes vegetais. Cita-se como exemplo o algodão (HUANG et al., 2019b), as polpas de madeira, como a polpa de eucalipto (HERRERA et al., 2018) e os subprodutos/resíduos agrícolas, como a palha de trigo (ESPINOSA et al., 2020), a palha de arroz (RAZALI et al. 2021), o bagaço e a palha da cana-de-açúcar (AGUIAR et al., 2020). O uso dos resíduos agrícolas para a produção da nanocelulose tem chamado a atenção dos cientistas, devido ao baixo custo e por incentivar uma economia circular.

O reaproveitamento da palha de cana-de-açúcar para produzir a nanocelulose já foi reportada na literatura. BILATTO et al. (2020) produziram NCCs de palha utilizando o pré-tratamento organossolve, seguido pela hidrólise com ácido sulfúrico e tratamento sonoquímico (ultrassom). Foram avaliadas diferentes condições de hidrólise e os NCCs com maior razão de aspecto (razão comprimento/largura) foram produzidos nas condições de 75 min de hidrólise a 45 °C e com concentração de 60% (m/m) do ácido e 10 min de sonicação. A razão de aspecto dos NCCs produzidos foi de $30,1 \pm 14,8$ e o rendimento em massa desta produção foi de 50,9%. AGUIAR et al. (2020) estudaram o efeito do tempo da hidrólise enzimática na obtenção de NCCs de palha de cana-de-açúcar. Foram obtidos NCCs com elevada estabilidade térmica (temperatura inicial de decomposição térmica maiores que 300 °C) e índices de cristalinidade de 66,7 a 70,4%. LU et al. (2021) também produziram NCCs utilizando a hidrólise com ácido sulfúrico, porém utilizando dois procedimentos para purificar a palha antes de extrair os nanocristais (o branqueamento com clorito de sódio e o tratamento alcalino com hidróxido de sódio). Nas condições de hidrólise de 45 °C, 45 min e concentração do ácido de 64% (m/m), foi obtido um rendimento de 21,8% na extração dos NCCs e um índice de cristalinidade relativo de 62,6%.

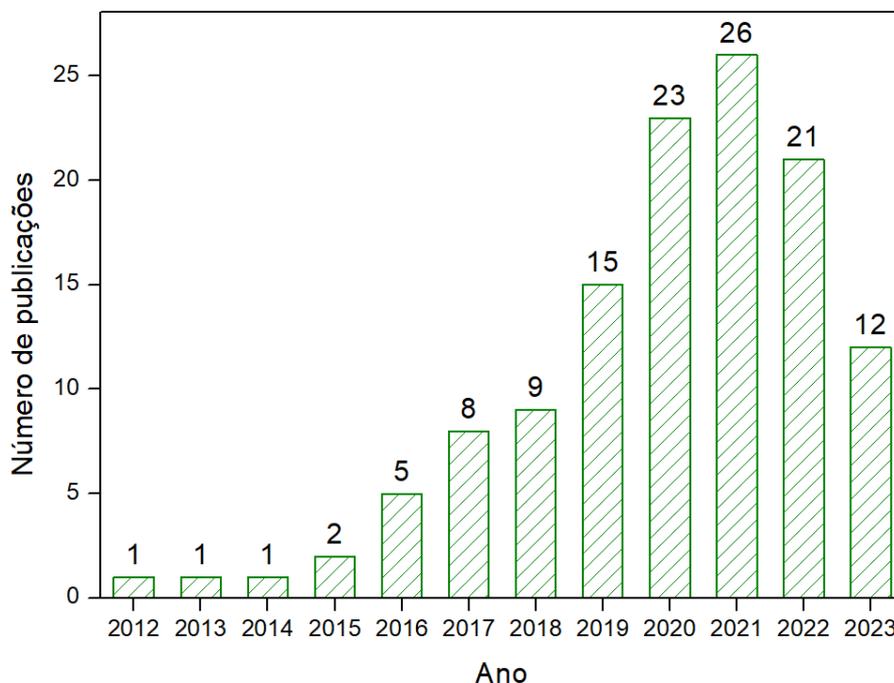
1.2.5 - Nanocelulose com lignina residual

A produção de nanocelulose geralmente inclui etapas de purificação da biomassa (como branqueamentos, tratamentos alcalinos, hidrotérmicos, entre outros), os quais extraem componentes como a lignina, hemiceluloses e os extrativos. Entretanto, como mencionado anteriormente, estudos recentes têm mostrado que a presença da lignina residual na nanocelulose pode reduzir sua hidrofiliidade, agregar capacidades antioxidante e de absorção na região do UV, aumentar a estabilidade térmica e a compatibilidade com matrizes poliméricas hidrofóbicas, como poli(ácido láctico), polietileno e poliestireno. Deste modo, não extrair a lignina no processo de obtenção da nanocelulose pode ser uma alternativa para atenuar as desvantagens de alto custo de produção e de incompatibilidade com matrizes hidrofóbicas. Atualmente, nanocristais (NCC-L) e nanofibras (NFC-L) de celulose com lignina residual já são produzidas em grande escala pela empresa *GranBio Technologies*, na Geórgia (USA), a partir de madeira de eucalipto e do bagaço de cana-de-açúcar (NAIR et al., 2018; TROVAGUNTA et al., 2021).

Utilizando a base de dados do *Web of Science*, foram encontrados 124 artigos relacionados a nanocelulose com lignina residual, tanto do tipo NFC-Ls quanto NCC-Ls. A Figura 1.7 mostra o aumento do número de publicações com o passar dos anos, expondo o crescente interesse dos cientistas por esse tema e a sua relevância.

Parte dos trabalhos publicados (AGARWAL et al., 2018; CHEN et al., 2021; FENG et al., 2023; FERRER et al., 2012; GENTIL et al., 2023; NAIR et al., 2015; ROJO et al., 2015; YUAN et al., 2021) investigou o efeito da lignina nas propriedades finais da nanocelulose, como na sua morfologia, propriedades mecânicas, térmicas, superficiais e de barreira de *nanopapers* de NC-L. Já outros estudos (NAIR et al., 2018; ESPINOSA et al., 2019; HUANG e JIANG, 2023; SABARUDDIN et al., 2020) utilizaram a NC-L para produzir nanocompósitos poliméricos e analisaram o efeito da lignina residual nas propriedades finais do material.

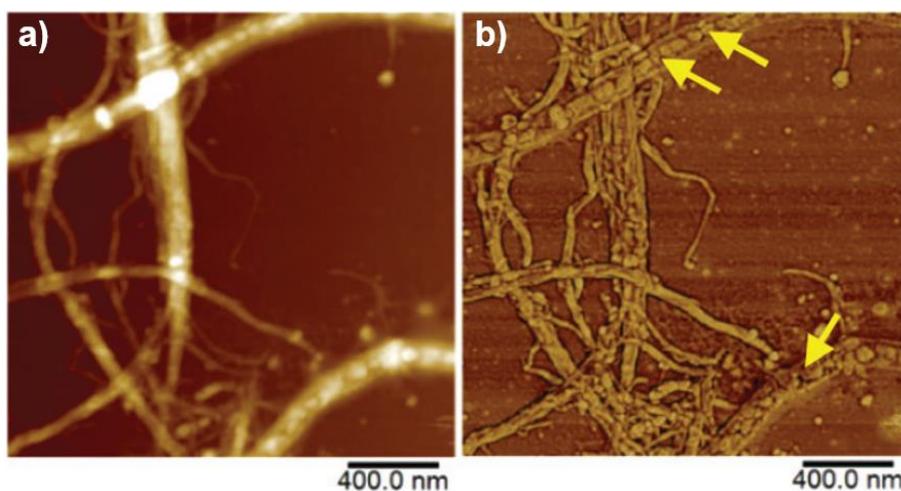
FIGURA 1.7- Número de publicações por ano relacionadas a NC-L (*Web of Science*). A expressão de busca utilizada foi: “ligno-nanocellulose” or “lignin containing cellulose nanomaterials” or “lignocellulosic nanocrystals” or “lignocellulosic nanofibrils” or “lignin containing nanocellulose” or (“residual lignin” and “nanocellulose”).



Fonte: o autor.

Como exemplo, menciona-se o trabalho de ROJO et al. (2015), no qual os autores isolaram NFC-Ls com 0, 2, 4 e 14% de lignina residual a partir de uma madeira (Espruce da Noruega). Com a produção dos *nanopapers* de NFC-L, foi observado um maior ângulo de contato com água e uma menor permeabilidade a oxigênio nos materiais com maior teor de lignina. Além disso, os autores observaram nanopartículas de lignina em imagens de microscopia de força atômica das amostras de NFC-Ls (Figura 1.8). Em um segundo trabalho, FENG et al. (2023) produziram *nanopapers* de NFC-L extraída de bambu, o qual apresentava um teor de 29,5% de lignina. Os autores obtiveram um material capaz de absorver $99,8 \pm 0,2\%$ da radiação UVB e $96,1 \pm 0,2\%$ da radiação UVA.

FIGURA 1.8 - Imagens de AFM de altura (a) e fase (b) da NFC-L com 14% de lignina residual. As nanopartículas de lignina estão mostradas pelas setas amarelas.



Fonte: ROJO et al., 2015.

Como exemplo de aplicação da NC-L, cita-se o trabalho de NAIR et al. (2018) que, visando produzir embalagens sustentáveis, prepararam filmes de poli(ácido láctico) (PLA) com diferentes concentrações de NFC-L. Com seus resultados, observou uma melhora nas propriedades mecânicas, térmica e de barreira à vapor de água com a adição de 10% em massa da NFC-L no filme polimérico. Em um segundo trabalho, ESPINOSA et al. (2019) modificaram filmes de poli(acetato de vinila) (PVA) com NFC-L e observaram um aumento das capacidades antioxidante e de absorção da radiação UV com o aumento da quantidade de NFC-L no material. Por fim, menciona-se o trabalho GUO et al. (2021), no qual foi avaliado o desempenho de NFC-Ls de madeira de eucalipto na estabilização de emulsões *Pickering*. Foi observado que a NFC-L com um maior teor de lignina residual (17%) produziu emulsões óleo-em-água mais estáveis, com menor tamanho de gota e maior resistência a cremeação.

CAPÍTULO 2

2 - Objetivos

2.1 - Objetivo geral

O objetivo geral deste projeto foi preparar e caracterizar nanocelulose a partir da palha de cana-de-açúcar com diferentes teores de lignina residual, a fim de investigar a influência da lignina nas propriedades finais do material.

2.2 - Objetivos específicos

Os objetivos específicos incluíram:

- Obter palhas de cana-de-açúcar com diferentes teores de lignina pelo método de branqueamento com dióxido de cloro (ClO_2);
- Caracterizar as palhas quanto a sua composição, morfologia, índice de cristalinidade, propriedades térmicas e quanto ao rendimento em massa do branqueamento;
- Isolar NC-Ls com diferentes teores de lignina residual utilizando a hidrólise ácida com ácido sulfúrico;
- Estudar o efeito da lignina residual no rendimento em massa da hidrólise ácida, nas propriedades morfológicas e térmicas, no índice de cristalinidade, no potencial zeta e na hidroflicidade das NC-Ls produzidas.

CAPÍTULO 3

3 - Material e métodos

3.1 - Material

A palha de cana-de-açúcar estudada neste trabalho foi doada pela Usina Ipiranga Agroindustrial da unidade de Descalvado - SP. Os demais reagentes utilizados no projeto, com suas respectivas especificações, foram: clorito de sódio (NaClO_2 , teor $\geq 78,0\%$, Neon); ácido acético glacial P.A. ACS (Dinâmica Química Contemporânea); hexano (Chromasolv™, Honeywell); acetona P.A. ACS (Alphatec); álcool etílico absoluto P.A. (Êxodo Científica); hidróxido de sódio P.A. ACS (NaOH, Dinâmica Química Contemporânea); ácido sulfúrico P.A. ACS (H_2SO_4 , LS Chemicals), para determinação do teor de lignina insolúvel; ácido sulfúrico P.A. ACS (H_2SO_4 , Gota Química Produtos Químicos), para obtenção da nanocelulose; membranas de celulose para tubos de diálise (largura média de 76 mm, retenção de moléculas com peso molecular maior que 12 kDa, Sigma-Aldrich); e sulfato de cobre pentahidratado P.A. ACS ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Synth).

3.2 - Metodologia

Os procedimentos experimentais, incluindo a obtenção e caracterização dos materiais, foram realizados no Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação (São Carlos - SP). Já as análises de microscopia de força atômica (AFM) e nanoespectroscopia de infravermelho (AFM-IR) foram realizadas no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), em Campinas - SP.

3.2.1 - Coleta da palha de cana-de-açúcar

A palha de cana-de-açúcar foi coletada diretamente do solo no dia 18 de outubro de 2021, cerca de quinze dias após a colheita da cana. A biomassa foi armazenada em saco plástico de 100 L e mantida em ambiente seco e arejado.

3.2.2 - Moagem da palha de cana-de-açúcar

Iniciaram-se os experimentos com o preparo da palha *in natura* (PIN) para receber o branqueamento. Foi realizada uma moagem inicial da palha em um

moinho de facas KIE (modelo MAK250), seguida pela peneiração em peneira de aço inoxidável (tamis, abertura de malha de 300 μm) com o intuito de retirar as partículas de solo que se desprenderam da biomassa. Na sequência, a palha foi moída em um segundo moinho de facas (Solab, modelo SL 31, abertura de malha de 2,5 mm). Finalizou-se o preparo da palha peneirando-a novamente com a mesma peneira, a fim de assegurar a homogeneidade de tamanho das fibras e de remover as eventuais partículas de solo remanescentes. O esquema da Figura 3.1 resume o processo de moagem da palha de cana-de-açúcar.

FIGURA 3.1 - Esquema da moagem da palha de cana-de-açúcar.



3.2.3 - Testes de branqueamento da palha de cana-de-açúcar

A fim de isolar NC-Ls com diferentes teores de lignina residual, foi necessário obter, primeiramente, biomassas com diferentes teores de lignina. O tratamento selecionado foi com ClO_2 por este degradar seletivamente a lignina e não atuar significativamente na degradação dos outros carboidratos da biomassa.

Com base nos trabalhos de YANG et al. (2019) e MORAIS et al. (2010), foram conduzidos seis testes de branqueamento na palha *in natura*, variando-se o tempo e a quantidade de reagente. A finalidade destes testes foi compreender o quanto este tratamento poderia extrair de lignina do vegetal, e qual tempo e quantidade de reagentes seriam apropriados para obterem-se palhas com diferentes teores de lignina. Os testes foram realizados de maneira exploratória, em quantidade reduzida e sem repetição. Em cada teste, clorito de sódio (NaClO_2) e ácido acético glacial (HAc) foram adicionados a uma suspensão de palha *in natura* em água destilada, em um sistema com agitação magnética e temperatura (70 $^{\circ}\text{C}$) constantes. O branqueamento foi cessado com banho de gelo por 30 min. Em seguida, o sobrenadante foi retirado por filtração utilizando uma peneira de aço inoxidável (tamis, abertura de malha de 53 μm). Por fim, a biomassa resultante foi seca em estufa a 40

°C. A Tabela 3.1 apresenta as condições experimentais dos testes de branqueamento realizados.

TABELA 3.1 - Condições experimentais dos testes de branqueamento da palha *in natura*: tempo de reação (t, em horas) e o número de adições de NaClO₂ e de HAc.

Método ^a	Tempo de reação, t (h)	Nº de adições de NaClO ₂ e HAc ^b
1	1	1
2	3	1
3	5	1
4 ^c	1	1
5	3	2
6	5	3

^a Suspensão com 10 g de palha em 200 mL de água destilada; ^b Cada adição equivale a 4 g de NaClO₂ e 1,25 mL de HAc, e estas foram realizadas em t = 0 h nos métodos 1, 2, 3 e 4, em t = 0 e 1 h no método 5 e em t = 0, 1 e 3 h no método 6; ^c Dobro de solução, portanto, adicionaram-se 8 g de NaClO₂ e 2,5 mL de HAc na suspensão de 10 g de palha em 400 mL de água destilada.

Utilizando o roteiro descrito por MORAIS et al. (2010), detalhado na seção 3.2.6.1, foram determinados os teores de extrativos, cinzas e lignina insolúvel das palhas branqueadas. O rendimento em massa do branqueamento (R), em porcentagem, foi calculado pela Equação 1.

$$R(\%) = \frac{m_f}{m_i} \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

Sendo m_i a massa inicial da palha *in natura* que foi submetida ao tratamento e m_f , a massa final da palha branqueada.

