



Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Química
Programa de Pós-graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE
CELULOSE A PARTIR DE CASCA DE SOJA, E SUA APLICAÇÃO
COMO AGENTE DE REFORÇO EM NANOCOMPÓSITOS
POLIMÉRICOS UTILIZANDO CARBOXIMETILCELULOSE
COMO MATRIZ**

Wilson Pires Flauzino Neto

Uberlândia – MG

2012

Wilson Pires Flauzino Neto

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE A PARTIR DE CASCA DE SOJA, E SUA APLICAÇÃO COMO AGENTE DE REFORÇO EM NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS UTILIZANDO CARBOXIMETILCELULOSE COMO MATRIZ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Pasquini

Uberlândia, Julho de 2011



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em
Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 151/COPGQ.

DATA: 27/07/2012

DISCENTE: Wilson Pires Flauzino Neto

MATRÍCULA: 11022QMI010

TÍTULO DO TRABALHO: Extração e caracterização de nanocristais de celulose a partir de casca de soja, e sua aplicação como agente de reforço em nanocompósitos poliméricos utilizando carboximetilcelulose como matriz.

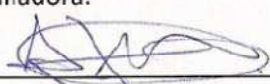
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Físico-Química de Macromoléculas e Coloides

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Preparação e caracterização de nanocompósitos a partir de nanocristais de polissacarídeos.

Às quatorze horas do dia vinte e sete de julho do ano dois mil e doze, no Auditório do Bloco 3C, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Aparecido Junior de Menezes, da Universidade Federal de São Carlos, Reinaldo Ruggiero, do Instituto de Química da UFU e Daniel Pasquini, professor orientador e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 01/2010/COPGQ. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será O MESMO

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 24 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Aparecido Junior de Menezes –
UFSCar


Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero – IQUFU


Orientador: Prof. Dr. Daniel Pasquini – IQUFU

“O que é verdadeiramente imoral é ter desistido de si mesmo.”

(Clarice Lispector)

“O mestre disse a um dos seus alunos: Yu, queres saber em que consiste o conhecimento? Consiste em ter consciência tanto de conhecer uma coisa quanto de não a conhecer. Este é o conhecimento; Conhecimento real é saber a extensão da própria ignorância.”

(Confúcio)

Dedico essa dissertação aos meus pais JOSÉ CARLOS e MÁRCIA pelas várias vezes que renunciaram de seus sonhos em favor dos meus, suportarem minha ausência, meu mau humor e por sempre acreditarem em mim, até quando nem eu acreditava. Sem o amor, o incentivo e o amparo incondicional dos meus pais nada disso seria possível! Obrigado, amo muito vocês.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, por todos os obstáculos superados nessa conquista.
- Ao Prof. Dr. Daniel Pasquini, pela oportunidade de desenvolver este projeto em seu grupo de pesquisa, confiança em mim depositada, orientação, paciência, dedicação, empenho, respeito e amizade ao longo destes dois anos.
- Aos meus pais, por todos estes anos de dedicação, pelo amor e educação, que tanto contribuíram para a formação de meu caráter.
- A minha irmã Ana Carolina, pela ajuda e carinho; e meus sobrinhos Giovana e Marcelo pelos momentos de alegria.
- A minha tia Dulce, que sempre me serviu de exemplo.
- Ao meu amigo Hudson, pela amizade, companheirismo e pelos trabalhos que realizamos em conjunto.
- A todos os colegas de laboratório, pelo convívio, em especial a Julia e ao Lucas pela paciência, boa vontade e todo apoio que me foi concedido.
- Aos Professores Dr. Guimes Rodrigues Filho e Dra. Rosana Maria Nascimento de Assunção, pela disponibilização da infra-estrutura, trabalhos em conjunto e apoio dado.
- Aos Professores Dr. Reinaldo Ruggiero e Dr. Aparecido Junior Menezes, pela participação na banca examinadora.
- Ao Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro, ao Dr. Hernane da Silva Barud, a Msc. Daniele Bueno dos Santos e ao técnico Tarek Fernandes pelas análises mecânicas e microscopias de varredura eletrônica.
- Aos demais docentes do IQUFU, que ao longo do período de graduação e pós-graduação tanto contribuíram para a minha formação.
- Aos técnicos Roni Marcos e Mayta Peixoto, pela boa vontade.
- Ao IQUFU, pelo uso de sua estrutura.
- A FAPEMIG pela bolsa de mestrado.
- Ao CNPq pelo projeto Universal 475383/2011-7.
- E a todos que de alguma forma contribuíram e/ou torceram pela concretização deste trabalho.