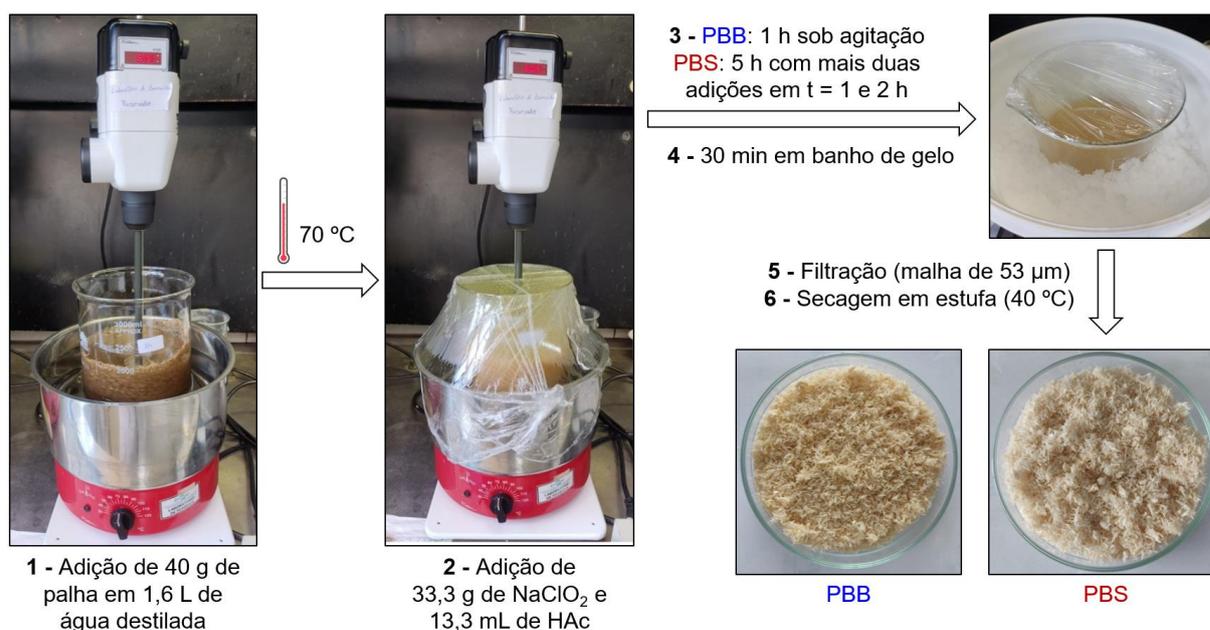
3.2.4 - Branqueamentos da palha em condição branda e severa

Com a análise dos teores de lignina insolúvel obtidos para as palhas branqueadas, apresentada no Capítulo 4, o método 4 foi selecionado como uma das condições de branqueamento a ser estudada, a condição branda. Definiu-se, também, a condição severa, na qual foram realizadas três adições de reagentes iguais ao método 4, e foi utilizado um tempo de reação de 5 h.

Portanto, a palha *in natura* moída foi submetida a duas condições de branqueamento, uma branda e outra severa, gerando as palhas branqueadas PBB e

PBS, respectivamente (Figura 3.2). A PBB foi produzida adicionando-se 33,3 g de NaClO_2 e 13,3 mL de HAc em uma suspensão de 40,0 g da PIN e 1,6 L de água destilada. O sistema permaneceu em agitação e aquecimento ($70\text{ }^\circ\text{C}$) constantes por 1 h. Assim como foi feito para os testes de branqueamento, a reação foi cessada com banho de gelo por 30 min, o sobrenadante foi filtrado através de peneira de aço inoxidável (tamis, abertura de malha de $53\text{ }\mu\text{m}$) e a biomassa branqueada foi seca em estufa a $40\text{ }^\circ\text{C}$. A PBS foi produzida de maneira análoga, porém foram realizadas três adições de 33,3 g de clorito de sódio e 13,3 mL de ácido acético glacial nos tempos 0, 1 e 2 h, e o sistema foi mantido sob agitação e aquecimento por um total de 5 h. Os branqueamentos foram realizados em triplicata e os rendimentos em massa também foram calculados pela Equação 1.

FIGURA 3.2 - Esquema do branqueamento da palha *in natura* nas condições branda (PBB) e severa (PBS).



3.2.5 - Hidrólise ácida: obtenção da nanocelulose

A obtenção das NC-Ls a partir das palhas *in natura* e branqueadas foi realizada com base na metodologia utilizada por BILATTO et al. (2020). O mesmo procedimento de hidrólise ácida foi aplicado para os três tipos de palhas.

A hidrólise ácida foi realizada com 2,5 g da biomassa moída em malha de 30 mesh (PIN, PBB ou PBS) e 50 mL de uma solução 60% (m/m) de ácido sulfúrico (H_2SO_4), sob aquecimento ($45\text{ }^\circ\text{C}$) e agitação magnética constantes, por 75 min. A reação foi cessada com a adição de 250 mL de água Milli-Q gelada e um banho de

gelo por cerca de 2 h. A fim de remover o excesso de ácido, realizou-se a lavagem da NC-L. Para isto, quatro centrifugações foram realizadas (12.000 rpm, 15 min, 20 °C), descartando-se o sobrenadante e adicionando água Milli-Q entre as centrifugações. A suspensão de NC-L obtida foi colocada em tubos para diálise, na qual permaneceu por cerca de quatro semanas. Por fim, em um banho de gelo, a suspensão foi sonicada por 10 min (Sonicador Q Sonics Q1375, 50 °C, amplitude de 40%, frequência de 20 kHz). Parte da suspensão de NC-L foi liofilizada para caracterização e o restante foi armazenado em geladeira. Nesta última, foi adicionado 1 mL de clorofórmio para prevenir contaminações. A Figura 3.3 resume o procedimento utilizado para obter as NC-Ls. Nomeou-se NC-L_{PIN} a nanocelulose obtida através da hidrólise ácida da palha *in natura* e NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS} as nanoceluloses obtidas das palhas branqueadas em condições branda e severa, respectivamente. Nesta dissertação, a cor verde é utilizada para se referir às amostras PIN e NC-L_{PIN}, a azul para PBB e NC-L_{PBB}, e a vermelha para PBS e NC-L_{PBS}.

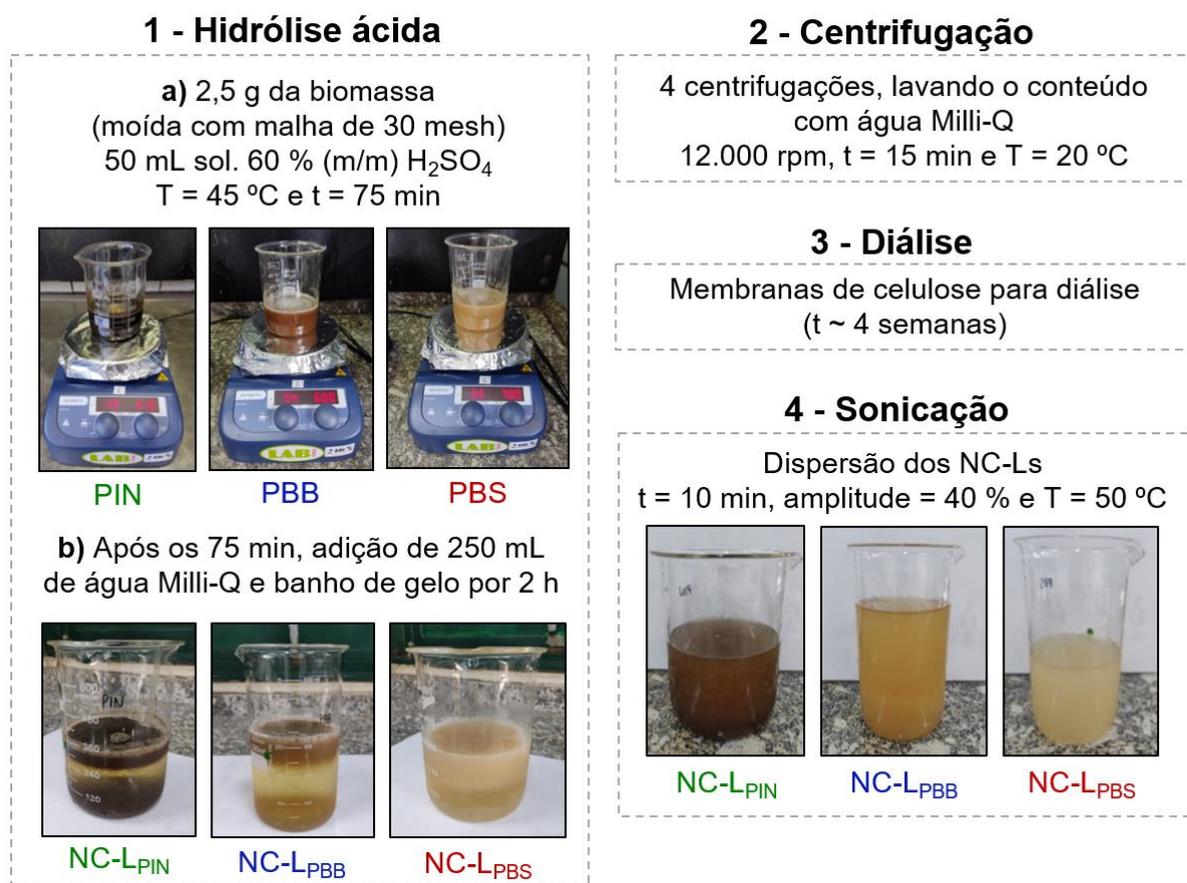
A suspensão de NC-L_{PIN} apresentou precipitados, que foram removidos do sistema por centrifugação a 5000 rpm, por 2 min, a 20 °C. Por fim, o rendimento e a concentração das suspensões de NC-L foram obtidos via método gravimétrico (BILATTO et al., 2020). Para isto, três alíquotas de volumes definidos para cada NC-L foram transferidas para recipientes previamente pesados. As suspensões foram secas a 45 °C, colocadas em dessecadores por 30 min, e pesadas novamente. A Equação 2 foi utilizada para determinar a concentração das suspensões de NC-L, e a Equação 3, para a calcular o rendimento em massa da hidrólise ácida.

$$C \% \left(\frac{m}{V} \right) = \frac{100 \cdot (M_{RN} - M_R)}{V_p} \quad \text{Equação 2}$$

$$R \% = \frac{(V_f \cdot C)}{M_i} \quad \text{Equação 3}$$

Em que C é a concentração [% (m/V)] da suspensão de NC-L; M_R é a massa [g] do recipiente; M_{RN} é a massa [g] do recipiente com a NC-L após a secagem em estufa; V_p é o volume [mL] da suspensão adicionada ao recipiente; R [% (m/m)] é o rendimento da hidrólise; V_f é o volume final [mL] da suspensão obtida com a extração; e M_i é a massa [g] inicial de palha submetida a hidrólise.

FIGURA 3.3 - Esquema da obtenção da NC-L a partir das palhas PIN, PBB e PBS.



3.2.6 - Caracterizações

As palhas em estudo (PIN, PBB e PBS) foram caracterizadas por análises de composição (MORAIS et al., 2010) e pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia na região do infravermelho (ATR-FTIR), termogravimetria (TG) e difratometria de raios-X (DRX). Para realizar estas análises, as palhas foram moídas em moinho de facas Solab (Modelo SL 31), com uma peneira de malha de 30 mesh.

As NC-Ls (NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}) foram caracterizadas pelas técnicas de ATR-FTIR, TG, DRX, espalhamento de luz eletroforético (ELS), microscopia eletrônica de varredura com emissão por campo (MEV-FEG), microscopia de força atômica (AFM) e nanoespectroscopia de infravermelho (AFM-IR). Também foi estudada a hidrofiliicidade das NC-Ls através de um teste gravimétrico de absorção de água.

3.2.6.1 - Composição das palhas *in natura* e branqueadas

A composição das palhas (teores de umidade, extrativos, cinzas, lignina solúvel, holocelulose, alfacelulose e hemicelulose) foi determinada pelo método descrito por MORAIS et al. (2010), e o teor de lignina insolúvel, pelo método de Klason (TAPPI, 2006). As análises foram realizadas em triplicata para cada amostra de biomassa, com exceção da holocelulose, da alfacelulose e da hemicelulose, que foram quantificadas em duplicata.

O teor de umidade das palhas com e sem extrativos foi determinada utilizando uma balança determinadora de umidade (ID50, Marte), segundo a norma ABNT NBR 14929 (ABNT, 2017). Foi utilizado 1,0 g de amostra, temperatura final de 105 °C, uma porcentagem de perda de umidade de 0,1% e tempo de estabilização de 30 s.

Para a determinação do teor de cinzas, cadinhos foram previamente limpos em mufla a 600 °C por 30 min. A análise ocorreu com a calcinação em mufla de 1,5 g de palha, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min até 600 °C, na qual permaneceu por 3 h. As amostras calcinadas permaneceram 24 h em dessecador antes da pesagem final. A Equação 4 foi utilizada para determinar o teor de cinzas (TC, %).

$$TC (\%) = \left(\frac{MCA - MC}{MA} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 4}$$

Em que MA é a massa da amostra de palha antes da calcinação; MC é a massa do cadinho limpo e seco; e MCA é a massa final do conjunto cadinho/amostra após a calcinação.

O teor de extrativos das palhas foi determinado com duas extrações consecutivas em um sistema de extração com Soxhlet. As amostras de palha (cerca de 4,0 g cada) foram transferidas para cartuchos de papel de filtro, onde permaneceram por 24 h em um dessecador. A primeira extração foi realizada com acetona (200 mL em cada sistema) e durou 6 h. Na segunda extração foi utilizado 250 mL da mistura hexano:etanol (1:1) e um tempo total de 24 h. Os cartuchos com as amostras foram secos em estufa a 40 °C por 72 h, e permaneceram 24 h em um dessecador antes da pesagem final. As Equações 5 e 6 foram utilizadas para calcular o teor de extrativos (TE, %) e o teor de extrativos corrigido (TE_{cor}, %).

$$TE (\%) = \left(\frac{MA - (MRSE - MC)}{MA} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 5}$$

$$TE_{cor} (\%) = \frac{TE \cdot (100 - TU)}{100} \quad \text{Equação 6}$$

Em que MA é a massa da amostra de palha antes da extração; MC, a massa cartucho; MCSE, a massa do sistema cartucho/amostra sem extrativos; e TU, o teor de umidade da palha com extrativos.

O teor total de lignina foi determinado utilizando o método de Klason e o método de Goldshimid. O método de Klason consiste na solubilização dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose) da amostra utilizando uma solução de ácido sulfúrico 72% (m/m). Uma pequena porção da lignina é solubilizada no processo, e esta é determinada por um método espectroscópico (MARABEZI, 2009). A determinação se iniciou com a maceração de 1,0 g da palha sem extrativos e 17 mL da solução 72% (m/m) de ácido sulfúrico por 15 min. Após repouso de 24 h, 306 mL de água destilada foram adicionados ao sistema. O conteúdo foi transferido para um sistema de refluxo, no qual permaneceu por 4 h. A lignina insolúvel foi filtrada em um funil de vidro sinterizado (nº 4), seguido pela coleta de uma alíquota do sobrenadante para a determinação do teor de lignina solúvel. A lignina insolúvel foi lavada até atingir o pH da água de lavagem e seca em estufa a 40 °C por 72 h. Após permanecer 24 h em dessecador, a lignina insolúvel foi pesada. As Equações 7 e 8 foram utilizadas para determinar o teor de lignina insolúvel (TLI, %) e o teor de lignina insolúvel corrigido (TLI_{cor}, %).

$$TLI (\%) = \left(\frac{MFL - MF}{MA} \cdot 100 \right) - TC \quad \text{Equação 7}$$

$$TLI_{cor} (\%) = \frac{TLI \cdot [100 - (TE_{cor} + TU)]}{100} \quad \text{Equação 8}$$

Em que MA é a massa inicial da amostra de palha sem extrativos; MF, a massa do papel de filtro; MFL, a massa do papel de filtro com a lignina insolúvel; TC, o teor de cinzas; TE_{cor}, o teor de extrativos corrigido; e TU, o teor de umidade da palha sem extrativos.

O teor de lignina solúvel foi determinado analisando o sobrenadante da etapa anterior em um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu 1600). Foram realizadas medidas de absorvância do sobrenadante em uma cubeta de quartzo, no intervalo de comprimento de onda de 280 a 215 nm e com uma velocidade de varredura média.

Nos casos em que o valor da absorvância ultrapassou a unidade, as amostras foram diluídas em uma solução de 4% (m/m) de ácido sulfúrico. A partir das Equações 9, 10, 11 e 12 foi possível calcular o teor de lignina solúvel (TLS, %) e o teor de lignina solúvel corrigido (TLS_{cor}, %).

$$\text{CLS (g/L)} = \frac{4,53 \cdot A_{215} - A_{280}}{300} \quad \text{Equação 9}$$

$$\text{MLS} = 0,323 \cdot \text{FD} \cdot \text{CLS} \quad \text{Equação 10}$$

$$\text{TLS (\%)} = \left(\frac{\text{MLS}}{\text{MA}} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 11}$$

$$\text{TLS}_{\text{cor}} (\%) = \frac{\text{TLS} \cdot [100 - (\text{TE} + \text{TU})]}{100} \quad \text{Equação 12}$$

Em que CLS é a concentração de lignina solúvel em g/L; A₂₁₅ e A₂₈₀, as absorvâncias nos comprimentos de onda 215 e 280 nm; MLS, a massa de lignina solúvel [g]; FD, o fator da diluição (se for realizada uma diluição de 1:2, o fator de diluição equivale a 3); MA, a massa inicial da amostra de palha, sem umidade e sem extrativos; TE_{cor}, o teor de extrativos corrigido; e TU, o teor e umidade da palha sem extrativos.

O teor de holocelulose foi obtido via branqueamento com NaClO₂ em meio acidificado com HAc. Para isso, cerca de 2,0 g da palha sem umidade e sem extrativos foram transferidos para um sistema contendo 80 mL de água destilada e aquecimento (70 °C) e agitação constantes. O tempo total do branqueamento foi de 5 h e foram realizadas adições de 670 µL de HAc e 1,6 g de NaClO₂ nos tempos 0, 1 e 2 h. A reação foi cessada em banho de gelo por 30 min. A holocelulose foi filtrada em funil de vidro sinterizado (nº 2), lavada até atingir o pH da água de lavagem e seca em estufa a 40 °C por 72 h. A pesagem das amostras foi realizada após 24 h no dessecador. O teor de holocelulose (TH, %) e o teor de holocelulose corrigido (TH_{cor}, %) foram calculados a partir das Equações 13 e 14.

$$\text{TH (\%)} = \left(\frac{\text{MFH} - \text{MF}}{\text{MA}} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 13}$$

$$\text{TH}_{\text{cor}} (\%) = \frac{\text{TH} \cdot [100 - (\text{TE} + \text{TU})]}{100} \quad \text{Equação 14}$$

Em que MA é a massa da amostra de palha sem umidade e sem extrativos; MF, a massa do funil de vidro sinterizado; MFH, a massa do sistema

funil/holocelulose seco; TE_{cor} , o teor de extrativos corrigido; e TU, o teor e umidade da palha sem extrativos.

O teor de alfacelulose foi determinado solubilizando a hemicelulose presente na amostra de holocelulose com uma solução 17,5% (m/V) de NaOH. Para isso, 15 mL da solução alcalina foi transferida para um almofariz contendo 1,0 g da amostra seca de holocelulose. Após repouso de 2 min e maceração de 8 min, 40 mL de água foram adicionados ao sistema. Assim como realizado para a holocelulose, a alfacelulose foi filtrada em funil de vidro sinterizado (nº 2), lavada até atingir o pH da água de lavagem e seca em estufa a 40 °C por 72 h. A pesagem das amostras foi realizada após 24 h no dessecador. As Equações 15, 16 e 17 foram utilizadas para calcular os teores de alfacelulose (TA , %), alfacelulose corrigido (TA_{cor} , %) e hemicelulose (THE , %).

$$TA (\%) = \left(\frac{MFA - MF}{MH} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 15}$$

$$TA_{cor} (\%) = \frac{[TH_{cor} \cdot TA]}{100} \quad \text{Equação 16}$$

$$THE_{cor} (\%) = TH_{cor} - TA_{cor} \quad \text{Equação 17}$$

Em que MH é a massa da amostra de holocelulose; MF, a massa do funil de vidro sinterizado; MFA, a massa do sistema funil de vidro sinterizado/alfacelulose coletada seco; e TH_{cor} , o teor corrigido de holocelulose.

Por fim, a Tabela 3.2 apresenta um resumo dos métodos empregados na determinação da composição das palhas e o número de repetições para cada caso.

TABELA 3.2 - Metodologias para determinação da composição das palhas (MORAIS et al., 2010).

Componente	Método	Repetições
Umidade	Balança determinadora de umidade (1,0 g de amostra, 105 °C e % de perda de umidade de 0,1%) (ABNT, 2017)	3
Cinzas	Calcinação em mufla (taxa de aquecimento 10 °C.min ⁻¹ e T máx de 600 °C por 3 h)	3
Extrativos	Duas extrações em extrator Soxhlet (6 h com acetona e 24 h com mistura hexano:etanol (1:1))	3
Lignina insolúvel	Método de Klason (TAPPI, 2006)	3
Lignina solúvel	Método de Goldshimid	3
Holocelulose	Oxidação por cloro (Adições de ácido acético e clorito de sódio, 70 °C por 5 h)	2
Alfacelulose	Tratamento alcalino em amostra de holocelulose com solução 17,5% (m/m) de NaOH	2
Hemicelulose	Diferença da determinação de holocelulose e celulose	2

3.2.6.2 - Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das palhas *in natura* e branqueadas foi analisada utilizando um microscópio eletrônico de varredura (JSM-6510/GS, JEOL, Japan), que operou em 5 e 10 kV, com uma distância de trabalho de 10 mm. Para as análises, as amostras secas foram depositadas em um substrato de carbono e recobertas com ouro.

As NC-Ls foram analisadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura com emissão por campo (JSM-6510, JEOL, Japan), que operou em 2 e 5 kV, com uma distância de trabalho de 3 e 8 mm. As amostras foram preparadas gotejando suspensões de 1,0.10⁻⁵% (m/V) de NC-L em substratos de silício, seguido pela secagem em temperatura ambiente e recobrimento com platina.

3.2.6.3 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada

Para obter espectros na região do infravermelho das amostras secas de palha e das amostras de NC-L liofilizadas, foi utilizado o espectrofotômetro Vertex 70-

RAM II (Bruker Scientific Instruments, EUA), 32 varreduras por análise, com um intervalo de comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1} e resolução de 2 cm^{-1} .

3.2.6.4 - Termogravimetria

A estabilidade térmica das palhas e NC-Ls foi estudada utilizando um analisador termogravimétrico do modelo TGA-Q500 (TA Instruments, EUA). Para as análises, foi utilizado cerca 8 mg da amostra seca, fluxo de nitrogênio de 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, rampa de aquecimento com a taxa de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e temperatura final de 700 $^{\circ}\text{C}$. Com o auxílio do *software TA Universal Analysis 2000*, foram obtidos os valores de temperaturas inicial (T_{onset}) e máxima ($T_{\text{máx}}$) de decomposição térmica, e a quantidade de resíduo em 700 $^{\circ}\text{C}$ para cada amostra.

3.2.6.5 - Difração de raios-X

No difratômetro LabX XDR6000 (Shimadzu Co., Japão), obtiveram-se os padrões de difração de raios-X das amostras secas de palhas e NC-Ls. Operou-se utilizando a radiação $\text{Cu K}\alpha$, ($\lambda = 0,15418 \text{ nm}$), em 30 kV e 30 mA. As intensidades de difração foram detectadas na faixa de 5 $^{\circ}$ a 40 $^{\circ}$ (2θ), com uma taxa de varredura de 2 $^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$. O índice de cristalinidade relativo (IC) das amostras foi calculado pelo método de SEGAL et al. (1959) (Equação 18), em que I_{002} é a intensidade do pico próximo a 22,5 $^{\circ}$ do difratograma da celulose I, referente ao conjunto de planos cristalográficos 002, e I_{am} , a intensidade de difração em 2θ próximo a 18 $^{\circ}$, nas mesmas unidades que I_{002} , referente a contribuição da celulose amorfa.

$$\text{IC (\%)} = \frac{(I_{002} - I_{\text{am}})}{I_{002}} \cdot 100 \quad \text{Equação 18}$$

3.2.6.6 - Espalhamento de luz eletroforético

O potencial zeta das NC-Ls foi determinado pela técnica de espalhamento de luz eletroforético, utilizando o equipamento Zetasizer Nano ZS Malvern Instruments (modelo ZEN 3600, Estados Unidos) e suspensões 0,1% (m/V) de NC-L na presença 4 mM de cloreto de sódio (NaCl). As análises foram realizadas em triplicata e as suspensões foram sonicadas em banho de ultrassom por 5 min antes de cada medida. O tempo de estabilização foi de 120 s.

3.2.6.7 - Absorção de água

A interação da NC-L liofilizada com a água foi avaliada utilizando uma análise gravimétrica similar à realizada por ZHUANG et al. (2017). Para isso, três amostras com cerca de 20 mg de cada NC-L foram inicialmente condicionadas por 5 d em uma câmara climática a 25 °C e 50 ± 5% de umidade relativa (UR). Após este período, foi medida a massa inicial de cada sistema. Em seguida, as amostras foram transferidas para um dessecador contendo uma solução saturada de sulfato de cobre (CuSO₄.5H₂O), na qual a UR era de 90 ± 9%. Pesaram-se as amostras após 30 min, 1 h e 1, 2, 6 e 8 d nas condições de elevada UR. Com estes dados, foi possível calcular a porcentagem de umidade absorvida (U) pelas NC-Ls após os tempos determinados utilizando a Equação 19.

$$U (\text{mg}_{\text{água}}/\text{g}_{\text{NC-L}}) = \frac{(m_t - m_i)}{m_i} \cdot 1000 \quad \text{Equação 19}$$

Em que m_i é a massa inicial da NC-L quando condicionada a uma UR de 50 ± 5 %; e m_t é a massa da NC-L após o tempo t condicionada a uma UR de 90 ± 9 %. Vale ressaltar que a NC-L liofilizada não foi empacotada para realizar a análise.

3.2.6.8 - Microscopia de força atômica

Para obter imagens topográficas das NC-Ls utilizou-se o microscópio de força atômica MultiMode8 (Bruker™), em modo *Peak Force Tapping*®. Suspensões de 1,0.10⁻³, 1,0.10⁻⁴ e 1,0.10⁻⁵% (m/V) de cada amostra foram gotejadas em substratos de mica, seguido pela secagem em fluxo de nitrogênio. A varredura foi realizada com uma sonda SCANASYST-AIR (Bruker™), com constante de mola de 0,4 N/m e raio da ponta de 2,0 nm. As análises foram realizadas em UR de 10%, temperatura de 25 °C, e em regiões das amostras de dimensões 5 µm x 5 µm e 2 µm x 2 µm. Com o auxílio do software *Gwyddion*, foram medidos aleatoriamente os diâmetros de 100 nanoestruturas para cada amostra de NC-L, a fim de determinar a distribuição de diâmetro e o diâmetro médio destas.

3.2.6.9 - Nanoespectroscopia de infravermelho

As NC-Ls também foram analisadas por nanoespectroscopia de infravermelho, utilizando um microscópio de força atômica nanoIR2-s (Bruker™) no modo *tapping*. O preparo de amostras foi análogo ao realizado para o AFM, porém,

neste caso foi utilizado um substrato de silício recoberto com ouro. A varredura foi realizada com uma sonda PPP-FMAu-50 (Nanosensors™) com constante de mola de 0,5 - 9,5 N/m e raio da ponta de 50 nm.

CAPÍTULO 4

4 - Resultados e discussões

4.1 - Rendimento dos testes de branqueamento e composição parcial das palhas *in natura* e branqueadas

Como apresentado na seção 3.2.3, foram realizados seis testes de branqueamento na palha *in natura* segundo a Tabela 3.1, com a finalidade de compreender o quanto de lignina este tratamento poderia extrair do vegetal, e, assim, determinar o tempo e a quantidade de reagente apropriados para se obter palhas com diferentes teores de lignina. Os resultados (Tabela 4.1) mostraram que, com o aumento do tempo de reação e do número de adições de NaClO₂/HAc, maiores quantidades de extrativos e de lignina foram removidas da biomassa. E, como consequência, o rendimento em massa diminuiu.

TABELA 4.1 - Rendimento em massa (R) dos testes de branqueamento da palha *in natura* e composição parcial das palhas branqueadas.

Amostra / método ^a	Tempo de reação, t (h)	Nº de adições de NaClO ₂ e HAc ^b	R (%)	Teor (%)		
				Cinzas	Extrativos	Lignina insolúvel
PIN	-	-	-	6,19 ± 0,09	9,42 ± 0,09	16,6 ± 0,3
1	1	1	78	1,6	6,4	8,1
2	3	1	75	1,5	6,2	7,7
3	5	1	73	1,5	6,1	5,1
4 ^c	1	1	77	1,5	6,5	6,3
5	3	2	71	1,4	5,6	5,3
6	5	3	64	1,3	5,1	3,5

^a Suspensão com 10 g de palha em 200 mL de água destilada; ^b Cada adição equivale a 4 g de NaClO₂ e 1,25 mL de HAc, e estas foram realizadas em t = 0 h nos métodos 1, 2, 3 e 4, em t = 0 e 1 h no método 5 e em t = 0, 1 e 3 h no método 6; ^c Dobro de solução, portanto, adicionaram-se 8 g de NaClO₂ e 2,5 mL de HAc na suspensão de 10 g de palha em 400 mL de água destilada.

O método 4 foi escolhido como uma das condições de estudo (condição branda) por ter apresentado um bom rendimento e uma considerável remoção da lignina com apenas uma hora de reação e uma adição de NaClO₂ e ácido acético. A condição severa de branqueamento foi realizada com base no procedimento de determinação de holocelulose descrito por MORAIS et al. (2010). E esta foi

selecionada por possibilitar uma maior remoção de lignina da biomassa. Para esta condição, como já mencionado, foram realizadas três adições de reagentes iguais ao método 4, e foi utilizado um tempo de reação de 5 h.

4.2 - Rendimento dos branqueamentos em condição branda e severa e composição das palhas *in natura* e branqueadas

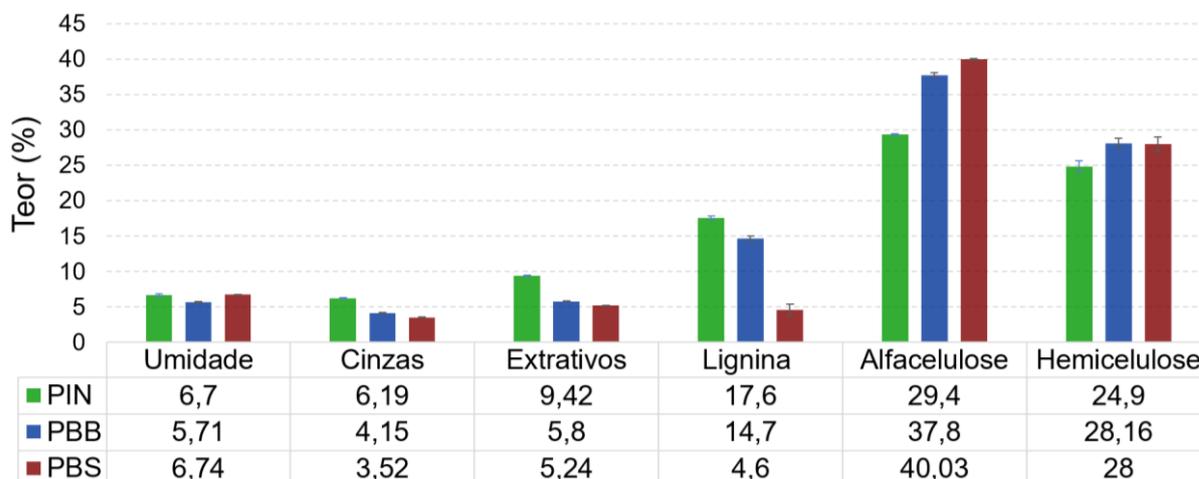
O rendimento em massa do branqueamento em condição branda ($77 \pm 2\%$) foi aproximadamente 10% maior que do branqueamento em condição severa ($66,7 \pm 0,8\%$), pois uma maior quantidade de reagente e um maior tempo de reação possibilitaram uma maior extração da lignina da biomassa.

A fim de facilitar a análise de resultados, a composição das biomassas foi apresentada na forma de tabela (Tabela 4.2) e de gráfico de barras (Figura 4.1).

TABELA 4.2 - Composição da palha *in natura* segundo COSTA et al. (2015) (PIN*), da palha *in natura* (PIN) em estudo e das palhas branqueadas em condição branda (PBB) e severa (PBS).

Teor (%)	Biomassa			
	PIN*	PIN	PBB	PBS
Umidade	-	$6,7 \pm 0,2$	$5,71 \pm 0,09$	$6,74 \pm 0,03$
Cinzas	2,4 – 7,8	$6,19 \pm 0,09$	$4,15 \pm 0,09$	$3,52 \pm 0,04$
Extrativos	2,5 – 10,6	$9,42 \pm 0,09$	$5,80 \pm 0,07$	$5,24 \pm 0,02$
Lignina insolúvel	-	$16,6 \pm 0,3$	$11,7 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,5$
Lignina solúvel	-	$1,04 \pm 0,01$	$3,04 \pm 0,08$	$3,0 \pm 0,3$
Lignina total	12,0 – 36,1	$17,6 \pm 0,3$	$14,7 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,8$
Alfacelulose	32,4 – 44,4	$29,4 \pm 0,1$	$37,8 \pm 0,3$	$40,08 \pm 0,09$
Hemicelulose	24,2 – 30,8	$24,9 \pm 0,8$	$28,16 \pm 0,09$	28 ± 1
Holocelulose	-	$54,3 \pm 0,7$	$65,9 \pm 0,2$	$68,0 \pm 0,9$
Total	-	$94,3 \pm 0,9$	$96,4 \pm 0,8$	88 ± 1

FIGURA 4.1 - Composição das palhas *in natura* e branqueadas em condições branda (PBB) e severa (PBS).



Com a análise de composição da palha *in natura*, os teores de cinzas, extrativos, lignina e de hemicelulose observados foram condizentes com o esperado (Tabela 4.2). O teor de alfacelulose, porém, foi ligeiramente menor e isso pode ocorrer pois a composição da palha depende “do local de coleta do material, das condições climáticas, do estágio de desenvolvimento da planta e da variedade” (COSTA et al., 2015). Como consequência, a literatura reporta uma grande variação na composição química da palha. Além disso, a palha é composta por diferentes frações da cana-de-açúcar. A palha que contém uma maior quantidade de folhas secas, por exemplo, apresenta um maior teor de cinzas, um menor teor de lignina e um menor teor de umidade, como no caso da palha em estudo (COSTA et al., 2015; NETTO, 2018).

Com os branqueamentos nas condições branda e severa, não foi observada uma variação significativa na umidade das biomassas, porém ocorreu a redução nos teores de cinzas, extrativos e lignina (figura 4.1).

A areia é uma das principais impurezas encontradas na palha, devido ao método de colheita da cana. Por esta razão, o principal componente encontrado nas cinzas da palha é o silício proveniente do dióxido de silício (COSTA et al., 2015). A redução do teor de cinzas com o branqueamento ocorreu, possivelmente, devido à remoção das partículas de solo que estavam aderidas à superfície da palha *in natura*.

Os extrativos, como já mencionado, são componentes “não estruturais, de baixos ou médios pesos moleculares, extraíveis em água e/ou solventes orgânicos neutros” (COLODETTE e GOMES, 2015). No branqueamento, o ClO_2 é capaz de reagir com esteróis e ácidos graxos insaturados presentes nos extrativos. Por esta

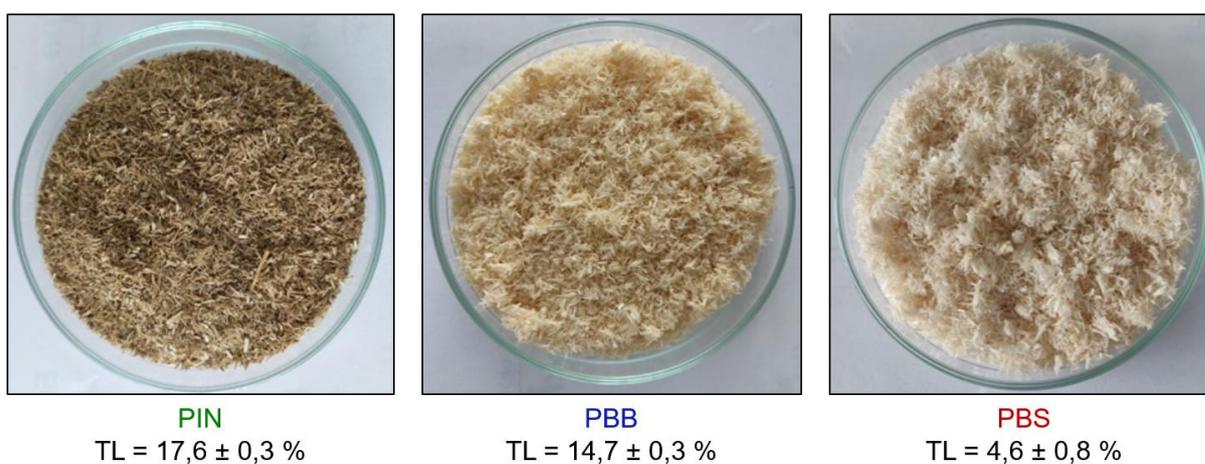
razão, foi observada a redução de 38% do teor deste componente para a PBB e de 44% para a PBS.

No processo de branqueamento, como já citado, o ClO_2 degrada seletivamente a lignina através de reações de oxidação. O aumento da severidade do tratamento resultou em uma maior remoção da lignina. Foi observada uma redução de 16,5% no teor de lignina total para PBB e de 74% para PBS. O elevado teor de lignina solúvel determinado para PBB e PBS (cerca de 3%) pode ser justificado pela presença de lignina que precipitou e depositou na biomassa durante o processo de branqueamento, assim como observado por BONDANCIA (2020). A remoção da lignina também pode ser evidenciada pela mudança na coloração da palha de marrom (PIN) para bege escuro (PBB) e bege claro (PBS) (Figura 4.2).

Como consequência da remoção das cinzas, dos extrativos e da lignina, foram observados um aumento no teor de alfacelulose de 28% para a PBB e de 36% para PBS e um aumento do teor de hemicelulose de 13% para PBB e de 12% para PBS. Como se almeja compreender o efeito da lignina residual nas propriedades da NC-L, é importante manter o teor de hemicelulose das biomassas constante (TARRÉS et al., 2017). E foi possível obter, com o branqueamento, biomassas com teores de hemicelulose próximos.

Por fim, com a análise com composição, pode-se afirmar que foi possível obter três tipos de palhas com diferentes teores de lignina (Figura 4.2).

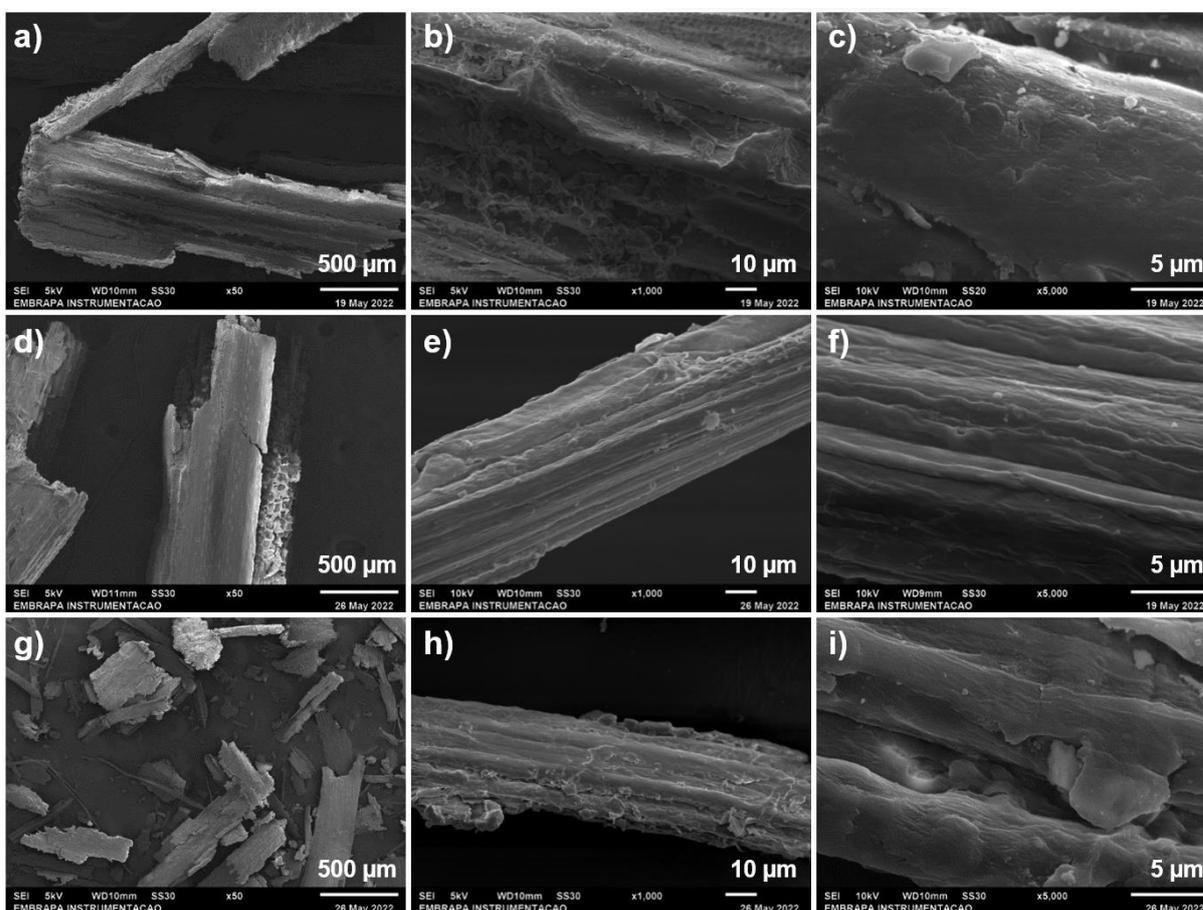
FIGURA 4.2 - Palhas *in natura* (PIN) e branqueadas (PBB e PBS) e seus respectivos teores de lignina total (TL).



4.3 - Morfologia das palhas *in natura* e branqueadas

A MEV evidenciou mudanças na morfologia das palhas com o branqueamento (Figura 4.3). Comparando as Figuras 4.3a e 4.3g, observa-se uma redução do tamanho das fibras do vegetal com o aumento da severidade do tratamento. Isso ocorreu devido à extração parcial de componentes da biomassa, como a lignina, responsável por unir as fibras de celulose e a hemicelulose, e assim, conferir resistência à estrutura vegetal. Comparando as imagens das biomassas em uma maior magnificação (Figuras 4.3c, 4.3f e 4.3i), foi observada uma desconstrução parcial da estrutura do vegetal e, conseqüentemente, um possível aumento na área superficial específica. Assim como apresentado por BILATTO et al. (2020), enquanto a PIN apresentou uma superfície compacta e uniforme, a PBB e a PBS apresentaram superfícies menos uniformes, com a exposição, em partes da amostra, das fibras de celulose.

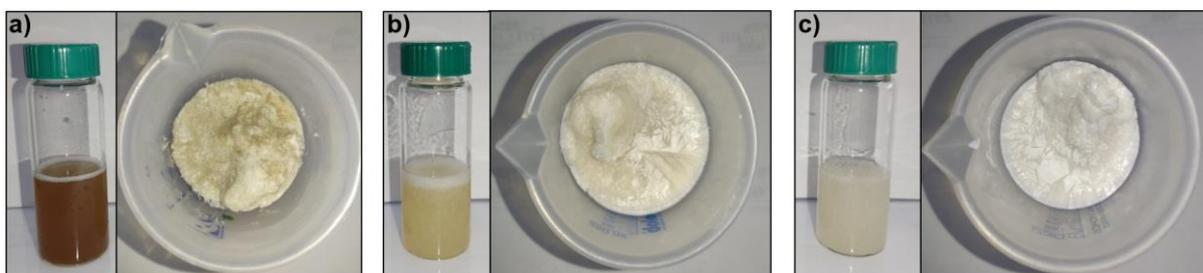
FIGURA 4.3 - Micrografias eletrônicas de varredura das palhas *in natura* (a, b, c), branqueada em condição branda (d, e, f) e em condição severa (g, h, i) nas magnificações x50, x1.000 e x5.000.



4.4 - Rendimento da obtenção das NC-Ls

As NC-Ls, em suspensão e liofilizadas, resultantes da hidrólise ácida das palhas *in natura* e branqueadas, estão apresentadas na Figura 4.4. Foi observada a diferença de cor entre as amostras possivelmente devido à presença da lignina residual. Enquanto a NC-L_{PIN}, que contém maior teor de lignina, apresentou uma coloração marrom, a NC-L_{PBS}, que contém menos lignina, apresentou uma coloração bege claro.

FIGURA 4.4 - NC-L_{PIN} (a), NC-L_{PBB} (b) e NC-L_{PBS} (c) em suspensão e liofilizadas.

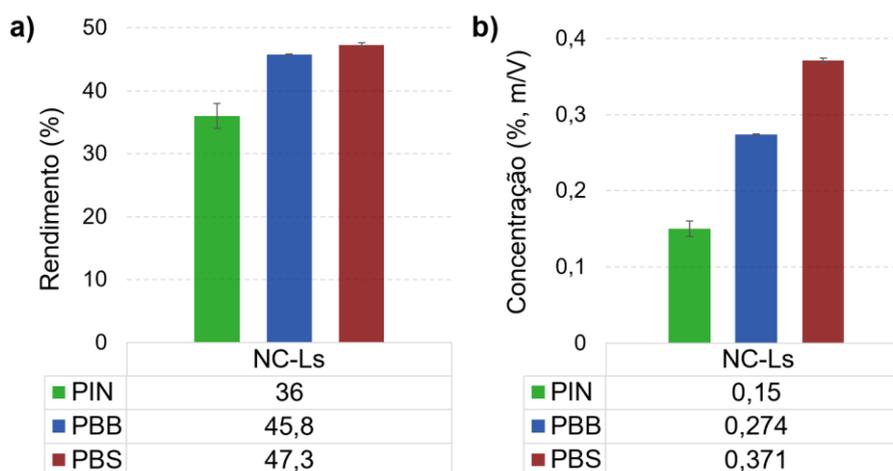


Os rendimentos mássicos obtidos para a produção das NC-Ls foram $36 \pm 2\%$ para NC-L_{PIN}, $45,8 \pm 0,1\%$ para NC-L_{PBB} e $47,3 \pm 0,4\%$ para NC-L_{PBS} (Figura 4.5). Estes foram condizentes com os rendimentos reportados por BILATTO et al. (2020) (40 - 64%), porém maiores do que o reportado por LU et al. (2021) (21,8%) para esta mesma biomassa e pelo mesmo método de extração. Comparando o rendimento de hidrólise e a composição das biomassas (Figura 4.1), foram observados rendimentos maiores que os respectivos teores de alfacelulose para as três NC-Ls produzidas. Este é um indicativo da presença de componentes residuais, como a lignina e a hemicelulose. O maior rendimento de hidrólise foi observado para a NC-L_{PBS}, a qual foi isolada de uma biomassa mais pura em termos do teor de celulose, assim como reportado por AGARWAL et al. (2018). Além disso, notou-se que os rendimentos de produção da NC-L_{PBB} e da NC-L_{PBS} foram próximos, mesmo tendo as condições de branqueamento (tempo e quantidade de reagentes) sido bastante distintas.

As concentrações das suspensões de NC-L variaram de 0,15 a 0,37% (m/V) ($0,15 \pm 0,01\%$ para NC-L_{PIN}, $0,274 \pm 0,001\%$ para NC-L_{PBB}, e $0,371 \pm 0,003\%$ para NC-L_{PBS}) sendo que a NC-L_{PBB} e a NC-L_{PBS} resultaram em suspensões com aspecto de gel. Este é um indicativo da formação de nanofibras de celulose, pois estas formam géis em baixas concentrações. Suspensões de nanocristais de celulose

formam géis em concentrações maiores, próximas a 10 – 14% (m/V) (FOSTER et al., 2018). Por fim, não foi possível correlacionar a concentração das suspensões com o teor de alfacelulose presente na biomassa, pois o volume final de água utilizado para colocar as NC-Ls na diálise foi diferente para cada sistema.

FIGURA 4.5 - Rendimento mássico (%) de hidrólise e concentração das suspensões de NC-L (% m/V).



Foi calculado, também, o rendimento total da produção das NC-Ls, incluindo as etapas de moagem, branqueamento e hidrólise ácida. Os rendimentos obtidos foram de 23 ± 1 % para NC-L_{PIN}, $22 \pm 0,5$ % para NC-L_{PBB} e $18,8 \pm 0,3$ % para NC-L_{PBS}. Os rendimentos observados foram próximos, e a produção da NC-L_{PIN} apresentou um rendimento ligeiramente maior, devido a menor quantidade de processos envolvidos. Porém, é importante ressaltar que os custos de produção e as propriedades das NC-Ls são diferentes, devido ao número de etapas do processo e aos diferentes teores de lignina residual, respectivamente. As propriedades finais de cada NC-L, que estão sendo discutidas neste trabalho, serão determinantes para sua aplicação. Deste modo, pode-se afirmar que, seguindo a metodologia descrita neste trabalho, a partir de 1 tonelada de palha de cana-de-açúcar, é possível produzir 230 kg de NC-L_{PIN}, ou 220 kg de NC-L_{PBB} ou ainda 188 kg de NC-L_{PBS}. A Tabela 4.3 resume as etapas do processo de obtenção das NC-Ls e indica os respectivos rendimentos.

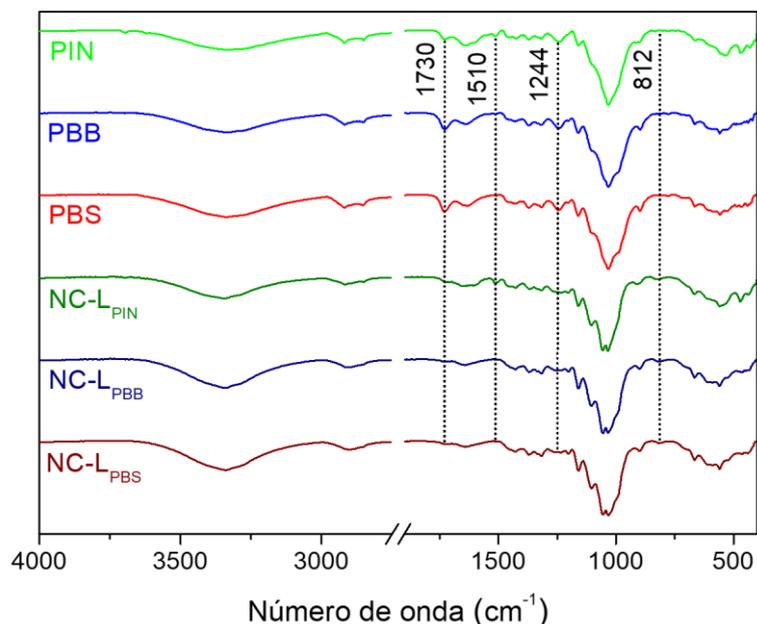
TABELA 4.3 - Rendimentos das etapas de obtenção das NC-Ls.

	Rendimento (%)				
	1ª moagem	2ª moagem	Branqueamento	Hidrólise ácida	Total
NC-L _{PIN}			-	36 ± 2	23 ± 1
NC-L _{PBB}	82	76,3 ± 0,4	77 ± 2	45,8 ± 0,1	22,1 ± 0,5
NC-L _{PBS}			66,7 ± 0,8	47,3 ± 0,4	18,8 ± 0,3

4.5 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada

Os espectros na região do infravermelho (Figura 4.6) evidenciam bandas características da celulose, hemicelulose e lignina nas três amostras de palha e de NC-Ls. A Tabela 4.4 apresenta os números de ondas das bandas vibracionais observadas e as possíveis atribuições às ligações químicas/grupos funcionais presentes nas amostras, com base nos trabalhos de BILATTO et al. (2020) e NASCIMENTO et al. (2016).

FIGURA 4.6 - Espectros na região de infravermelho das amostras de PIN, PBB, PBS, NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS} nos intervalos de número de onda de 4000 a 400 cm⁻¹.



Os espectros indicam que o branqueamento levou à redução da intensidade da banda em 1510 cm⁻¹, característica da lignina, e ao aumento da intensidade da banda em 1730 cm⁻¹, característica da hemicelulose. Isso sugere a remoção parcial da lignina e o aumento do teor de hemicelulose, como evidenciado pela análise de composição (conforme seção 4.2).

Os espectros das NC-Ls mostram a redução da intensidade de duas bandas características da hemicelulose (1730 e 1244 cm^{-1}) após o processo de hidrólise ácida. Isso ocorreu devido ao fato de a hemicelulose ser mais susceptível à hidrólise quando comparada à porção cristalina da celulose (NASCIMENTO et al., 2016). Também foi observada a redução da intensidade da banda em 1510 cm^{-1} , característica da lignina, nos espectros de NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}, as quais foram obtidas a partir de biomassas com menor teor de lignina, segundo análise de composição (seção 4.2). Por fim, o aparecimento de uma banda em 812 cm^{-1} , característica da vibração do grupo éster sulfato, evidenciou a modificação superficial das NC-Ls produzidas via hidrólise com ácido sulfúrico.

TABELA 4.4 - Bandas vibracionais de ligações químicas características da celulose, hemicelulose e lignina com seus respectivos comprimentos de onda (cm^{-1}).

Amostras PIN, PBB e PBS	Amostras NC-L _{PIN} , NC-L _{PBB} e NC-L _{PBS}		
Número de onda (cm^{-1})	Número de onda (cm^{-1})	Origem	Atribuição
3337	3344	Deformação axial de O-H	Celulose Hemicelulose
2851	2851	Deformação axial de C-H (metóxi)	Lignina
1730	1726	Deformação axial de C=O (éster)	Hemicelulose
1637	1639	Deformação axial de C=O	Lignina
1607/1510/1454	1607/1512/1450	Vibrações C-C (anel aromático)	Lignina
1454	1454	Vibração C-C (anel aromático) e deformação angular assimétrica de -CH ₃ e -CH ₂ -	Lignina Celulose Hemicelulose
1429	1429	Deformação angular de C-H (CH ₂)	Celulose Lignina Lignina
1371	1369	Deformação angular de C-H	Celulose Hemicelulose
1317	1317	Deformação tipo <i>wagging</i> de CH ₂	Celulose
1244	1234	Deformação axial de C-O (grupos acetil)	Hemicelulose
1161	1159	Deformação axial de C-O-C (ligações glicosídicas)	Celulose Hemicelulose
1032	1032	Vibrações de CH-O-CH (anel glicosídico)	Celulose Hemicelulose
-	812	Vibrações do grupo éster sulfato	Celulose

4.6 - Análise térmica

A termogravimetria determinou as curvas de perda de massa em função da temperatura (Figura 4.7a) e a sua primeira derivada (DTG, Figura 4.7b) para as amostras de palhas e NC-Ls. Com isso, foram determinadas as perdas de massa (Δm , %), as temperaturas iniciais (T_{onset}) e máximas ($T_{\text{máx}}$) de decomposição térmica, e o resíduo em 700 °C (R_s , %) (Tabela 4.5).

Para as amostras de palhas, foram observados quatro eventos de decomposição térmica, e para as NC-L, foram observados três (Figura 4.7a). Enquanto o primeiro evento térmico ocorreu isoladamente para todas as amostras, os outros se sobrepuseram, isto é, ocorreram em faixas de temperatura próximas. O primeiro evento está relacionado à perda de água química ou fisicamente ligada à amostra. As amostras com maior teor de lignina apresentaram um menor teor de umidade (Δm , Tabela 4.5), devido à sua natureza menos hidrofílica.

A PIN apresentou uma curva termogravimétrica com T_{onset} e $T_{\text{máx}}$ condizentes com os reportados por BILATTO et al. (2020) (PIN*, Tabela 4.5). O segundo, terceiro e quarto eventos térmicos observados para PIN ocorreram devido à decomposição da hemicelulose, da celulose e da lignina. Entre os três componentes, a lignina apresenta uma maior estabilidade térmica, devido à presença de anéis aromáticos e ligações duplas entre carbonos em sua estrutura. Por este motivo, quando presente na amostra, a lignina protege a celulose da decomposição (BILATTO et al., 2020). Os mesmos eventos térmicos de PIN foram observados para PBB e PBS, porém, devido à remoção parcial da lignina através do branqueamento, menores valores de T_{onset} e $T_{\text{máx}}$ foram observados (Tabela 4.5).

Com o processo de hidrólise com ácido sulfúrico para produção das NC-Ls, observou-se uma redução da estabilidade térmica das amostras (menores valores de T_{onset} e $T_{\text{máx}}$ para as NC-Ls, quando comparado com as palhas). Isso ocorre, pois, no processo de hidrólise, parte dos grupos hidroxila da celulose são substituídos por grupos ésteres sulfatos, os quais apresentam uma energia de ativação para decomposição térmica menor (NASCIMENTO et al., 2016). Além disso, comparando os valores de T_{onset} e $T_{\text{máx}}$ das NC-Ls, foi observada uma maior estabilidade térmica na NC-L_{PIN}, que contém um maior teor de lignina residual. Os valores T_{onset} para as NC-Ls obtidas neste trabalho foram superiores ao reportado por BILATTO et al. (2020) (NCC-L*, Tabela 4.5), o que pode ter ocorrido devido à presença de uma maior quantidade de lignina residual, da possível presença de hemicelulose residual, e/ou

de uma menor substituição dos grupos hidroxilas da superfície das NC-Ls pelos grupos éster sulfato.

Figura 4.7 - Perfis termogravimétricos das amostras PIN, PBB, PBS, NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}: Curva termogravimétrica (percentual de massa em função da temperatura) (a) e sua primeira derivada (DTG) (b).

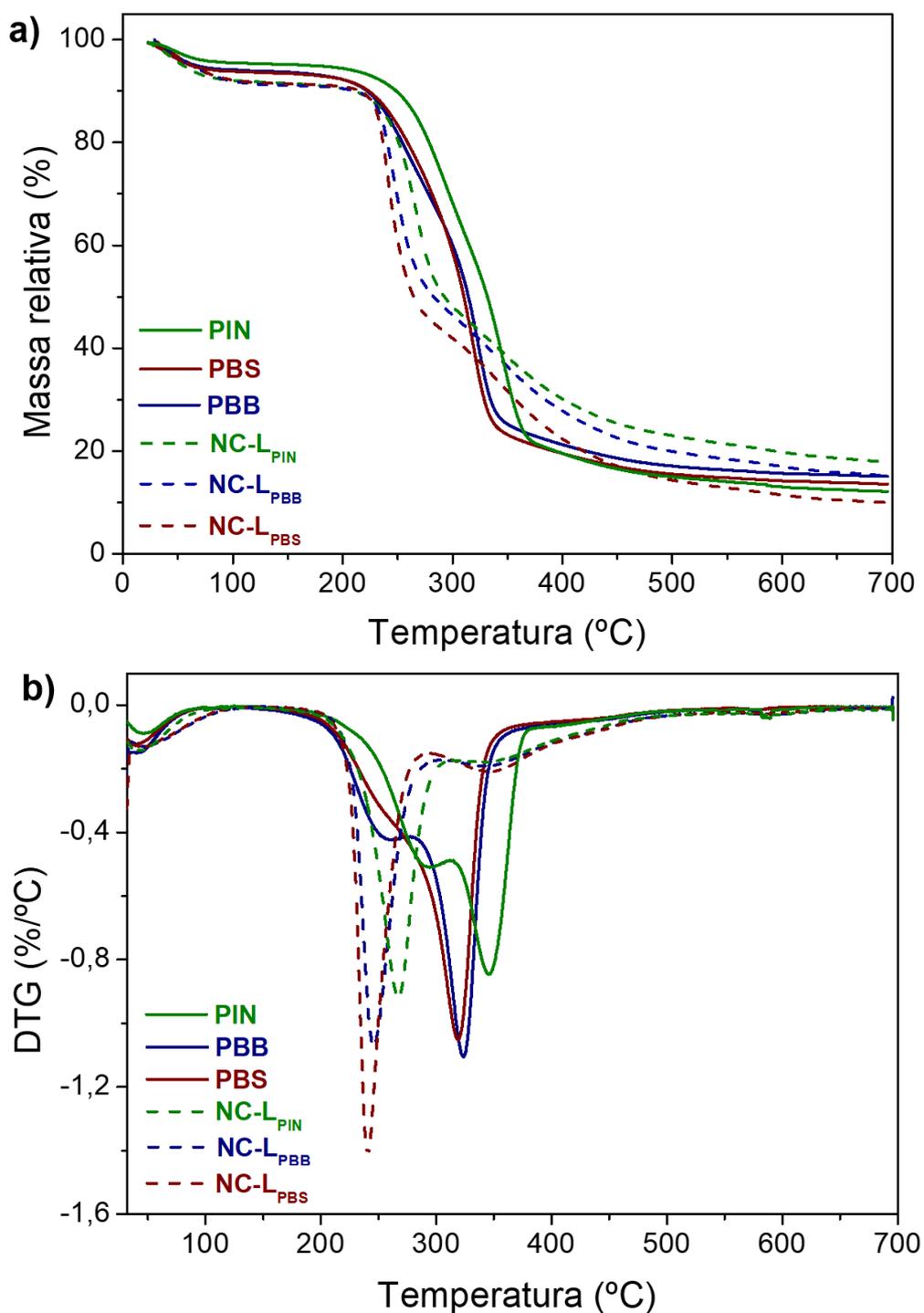


TABELA 4.5 - Eventos de decomposição térmica observados para as amostras PIN* e NCC-L*, segundo BILATTO et al. (2020), PIN, PBB, PBS, NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}, e as respectivas perdas de massa (Δm , %), temperaturas de decomposição iniciais (T_{onset}), máximas ($T_{m\acute{a}x}$) e os resíduos em 700 °C (R_s , %). **Para as amostras PIN* e NCC-L*, os resíduos foram determinados em 600 °C.

Amostra	1° evento		2° evento			3° evento	4° evento	R_s (%)
	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Δm (%)	T_{onset} (°C)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Δm (%)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	
PIN	46,2	3,6	253,6	294,5	25,0	345,5	396,4	21,0
PBB	40,9	5,8	223,6	260,4	19,6	323,7	393,5	15,1
PBS	40,2	5,0	232,4	~251,2	-	319,1	393,0	22,3
PIN*			270,1	-	-	340,4	-	20**

Amostra	1° evento		2° evento			3° evento		R_s (%)		
	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Δm (%)	T_{onset} (°C)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Δm (%)	$T_{m\acute{a}x}$ (°C)	Δm (%)			
NC-L_{PIN}	43,8	6,9	243,2			267,1	34,0	342,6	21,6	26,2
NC-L_{PBB}	46,3	7,5	232,1			245,7	36,7	342,9	24,2	23,8
NC-L_{PBS}	47,0	7,1	230,3			240,7	39,1	347,3	26,5	19,0
NCC-L*	-	-	147,1			212,1	-	-	-	28,5 **

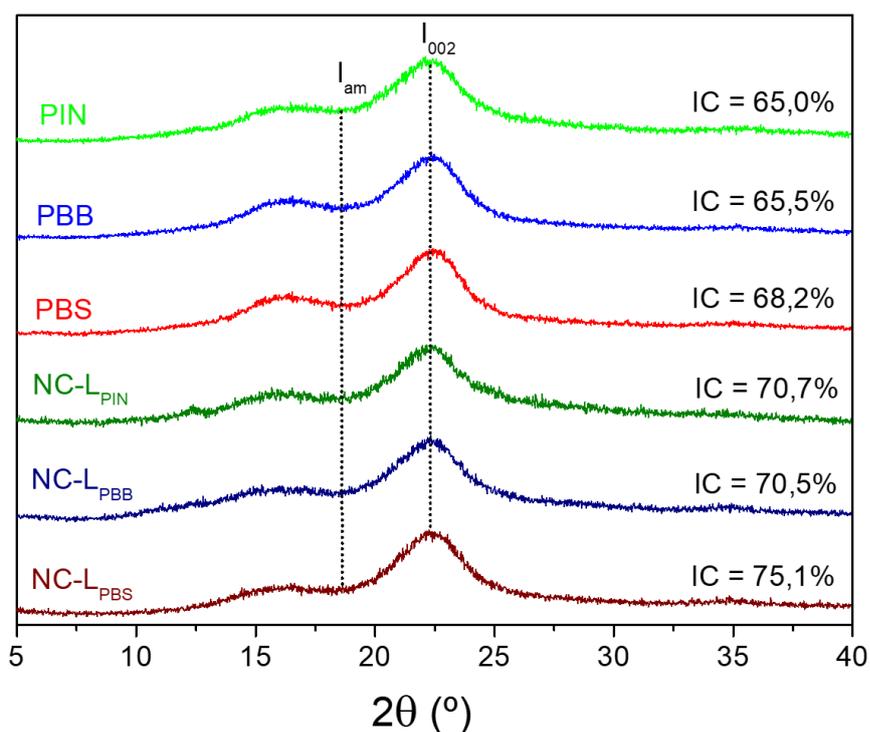
O teor de resíduo observado em 700 °C para as amostras de palha e NC-Ls foram condizentes com os reportados por LU et al. (2021). Durante a análise, com o aquecimento da amostra sob a atmosfera de N₂, a lignina residual é transformada em um material carbonáceo, e por este motivo as amostras com maior teor de lignina apresentaram um maior valor de R (Tabela 4.5) (BILATTO et al., 2020; CANEVAROLO, 2004).

4.7 - Índice de cristalinidade

Os difratogramas obtidos para as amostras de palha e NC-L apresentaram um padrão típico de materiais celulósicos semicristalinos (Figura 4.8). Foram observados picos característicos da celulose I, com ângulos de difração (2θ)

próximos a $16,2^\circ$, $22,3^\circ$ e $35,0^\circ$, referentes aos planos $(10\bar{1})$ e (101) sobrepostos, (002) e (040) , respectivamente (FOSTER et al., 2018). A celulose I consiste em uma mistura das celulosas cristalinas I_α e I_β , sendo a forma I_β predominante em plantas (PARK et al., 2010). Tanto o branqueamento quanto a hidrólise ácida não modificaram a estrutura cristalina da celulose, pois não foram observados picos com intensidade significativa característicos da celulose II ou III, outros polimorfos da celulose (FRENCH, 2014). As amostras NC-L_{PIN} e NC-L_{PBB} apresentaram um pico em $12,3^\circ$, característico tanto da celulose II como III, porém, devido à sua baixa intensidade, o resultado não foi conclusivo.

FIGURA 4.8 - Padrões de DRX e índice de cristalinidade relativo (IC, %) das amostras PIN, PBB, PBS, NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}. Difratogramas normalizados em relação ao pico de maior intensidade em $22,3^\circ$. Eixo Y: intensidade (unidade arbitrária).



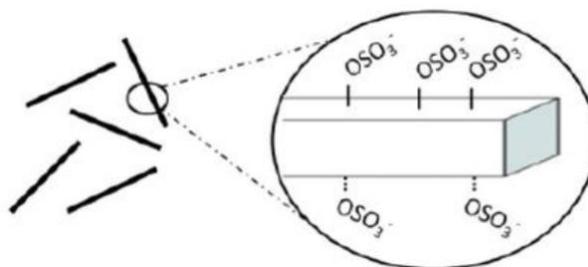
O IC determinado pelo método de SEGAL et al. (1959) para a PIN (65,0%, Figura 4.8) foi condizente com o calculado por BILATTO et al. (2020) (65,6%). Com o branqueamento e consequente remoção da lignina, foi observado um pequeno aumento no IC das palhas (aumento de 0,5% para PBB e de 3,2% para PBS), como citado por AKPAN et al. (2021). Maiores valores de IC foram determinados para as NC-Ls quando comparado às palhas (Figura 4.8). Isso ocorreu como consequência da remoção, em partes, da porção amorfa da celulose, da lignina e da hemicelulose

durante a extração das NC-Ls, como reportado por BONDANCIA (2020) e NASCIMENTO et al (2016). O valor de IC da amostra NC-L_{PBS}, que contém menor teor de lignina residual, foi próximo ao apresentado por BILATTO et al. (2020) (78,2%) para NCC-L produzidos a partir de palha de cana via hidrólise com ácido sulfúrico. Por fim, a presença da lignina residual contribuiu para a redução do IC da NC-L, assim como observado para as NFC-L produzidas por WEN et al. (2019).

4.8 - Potencial zeta das suspensões de NC-L

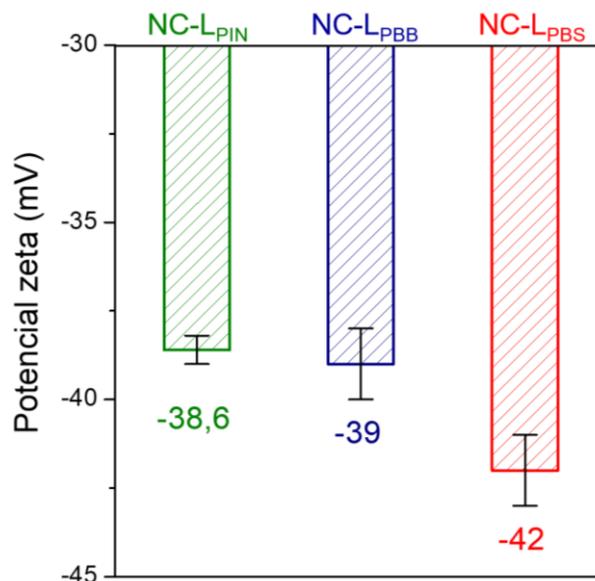
Como já mencionado, a NC extraída via hidrólise ácida com ácido sulfúrico possui, em sua superfície, grupamentos ésteres sulfato, os quais, no pH em estudo (pH próximo a 5), estão desprotonados e apresentam carga negativa (Figura 4.9). A estabilidade coloidal das NC-Ls resulta da repulsão eletrostática devido à presença destas cargas na superfície da nanoestrutura (TROVAGUNTA et al, 2021). Segundo FOSTER et al. (2018), os valores comuns de potencial zeta para suspensões estáveis de NCCs estão na faixa de -20 a -50 mV e para as NFCs, o potencial zeta pode chegar a -60 mV. O potencial zeta também está diretamente relacionado com a densidade superficial de carga da nanoestrutura. Já foi evidenciado que a presença da lignina na biomassa dificulta o processo de hidrólise ácida da celulose, resultando em um NC-L com menor densidade de carga superficial (BIAN et al., 2017). Deste modo, como reportado por WEN et al. (2019), foi observada uma tendência de redução da estabilidade coloidal da NC-L (menores valores em módulo do potencial zeta) com o aumento do teor de lignina residual (Figura 4.10). Além disso, as três NC-Ls apresentaram potenciais zeta menores que -20 mV (em valor absoluto), ou seja, formaram suspensões estáveis em meio aquoso.

FIGURA 4.9 - Representação esquemática dos grupamentos ésteres sulfato desprotonados na superfície da nanocelulose.



Fonte: GARS et al., 2019.

FIGURA 4.10 - Valores de potencial zeta das suspensões de NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS} na concentração de 0,1% (m/V) e contendo 4 mM de NaCl.



4.9 - Interação NC-L/água

Com as análises gravimétricas realizadas, foi possível determinar a quantidade de água absorvida pelas amostras de NC-L em função do tempo (Figura 4.11 e Tabela 4.6). A água, quando absorvida, interage com as cadeias de celulose e a hemicelulose através de ligações de hidrogênio. A lignina residual, quando presente na NC, impede que hidroxilas livres da celulose interajam com a água, reduzindo a quantidade de água absorvida. Por este motivo, NC-L costuma ser menos hidrofílica quando comparada com à NC pura (BIAN et al., 2017; TROVAGUNTA et al., 2021).

Foi observado que a NC-L_{PIN}, que contém um maior teor de lignina residual, absorveu menos água nas primeiras 24 h do experimento, evidenciando uma natureza menos hidrofílica (Figura 4.11). Entretanto, depois de 48 h de experimento, as três NC-Ls absorveram quantidade de água próximas, que não podem ser diferenciadas estatisticamente, evidenciando uma importante componente cinética.

Além da lignina residual, existem outros dois fatores que influenciam na quantidade de água absorvida pelas NC-Ls: a área superficial das NC-Ls liofilizadas, e a possível presença de hemicelulose residual. Amostras de NC-L mais empacotadas apresentam uma área de contato menor com o ar, e conseqüentemente, apresentarão uma absorção de água mais lenta. E, por fim, a hemicelulose residual pode contribuir para o aumento da quantidade de água absorvida, por apresentar hidroxilas livres para interação com as moléculas de água (TROVAGUNTA et al., 2021).

FIGURA 4.11 - Curvas da umidade absorvida ($\text{mg}_{\text{água}}/\text{g}_{\text{NC-L}}$) em função do tempo (h) para as amostras NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS} liofilizadas.

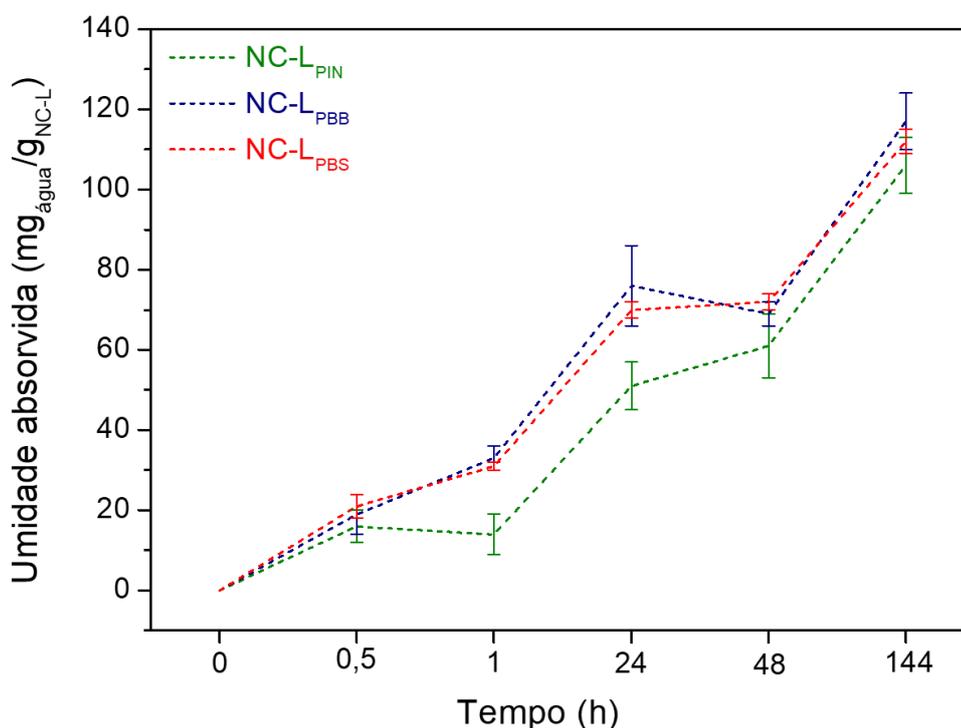


TABELA 4.6 - Umidade absorvida ($\text{mg}_{\text{água}}/\text{g}_{\text{NC-L}}$) pelas amostras NC-L_{PIN}, NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}, nos respectivos tempos (h).

Tempo (h)	Umidade absorvida ($\text{mg}_{\text{água}}/\text{g}_{\text{NC-L}}$)		
	NCC-L _{PIN}	NCC-L _{PBB}	NCC-L _{PBS}
0	0	0	0
0,5	16 ± 4	19 ± 5	21 ± 3
1	14 ± 5	33 ± 3	31 ± 1
24	51 ± 6	80 ± 10	70 ± 2
48	61 ± 8	69 ± 3	72 ± 2
144	106 ± 7	117 ± 7	112 ± 3

4.10 - Morfologia das NC-Ls

A análise por MEV-FEG teve como objetivo avaliar a homogeneidade das suspensões de NC-L e observar se havia particulados de biomassa não hidrolisados. Com as imagens obtidas para as três amostras de NC-L, foi possível observar aglomerados de NFCs (Figura 4.12c, 4.12d, 4.13d, 4.14c e 4.14d) e partículas (menores que $1 \mu\text{m}$) próximas ao limite entre a amostra e o substrato de silício, as quais podem ser NCCs ou nanopartículas de lignina (Figuras 4.12b, 4.13b e 4.14b). Por fim, como a maioria das partículas observadas apresentaram tamanhos

menores do que $10\ \mu\text{m}$ (Figuras 4.12a, 4.13a e 4.14a), pode-se afirmar que as suspensões de NC-L eram majoritariamente compostas por nanoestruturas que remanesceram no sistema após a hidrólise ácida da palha.

FIGURA 4.12 - Micrografias eletrônicas de varredura com emissão por campo (MEV-FEG) da NC-L_{PIN} nas magnificações 250x, 1000x, 30.000x e 50.000x.

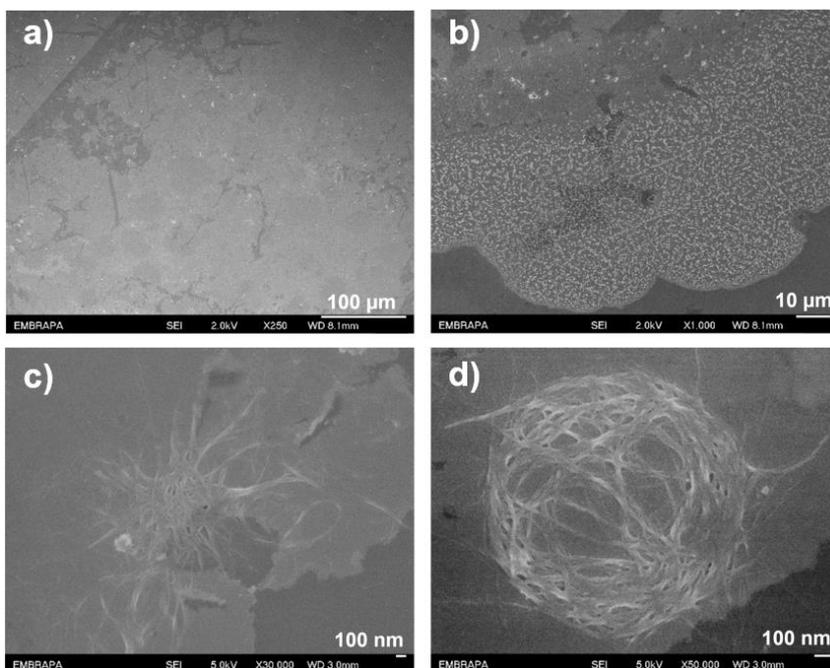


FIGURA 4.13 - Micrografias eletrônicas de varredura com emissão por campo (MEV-FEG) da NC-L_{PBB} nas magnificações 250x, 2000x, 10.000x e 30.000x.

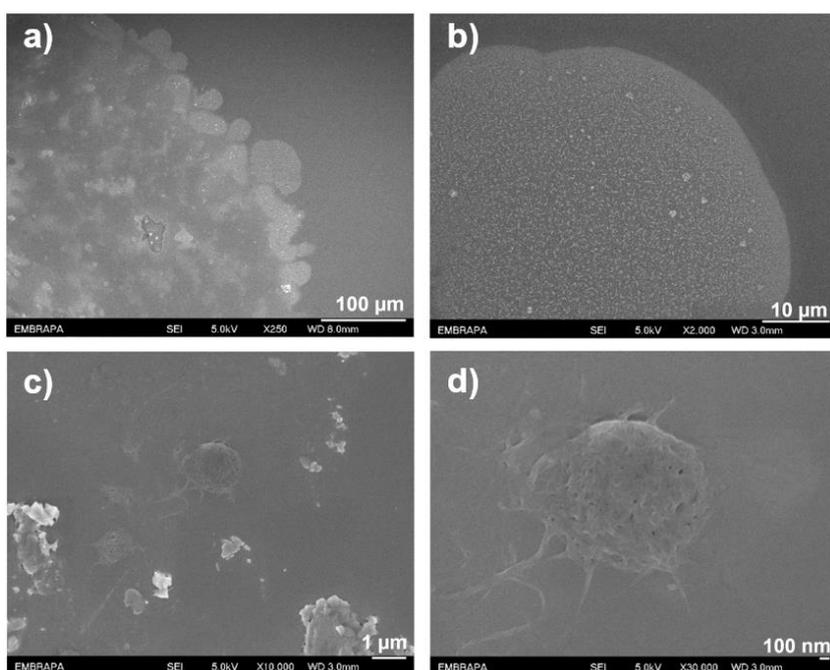
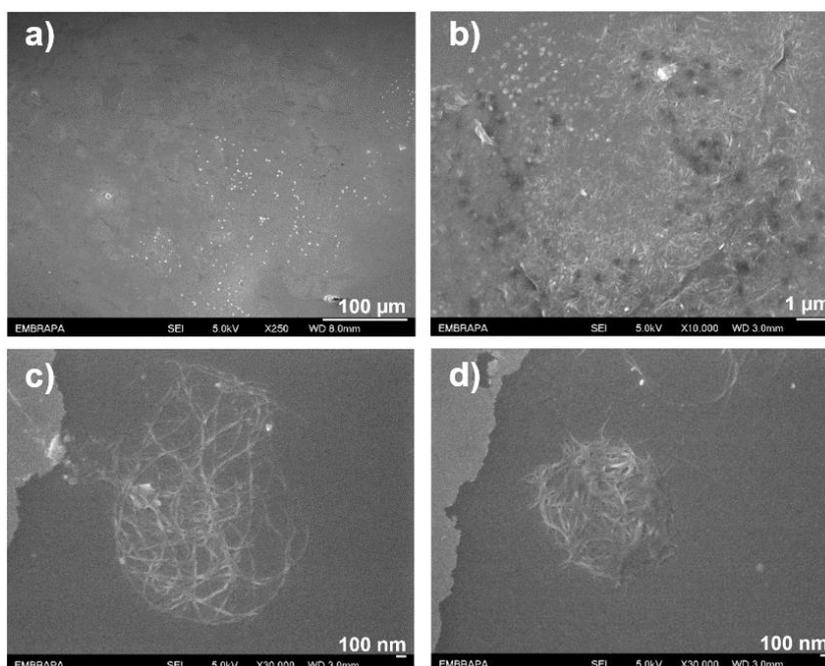


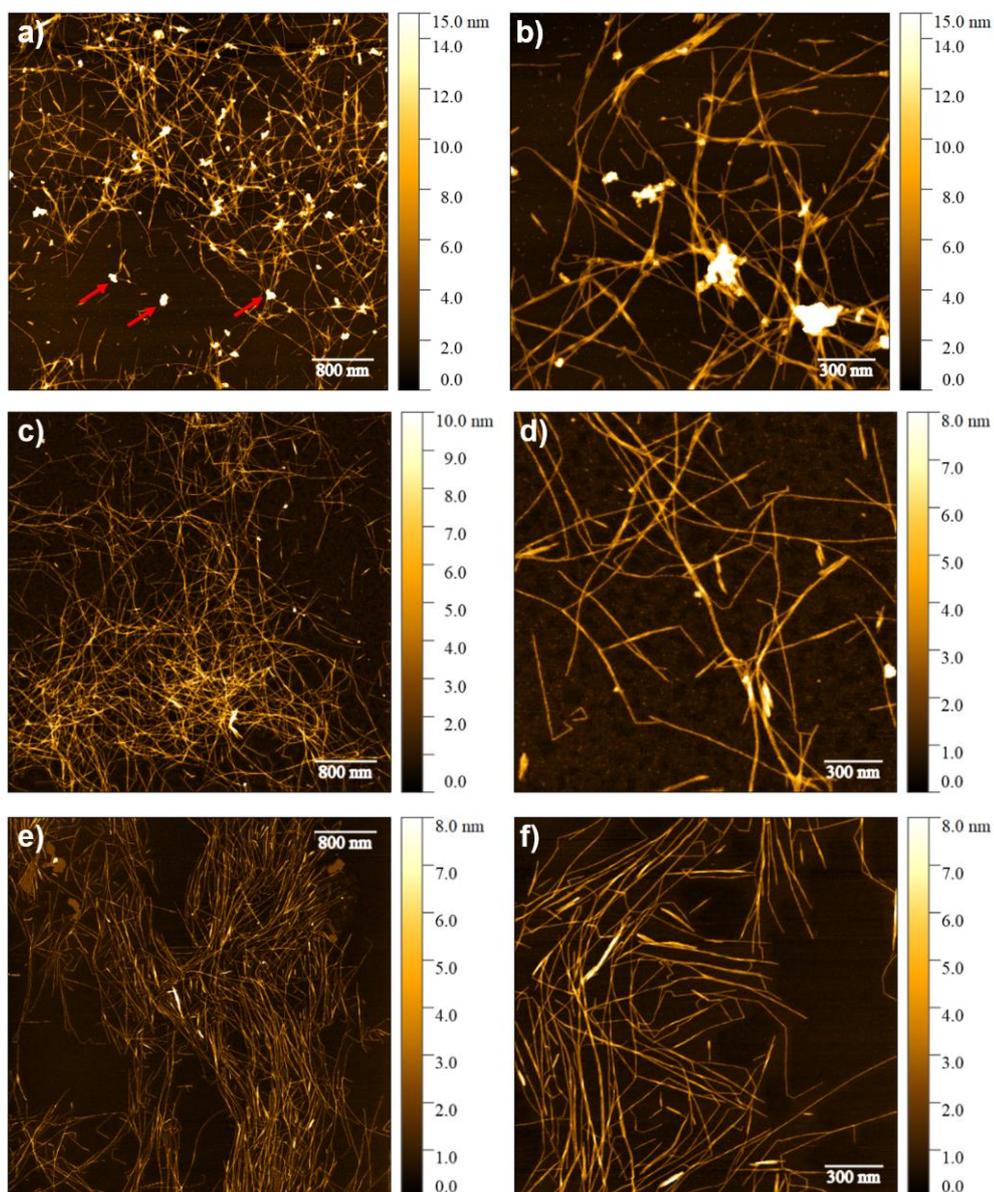
FIGURA 4.14 - Micrografias eletrônicas de varredura com emissão por campo (MEV-FEG) da NC-L_{PBS} nas magnificações 250x, 10.000x e 30.000x.



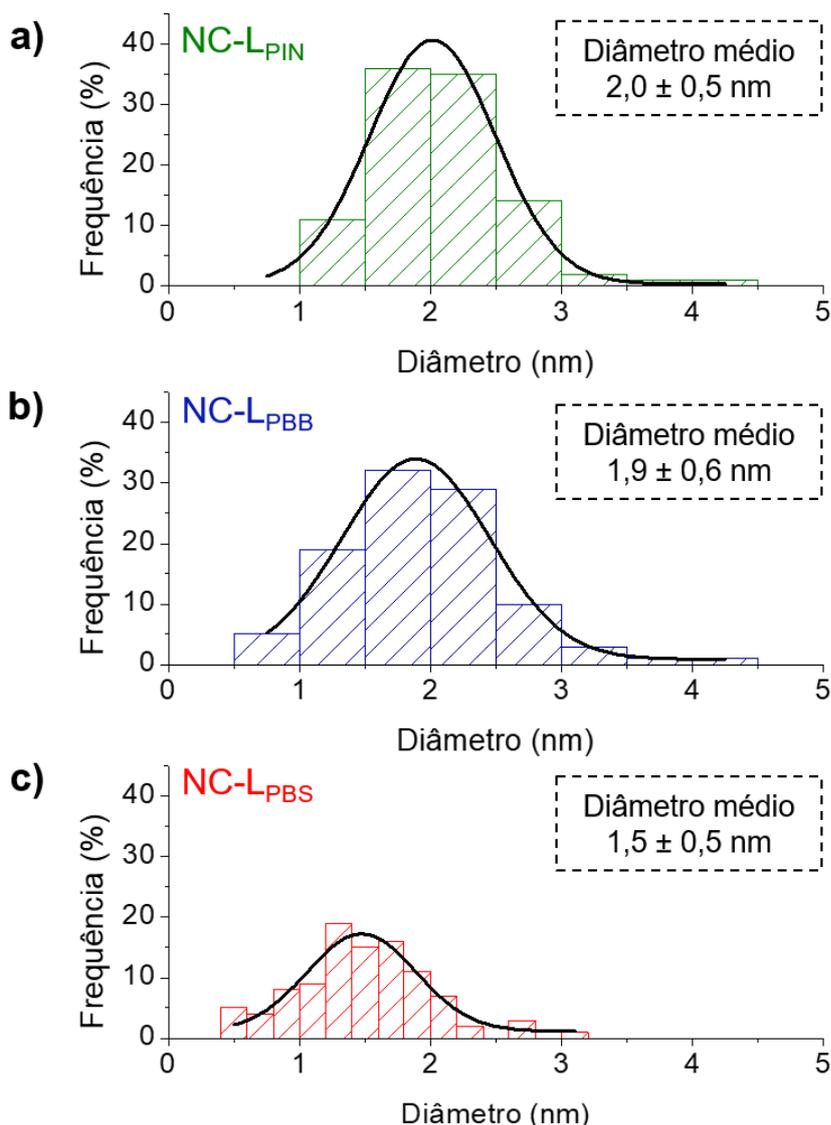
Com a análise de AFM foi possível confirmar a presença de nanocristais e nanofibras de celulose nas três amostras de NC-L (Figuras 4.15a-f), pois foram observadas nanoestruturas com comprimentos maiores e menores que 1 μm. Entretanto, como as suspensões de NC-L apresentaram um aspecto de gel em baixas concentrações (conforme seção 4.4), possivelmente as NFCs estão presentes em maior proporção.

A amostra que apresentou uma maior quantidade de aglomerados foi a NC-L_{PIN}, que possui um maior teor de lignina residual. Estes aglomerados possivelmente consistem em nanopartículas de lignina nativas da biomassa ou que precipitaram e coalesceram após a secagem da amostra na superfície da mica (Figuras 4.15a e 4.15b), assim como reportado por BIAN et al. (2017), JIANG et al. (2020) e ROJO et al. (2015). Os diâmetros das nanopartículas de lignina observadas para NC-L_{PIN} variaram de 10 a 30 nm. Na NC-L_{PBB}, foi observada uma menor quantidade destas nanopartículas, e estas apresentaram diâmetros menores (5 a 20 nm).

FIGURA 4.15 - Imagens de AFM das amostras das amostras NC-L_{PIN} (a, b), NC-L_{PBB} (c, d) e NC-L_{PBS} (e, f). Setas em vermelho indicam possíveis nanopartículas de lignina.



Com as imagens presentes na Figura 4.15 e no apêndice (Figura A), foram obtidas as distribuições de diâmetro das NC-Ls e seus diâmetros médios (Figura 4.16), determinados como sendo o valor de x na curva gaussiana, onde a frequência (y , %) foi máxima. A incerteza desta medida foi estabelecida como sendo o desvio padrão das 100 medidas de diâmetro das nanoestruturas.

FIGURA 4.16 - Distribuição do diâmetro de NC-L_{PIN} (a); NC-L_{PBB} (b) e NC-L_{PBS} (c).

A NC-L_{PIN} e NC-L_{PBB} apresentaram diâmetros médios próximos e pouco maiores que o diâmetro da NC-L_{PBS} ($2,0 \pm 0,5$ nm para NC-L_{PIN}, $1,9 \pm 0,6$ nm para NC-L_{PBB} e $1,5 \pm 0,5$ nm para NC-L_{PBS}). Estatisticamente, os diâmetros não diferem. Entretanto, dado que o sistema é polidisperso, ao avaliar as curvas de distribuição, nota-se que a NC-L_{PBS} apresentou uma curva gaussiana centrada em um menor valor quando comparado às curvas de NC-L_{PIN} e NC-L_{PBB}. Deste modo, a presença da lignina residual pode ter contribuído para a produção de NCFs e NCCs com maior diâmetro. AGARWAL et al. (2018), BIAN et al. (2017) e JIANG et al. (2020) observaram diâmetros médios maiores para as NC-L com maior teor de lignina residual. Isso ocorre, pois, como mencionado anteriormente, a presença da lignina dificulta o processo de hidrólise da celulose, bloqueando o acesso aos seus domínios cristalinos (TROVAGUNTA et al., 2021).

A razão de aspecto é definida como sendo a razão entre o comprimento e o diâmetro médios da NC (OKSMAN e SAIN, 2006). Na produção de um nanocompósito, quanto maior a razão de aspecto da NC, maior é a sua área superficial específica. Isso pode resultar em uma interação mais eficaz entre a NC e a matriz na qual está incorporada (BILATTO et al., 2020). Os diâmetros médios observados para as NC-Ls neste trabalho foram menores que os reportados na literatura para NCs de palha de cana-de-açúcar (AGUIAR et al., 2020; BILATTO et al., 2020; LU et al., 2021). Como consequência do menor diâmetro, tem-se uma maior razão de aspecto, o que pode ser uma vantagem se a NC-L for atuar como agente de reforço em um nanocompósito.

4.11 - Nanoespectroscopia de infravermelho das NC-Ls

A técnica de nanoespectroscopia no infravermelho foi empregada a fim de investigar a localização da lignina residual na amostra de NC-L e para verificar se os aglomerados observados correspondiam a nanopartículas de lignina. A partir de imagens de AFM das NC-Ls, foi possível adquirir espectros na região do infravermelho em diferentes locais da amostra (Figura 4.17).

Para a NC-L_{PIN}, foram obtidos espectros em um aglomerado de nanofibras de celulose e de outras nanopartículas esféricas (Figura 4.17a). Nas regiões a, b e c, foram observadas nos espectros bandas características da celulose. Já na região d, foram observadas bandas características da celulose, hemicelulose e lignina (Tabela 4.7). Para a NC-L_{PBB}, os espectros foram obtidos de uma nanofibra de celulose (Figura 4.17b). Neste caso, em todas as regiões da amostra (a-e) os espectros resultantes apresentaram bandas características da celulose. Por fim, para a NC-L_{PBS} (Figura 4.17c), foi possível observar somente bandas características da celulose e uma região (e) com indício da presença da hemicelulose.

Com base nesses resultados, não foi obtida uma resposta conclusiva sobre a localização da lignina residual na NC-L; porém, com as imagens analisadas, foi possível verificar a presença da lignina em um aglomerado de nanofibras de celulose na NC-L_{PIN}. Já nas amostras NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}, foi possível confirmar que a superfície das nanofibras de celulose observadas nas imagens de AFM não estavam recobertas por lignina ou hemicelulose.

FIGURA 4.17 - Espectros na região do infravermelho (1920 a 950 cm^{-1}) obtidos nos locais indicados nas imagens de AFM para NC-L_{PIN} (a); NC-L_{PBB} (b) e NC-L_{PBS} (c).

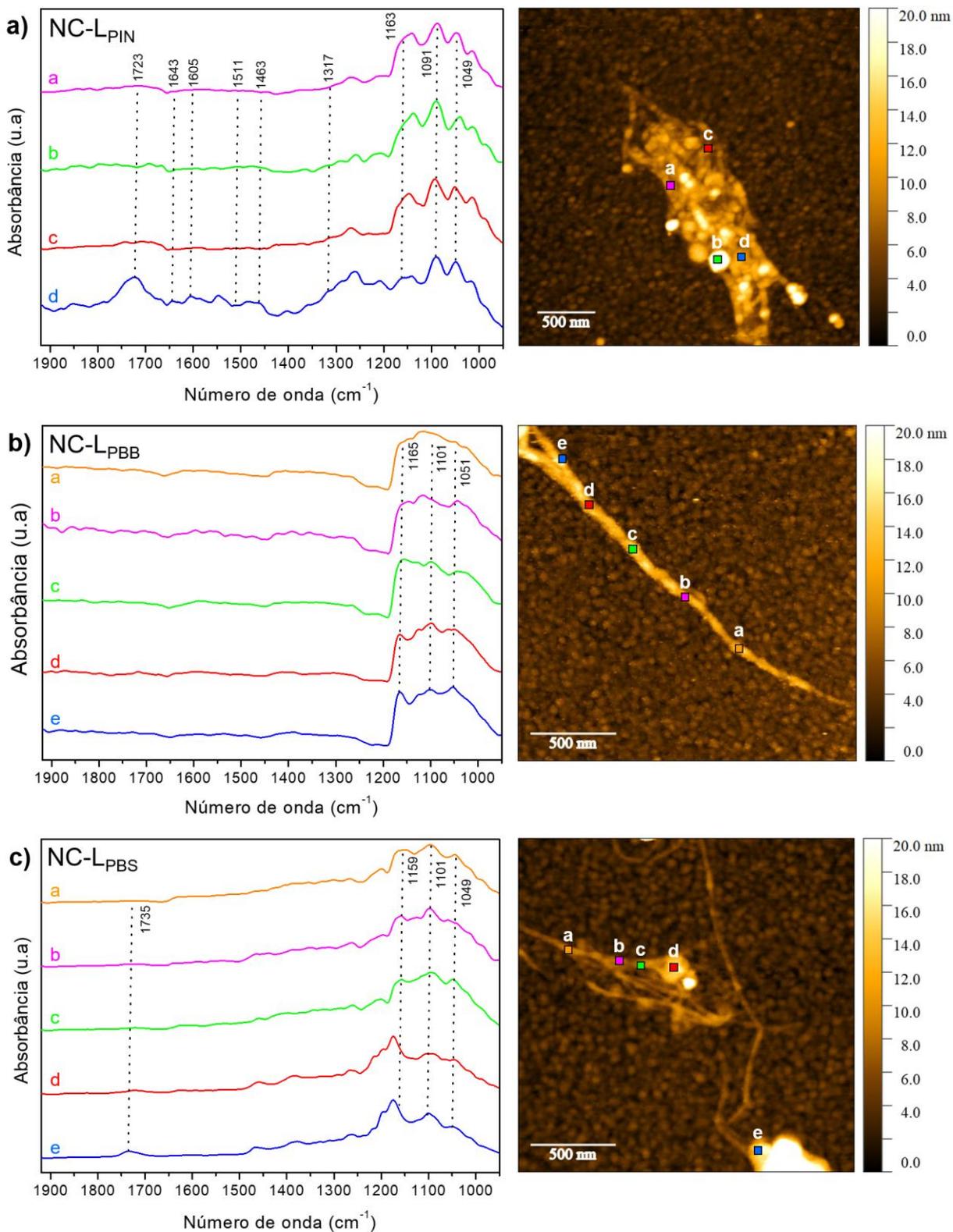


TABELA 4.7 - Bandas vibracionais de ligações químicas características da celulose, hemicelulose e lignina com seus respectivos comprimentos de onda (cm^{-1}).

Número de onda (cm^{-1})	Origem	Atribuição
1735-1723	Deformação axial de C=O (éster)	Hemicelulose
1643	Deformação axial de C=O	Lignina
1605/1511/1463	Vibrações C-C (anel aromático)	Lignina
1453	Vibração C-C (anel aromático) e deformação angular assimétrica de $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2-$	Lignina
		Celulose
		Hemicelulose
1317	Deformação tipo <i>wagging</i> de CH_2	Celulose
1165-1159	Deformação axial de C-O-C (ligações glicosídicas)	Celulose
		Hemicelulose
1051-1049	Vibrações de CH-O-CH (anel glicosídico)	Celulose
		Hemicelulose

CAPÍTULO 5

5 - Considerações finais

5.1 - Conclusões

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, concluiu-se que:

- ✓ Foi possível obter palhas de cana-de-açúcar com diferentes teores de lignina variando a severidade do branqueamento com ClO_2 . Uma maior remoção da lignina foi conseguida com maiores tempo de reação e número de adições de reagentes ($\text{NaClO}_2/\text{HAc}$). Deste modo, mostrou-se que é possível controlar o teor de lignina residual presente na NC-L, variando as condições do branqueamento;
- ✓ Com a remoção da lignina ocorreu uma desconstrução parcial na estrutura das palhas e, com isso, um possível aumento em sua área superficial, facilitando o acesso aos domínios cristalinos da celulose no processo de hidrólise com ácido sulfúrico. Por esta razão, foram observados maiores rendimentos de hidrólise para as NC-Ls provenientes das palhas com menores teores de lignina. Em contrapartida, a produção da NC-L_{PIN} apresentou o maior rendimento total, como resultado do menor número de etapas no processo;
- ✓ As NC-L produzidas via hidrólise com ácido sulfúrico foram modificadas superficialmente por grupos éster sulfato, conforme evidenciado pelas análises de TG, FTIR e potencial zeta;
- ✓ As NC-Ls com maior teor de lignina residual apresentaram uma maior estabilidade térmica. Esta pode ser uma vantagem para a aplicações da NC-L que exigem aquecimento, como na produção de nanocompósitos por extrusão, os quais necessitam da fusão do polímero;
- ✓ Os processos de branqueamento e de hidrólise ácida não modificaram a estrutura cristalina da celulose I das amostras de palha e de NC-L. Entretanto, devido a sua natureza amorfa, a presença da lignina residual contribuiu para a redução do IC das NC-Ls;
- ✓ A presença da lignina residual contribuiu para a redução da estabilidade coloidal das suspensões de NC-L (a NC-L_{PIN} apresentou um potencial zeta menor em módulo), o que pode ser uma desvantagem para a aplicação das NC-L como reforço em polímeros, devido à dificuldade de dispersão das nanoestruturas na matriz;

- ✓ A análise de AFM confirmou a presença de NFCs e NCCs nas três amostras de NC-Ls. Entretanto, o aspecto de gel das suspensões de NC-L foi um indicativo de que as NFCs estavam presentes em maior proporção que os NCCs;
- ✓ As três NC-Ls apresentaram diâmetros médios menores que os reportados na literatura para NCs de palha de cana, o que pode ser uma vantagem na aplicação da NC-L como reforço em nanocompósitos, devido a sua maior razão de aspecto;
- ✓ A superfície das NFCs observadas para NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS} pela análise de AFM-IR não estavam recobertas por lignina ou hemicelulose, pois os espectros de infravermelho obtidos apresentaram somente bandas características da celulose;
- ✓ Foi possível modificar as propriedades da NC-L sem a necessidade aumentar número de etapas do processo, aproveitando as características da lignina já presente na biomassa.

Por fim, as questões propostas foram respondidas, atingindo os objetivos da pesquisa.

- ✓ Foi possível obter uma suspensão majoritariamente composta por nanofibras de celulose a partir da palha *in natura*, utilizando a hidrólise com solução 60% (m/m) de ácido sulfúrico, um tempo de reação de 75 min a 45 °C. Portanto, é possível obter nanocelulose de palha *in natura* sem realizar pré-tratamentos;
- ✓ O rendimento de hidrólise da palha *in natura* foi de $36 \pm 2\%$, cerca de 10% menor do que o rendimento obtido para as palhas branqueadas. Porém, o rendimento total da produção da NC-L_{PIN} foi maior que os obtidos para NC-L_{PBB} e NC-L_{PBS}, devido ao menor número de etapas envolvidas no processo de produção. Neste ponto, vale ressaltar que as NC-Ls produzidas apresentaram propriedades diferentes devido a presença da lignina residual, e isto poderá afetar suas aplicações;
- ✓ A presença da lignina residual na NC-L não influenciou significativamente sua hidrofilicidade e diâmetro, entretanto reduziu sua estabilidade coloidal e índice de cristalinidade, e aumentou sua estabilidade térmica.

5.2 - Trabalhos futuros

Como possíveis trabalhos futuros a partir desta pesquisa, podem-se citar:

- Estudo de novas condições de hidrólise ácida, visando aumentar o rendimento de obtenção da NC-L. Reduzir o tempo e/ou concentração da solução de ácido sulfúrico pode aumentar o rendimento;
- Produção de nanofibras de celulose a partir das biomassas PIN, PBB e PBS, via rota mecânica (utilizando moinho *supermasscolloider*, Masuko Sangyo), visando uma abordagem ambientalmente mais amigável. E comparar as propriedades e custos com as NC-Ls produzidas neste trabalho;
- Aplicação das NC-Ls obtidas neste trabalho na estabilização de emulsões *Pickering*, a fim de avaliar se a lignina pode contribuir para essa estabilização;
- Aplicação das NC-Ls na produção de nanocompósitos poliméricos, com o objetivo de analisar se a lignina residual melhora a compatibilidade da NC-L com uma matriz hidrofóbica;
- Comparação de propriedades das NC-Ls deste trabalho com NC modificadas com lignina técnica.

CAPÍTULO 6

6 - Referências

ABNT NBR. Madeira – Determinação do teor de umidade de cavacos – Método por secagem em estufa – ABNT NBR 14929:2017.

AGARWAL, U. P.; RALPH, S. A.; REINER, R.S.; HUNT, C. G.; BAEZ, C.; IBACH, R.; HIRTH, K. C. "Production of high lignin-containing and lignin-free cellulose nanocrystals from wood". *Cellulose*, 25 (10): 5791-5805, 2018.

AGUIAR, A.; MILESSI, T. S.; MULINARI, D. R.; LOPES, M. S.; DA COSTA, S. M.; CANDIDO, R. G. "Sugarcane straw as a potential second generation feedstock for biorefinery and white biotechnology applications". *Biomass and Bioenergy*, **144**: 105896, 2021.

AGUIAR, J.; BONDANCIA, T. J.; CLARO, P. I. C.; MATTOSO, L. H. C.; FARINAS, C. S.; MARCONCINI, J. M. "Enzymatic deconstruction of sugarcane bagasse and straw to obtain cellulose nanomaterials". *ACS Sust. Chem. & Engineering*, 8 (5): 2287-2299, 2020.

AKPAN, E. I.; WETZEL, B.; FRIEDRICH, K. "Eco-friendly and sustainable processing of wood-based materials". *Green Chem.*, 23 (6): 2198-2232, 2021.

BIAN, H.; CHEN, L.; DAI, H.; ZHU, J. Y. "Integrated production of lignin containing cellulose nanocrystals (LCNC) and nanofibrils (LCNF) using an easily recyclable dicarboxylic acid". *Carbohydrate Polymers*, **167**:167–176, 2017.

BRASILAGRO. A remoção da palha de cana pode dobrar a demanda de fertilizantes em 2050. Brasilagro: Informação para ter opinião, 2019.

BONASSA, G.; SCHNEIDER, L. T.; FRIGO, K. D. A.; FEIDEN, A.; TELEKEN, J. G.; Frigo, E. P. "Subprodutos gerados na produção de bioetanol: bagaço, torta de filtro, água de lavagem e palhagem". *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, **4**: 144-166, 2015.

BONDANCIA, T. J. Rotas Verdes para Obtenção de Nanocelulose em Biorrefinarias: Desenvolvimento de Estratégias via Hidrólise Enzimática e com Ácidos Orgânicos. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - UFSCar, 2020. Tese de doutorado, 164 p.

BILATTO, S.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L.H.C.; FARINAS, C.S. "Lignocellulose nanocrystals from sugarcane straw". *Industrial Crops & Products*, 157 (8): 1-10, 2020.

CANEVAROLO, S. V. Técnicas de Caracterização de Polímeros. São Paulo, Artliber Editora, 2004. cap. Análise térmica – Termogravimetria.

CHEN, Y.; ZHANG, H.; FENG, X.; MA, L.; ZHANG, Y.; DAI, H. "Lignocellulose nanocrystals from pineapple peel: Preparation, characterization and application as

efficient Pickering emulsion stabilizers". *Food Research International*, **150**: 110738, 2021.

COLODETTE, J. L.; GOMES, F. J. B. "Branqueamento de Polpa Celulósica: da Produção da Polpa Marrom ao Produto Acabado". IN: *Deslignificação e branqueamento com dióxido de cloro*. Editora UFV (Eds.). Viçosa, 2015. p. 355-378.

CONAB. "Acompanhamento da Safra Brasileira: Cana-de-Açúcar. Safra 2022/2023. 4º Levantamento". Companhia Nacional de Abastecimento. Monitoramento Agrícola. 10 (4): 1-50, 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 25 ago. 2023.

COSTA, S. M.; AGUIAR, A.; LUZ, S. M; PESSOA, A.; COSTA, S. A. "sugarcane straw and its cellulose fraction as raw materials for obtainment of textile fibers and other bioproducts". IN: *Polysaccharides*. RAMAWAT, K., MÉRILLON, JM. Springer, Cham, I. D. (Eds.). 2015. p. 513-533.

ESPINOSA, E.; VILLEGAS, I. B.; ROSAL, A.; RODRÍGUEZ, F. P.; CARRASCO, G. C.; RODRÍGUEZ, A. "PVA/(ligno)nanocellulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties". *International Journal of Biological Macromolecules*, **141**: 197-206, 2019.

ESPINOSA, E.; ROL, F.; BRAS, J.; RODRÍGUEZ, A. "Use of multi-factorial analysis to determine the quality of cellulose nanofibers: Effect of nanofibrillation treatment and residual lignin content". *Cellulose*, **27**: 10689-10705, 2020.

EWULONU, C. M.; LIU, X.; WU, M.; YONG, H. "Lignin-containing cellulose nanomaterials: a promising new nanomaterial for numerous applications". *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 4 (1): 3-10, 2019.

FARR, J. P.; SMITH, W. L.; STEICHEN, D. S. "Bleaching agents". IN: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons, Inc. I. D. (Eds.). 2003.

FENG, Q.; WANG, L.; WAN, Z.; BU, X.; DENG, Q.; LI, D.; CHEN, C.; XU, Z. "Efficient ultraviolet blocking film on the lignin-rich lignocellulosic nanofibril from bamboo". *International Journal of Biological Macromolecules*, **250**: 126059, 2023.

FERRER, A.; QUINTANA, E.; FILPPONEN, I.; SOLALA, L.; VIDAL, T.; RODRIGUEZ, J. L.; ROJAS, O. J. "Effect of residual lignin and heteropolysaccharides in nanofibrillar cellulose and nanopaper from wood fibers". *Cellulose*, 19 (6): 2179-2193, 2012.

FOSTER, E. J.; MOON, R. J.; AGARWAL, U. P.; BORTNER, M. J.; BRAS, J.; CAMARERO-ESPINOSA, S.; CHAN, K. J.; CLIFT, M. J. D.; CRANSTON, E. D.; EICHHORN, S. J.; FOX, D. M.; HAMAD, W. Y.; HEUX, L.; JEAN, Br.; KOREY, M.; NIEH, W.; ONG, K. J.; REID, M. S.; RENNECKAR, S.; ROBERTS, R.; SHATKIN, J. A.; SIMONSEN, J.; STINSON-BAGBY, K.; WANASEKARA, N.; YOUNGBLOOD, J. "Current characterization methods for cellulose nanomaterials". *Chemical Society Reviews*, 47 (8): 2511-3006, 2018.

FRENCH, A. D. "Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs". *Cellulose*, 21 (2): 885-896, 2014.

GARS, L.; DOUARD, L.; BELGACEM, N.; BRAS, B. "Cellulose nanocrystals: from classical hydrolysis to the use of deep eutectic solvents" IN: Smart Nanosystems for Biomedicine. SHABATINA, T.; BOCHENKOV, V., I. D. (Eds.). Optoelectronics and Catalysis, 2019.

GENTIL, M.; MAGALHÃES, W. L. S.; MARTINS, T. R.; MALLMANN, A. S.; MALUCELLI, L. C.; COLDEBELLA, R.; PEDRAZZI, C. "Influence of residual lignin on *Acacia mearnsii* De Wild nanofibrillated cellulose suspensions and films". Cellulose, **30**: 10867-10877, 2023.

GUO, S.; LI, X.; KUANG, Y.; LIAO, J.; LIU, K.; LI, J.; MO, L.; HE, S.; ZHU, W.; SONG, J.; SONG, T.; ROJAS, O, J. "Residual lignin in cellulose nanofibrils enhances the interfacial stabilization of Pickering emulsions". Carbohydrate Polymers, **253**: 117223, 2021.

HERRERA, M.; THITIWUTTHISAKUL, K.; YANG, X.; RUJITANAROJ, P.; ROJAS, R.; BERGLUND, L. "Preparation and evaluation of high-lignin content cellulose nanofibrils from eucalyptus pulp". Cellulose, **25** (5): 3121-3133, 2018.

HUANG, J.; DUFRESNE, A.; LIN, N. Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Materials. 1a ed. Alemanha, Wiley-VCH, 2019a.

HUANG, J.; HOU, S.; CHEN, R. "Ionic liquid-assisted fabrication of nanocellulose from cotton linter by high pressure homogenization". BioResources, **14** (4): 7805-7820, 2019b.

HUANG, B.; JIANG, J.; "Construction of super-hydrophobic lignocellulosic nanofibrils aerogels as speedy oil absorbents". IN: Applied Biochemistry and Biotechnology. SACHS, J. (Eds.). Springer Link, 2023.

JIANG, J.; CARRILLO-ENRÍQUEZ, N. C.; OGUZLU, H.; HAN, X.; BI, R; SONG, M.; SADDLER, J. N.; SUN, R. C.; JIANG, F. "High production yield and more thermally stable lignin-containing cellulose nanocrystals isolated using a ternary acidic deep eutectic solvent. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, **8** (18): 7182-7191, 2020.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. "Microfibrillated cellulose – its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review". Carbohydrate Polymers, **90** (2): 735-764, 2012.

LIU, W.; LIU, K.; DU, H.; ZHENG, T.; ZHANG, N.; XU, T.; PANG, B.; ZHANG, X.; SI, C.; ZHANG, K. "Cellulose nanopaper: fabrication, functionalization, and applications". Nano-Micro Letters, **14** (1): 104, 2022.

LU, S.; MA, T.; HU, X.; ZHAO, J.; LIAO, X.; SONG, Y.; HU, X. "Facile extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agricultural waste sugarcane straw". Journal of the science of food and agricultura, **102** (1) 312-321, 2021.

MARABEZI, K. Estudo Sistemático das Reações Envolvidas na Determinação dos Teores de Lignina e Holocelulose em Amostras de Bagaço e Palha de Cana-de-açúcar. 2009. São Carlos, Programa de Pós-Graduação de Química - USP São Carlos, 2009. Dissertação de Mestrado, 158 p.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, F. M.; MARCONCINI, J. M. "Procedimentos para análise lignocelulósica". Documentos 236. EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa do Algodão. Campina Grande – PB, 2010.

NAIR, S. S.; YAN, N. "Effect of high residual lignin on the thermal stability of nanofibrils and its enhanced mechanical performance in aqueous environments". *Cellulose*, 22 (5): 3137-3150, 2015.

NAIR, S. S.; CHEM, H.; PENG, Y.; HUANG, Y.; YAN, N. "Polylactic acid biocomposites reinforced with nanocellulose fibrils with high lignin content for improved mechanical, thermal, and barrier properties". *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 6 (8): 10058-10068, 2018.

NASCIMENTO, D. M.; ALMEIDA, J. S.; VALE, M. S.; LEITÃO, R. C.; MUNIZ, C. R.; FIGUEIRÊDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. F. "A comprehensive approach for obtaining cellulose nanocrystal from coconut fiber. Part I: Proposition of technological pathways". *Industrial Crops and Products*, **93**: 66-75, 2016.

NETTO, C. F. *Análise de Viabilidade Técnica e Econômica do Recolhimento de Palha de Cana-de-açúcar por Forrageira e Colheita Integral*. Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola - UNICAMP, 2018. Dissertação de Mestrado, 86 p.

O'HARA, I. M. "The sugarcane industry, biofuel, and bioproduct perspectives". IN: *Sugarcane-Based Biofuels and Bioproducts*. O'HARA, I. M.; MUNDREE, S. G., I. D. (Eds.). Austrália, John Wiley & Sons, 2016. p. 3-21.

SAIN, M.; OKSMAN, K. "Introduction to cellulose nanocomposites". IN: *Cellulose Nanocomposites*. OKSMAN, K.; SAIN, M., I. D. (Eds.). Washington, American Chemical Society, 2006. p. 1-9.

SHARMA, N.; BHARDWAJ, N. K.; SINGH, R. B. P. "Environmental issues of pulp bleaching and prospects of peracetic acid pulp bleaching: A review". *Journal of Cleaner Production*, 256: 120338, 2020.

PARK, S.; BAKER, J. O.; HIMMEL, M. E; PARILLA, P. A; JOHNSON, D. K. "Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance". *Biotechnology for Biofuels*, **3**: 1-10, 2010.

PETRIDIS, L.; SMITH, J. C. "Molecular-level driving forces in lignocellulosic biomass deconstruction for bioenergy". *Nature Reviews Chemistry*, 2 (11): 382-389, 2018.

PHANTHONG, P.; REUBROYCHAROEN, P.; HAO, X.; XU, G.; ABUDULA, A.; GUAN, G. "Nanocellulose: extraction and application". *Carbon Resources Conversion*, 1 (1): 32-43, 2018.

RAZALI, N. A. M.; ISMAIL, M. F.; AZIZ, F. A. "Characterization of nanocellulose from *Indica* rice straw as reinforcing agent in epoxy-based nanocomposites". *Polymer Engineering and Science*, 61 (5): 1594-1606, 2021.

RODIONOVA, M. V.; BOZIEVA, A. M.; ZHARMUKHAMEDOV, S. K.; LEONG, Y. K.; CHI-WEI LAN, J.; VEZIROGLU, A.; VEZIROGLU, T. N.; TOMO, T.; CHANG, J.;

ALLAKHVERDIEV, S. I. "A comprehensive review on lignocellulosic biomass biorefinery for sustainable biofuel production". *International Journal of Hydrogen Energy*, 47 (3): 1481-1498, 2022.

ROJO, E.; PERESIN, M. S.; SAMPSON, W. W.; HOEGER, I. C.; VARTIAINEN, J.; LAINEA, J.; ROJAS, O. J.; "Comprehensive elucidation of the effect of residual lignin on the physical, barrier, mechanical and surface properties of nanocellulose films". *Green Chemistry*, 17 (3): 1853-1866, 2015.

SABARUDDIN, F. A.; TAHIR, P. M.; SAPUAN, S. M.; ILAYAS R. A.; LEE, S, H.; ABDAN, K.; MAZLAN, N.; ROSELEY, A. S. M.; KHALIL, H. P. S.; "The Effects of Unbleached and Bleached Nanocellulose on the Thermal and Flammability of Polypropylene-Reinforced Kenaf Core Hybrid Polymer Bionanocomposites". *Polymers*, 13 (1), 2020.

SEGAL, L.; CREELY, J.; MARTIN, A.; CONRAD, C. "An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the x-ray diffractometer". *Textile Research Journal*, 29 (10): 786-794, 1959.

SILVA, D. L.G.; BATISTI, D.L.S.; FERREIRA, M. J. G.; MERLINI, F. B.; CAMARGO, R. B.; BARROS, B. C. B. "Cana-de-açúcar: aspectos econômicos, sociais, ambientais, subprodutos e sustentabilidade". *Society and Development*, 10 (7): 1-17, 2021.

TAPPI Standart, 2006. Acid-insoluble lignin in wood and pulp – Method T222 om-88.

TARRÉS, Q.; EHMAN, N. V.; VALLEJOS, M. E.; AREA, M. C.; AGUILAR, M. D.; MUTJÉ, P. "Lignocellulosic nanofibers from triticale straw: the influence of hemicelluloses and lignin in their production and properties". *Carbohydrate Polymers*, **163**: 20–27, 2017.

TRACHE, D.; HUSSIN, M. H.; HAAFIZ, M. K. M.; THAKUR, V. K.; "Recent progress in cellulose nanocrystals: sources and production". *Nanoscale*, **9**: 1763-1786, 2017.

TRACHE, D.; Tarchoun, A. F.; Derradji, M.; Hamidon, T. S.; Masruchin, N.; Brosse, N.; Hussin, M. H. "Nanocellulose: from fundamentals to advanced applications". *Frontiers in Chemistry*, 8 (392): 1-33, 2020.

TROVAGUNTA, R.; ZOU, T.; ÖSTERBERG, M.; KELLEY, S. S.; LAVOINE, N. "Design strategies, properties and applications of cellulose nanomaterials-enhanced products with residual, technical or nanoscale lignin—A review". *Carbohydrate Polymers*, **254**: 117480, 2021.

WEN, Y. "Preparation and characterization of lignin-containing cellulose nanofibril from poplar high-yield pulp via TEMPO-mediated oxidation and homogenization". *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7 (6): 6131–6139, 2019.

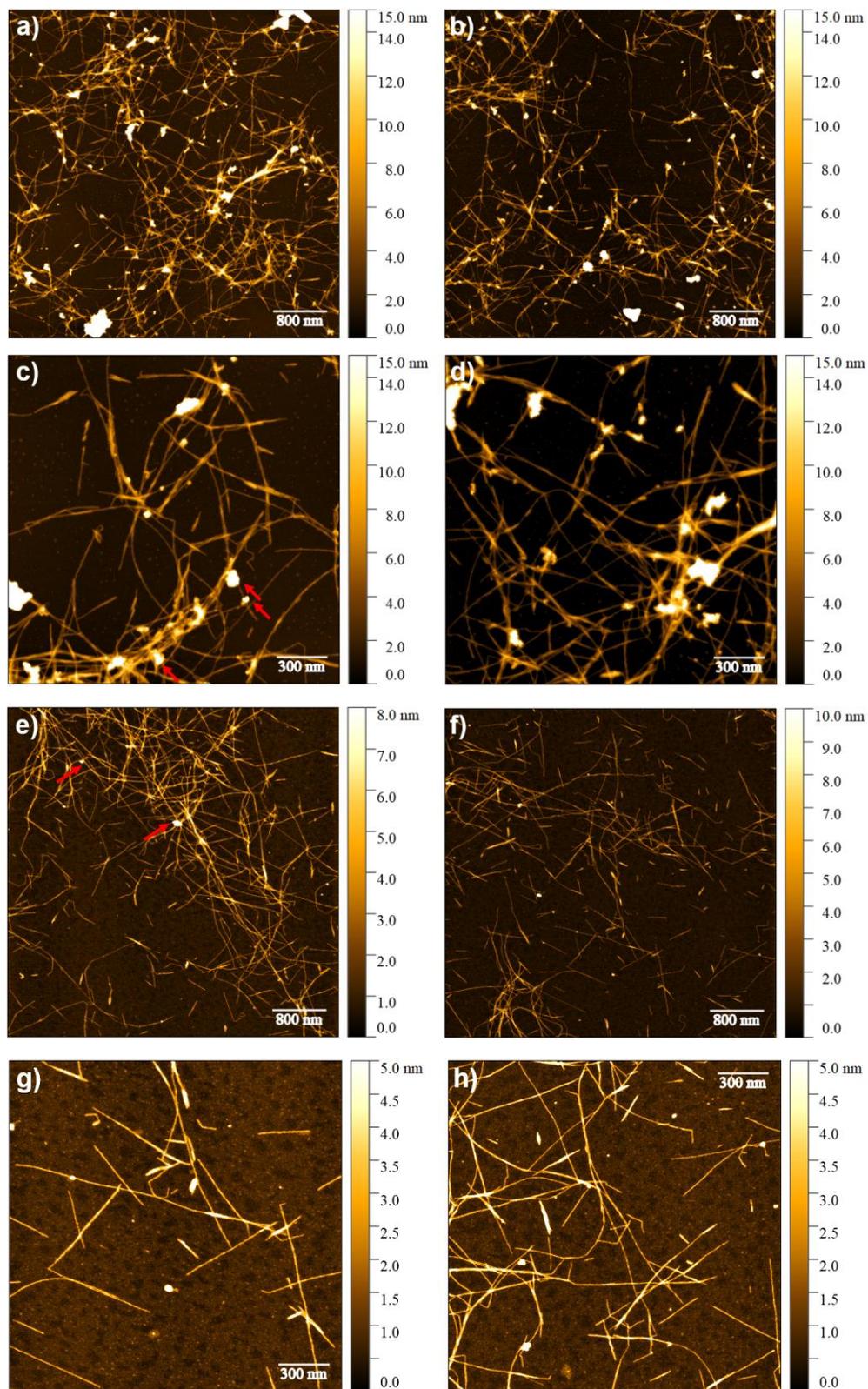
YANG, H.; ZHANG, Y.; KATO, R.; ROWAN, S. J. "Preparation of cellulose nanofibers from *Miscanthus x. Giganteus* by ammonium persulfate oxidation". *Carbohydrate Polymers*, **212**: 30-39, 2019.

YUAN, T.; ZENG, J.; WANG, B.; CHENG, Z.; CHEN, K.; "Lignin containing cellulose nanofibers (LCNFs): lignin content-morphology-rheology relationships". *Carbohydrate Polymers*, **254**, 2021

ZHUANG, C.; TAO, F.; CUI, Y. "Eco-friendly biorefractory films of gelatin and TEMPO-oxidized cellulose ester for food packaging application". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (10): 3384-3395, 2017.

Apêndice

FIGURA A - Imagens de AFM das amostras NC-L_{PIN} (a-d), NC-L_{PBB} (e-h) e NC-L_{PBS} (i-m). Setas em vermelho indicam possíveis nanopartículas de lignina.



FIGURAA – Continuação.