Aqui fica minha sincera gratidão!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Constituição das Fibras Vegetais	3
2.2. Celulose	4
2.3. Lignina	5
2.4. Hemiceluloses	7
2.5. Organização Hierárquica das Fibras Vegetais	8
2.6. Polimorfos da Celulose	10
2.7. Estrutura da Celulose do Tipo II	12
2.8. Nanocristais de Celulose	13
2.9. Carboximetilcelulose	16
3. OBJETIVOS	18
4. PARTE EXPERIMENTAL	19
4.1. Materiais	19
4.2. Purificação	19
4.3. Composição Química	20
4.3.1. Teor de Umidade	20
4.3.2. Teor de Cinzas	20
4.3.3. Teor de Lignina Klason Insolúvel	20

4.3.4. Teor de Lignina Klason Solúvel.....	21
4.3.5. Obtenção da Holocelulose.....	22
4.3.6. Teor de α -Celulose.....	23
4.3.7. Teor de Hemiceluloses.....	23
4.4.Extração de Nanocristais de Celulose.....	23
4.5. Análise Gravimétrica.....	24
4.6. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)....	24
4.7. Análise Elementar.....	24
4.8. Difração de Raios-X (DR-X).....	24
4.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM).....	25
4.10. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	25
4.11. Microscopia de Força Atômica (AFM).....	26
4.12. Análise Térmica.....	26
4.13. Preparação dos filmes Nanocompósitos.....	26
4.14. Ensaio de Tração.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1. Purificação, Composição Química e FTIR.....	28
5.2. Extração de Nanocristais de Celulose e Análise Elementar.....	31
5.3. DR-X.....	32
5.4. Análises de Microscopia.....	34
5.4.1. SEM.....	34
5.4.2. TEM e AFM.....	35
5.5. Análise Térmica.....	39
5.6. Ensaio de Tração.....	42
6. CONCLUSÕES.....	44
7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
9. ANEXOS.....	55
9.1. Anexo a) Artigo Publicado.....	55

9.2. Anexo b) Artigo Aceito para Publicação.....	55
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da constituição básica dos materiais lignocelulósicos.....	3
Figura 2. Estrutura da <i>D</i> -Glucose.....	4
Figura 3. Estrutura molecular do polímero natural celulose e da sua unidade monomérica celobiose.....	4
Figura 4. Representação das ligações de hidrogênio na estrutura cristalina da celulose..	5
Figura 5. Estruturas esquemáticas dos alcoóis precursores das ligninas. Cumarílico (I), coniferílico (II) e sinapílico (III).....	6
Figura 6. Ilustração de uma possível estrutura da lignina.....	7
Figura 7. Estrutura molecular dos monômeros comumente encontrados na hemicelulose..	7
Figura 8. Estrutura hierárquica de um tecido vegetal.....	8
Figura 9. Representação esquemática dos níveis que precedem a formação de uma microfibrila presentes em plantas superiores.....	9
Figura 10. Estrutura hierárquica da constituição de uma macrofibrila.....	10
Figura 11. Estruturas cristalinas das celulosas nativas.....	11
Figura 12. Estrutura cristalina da celulose I β e II.....	12
Figura 13. Distinção entre celulose I β e II a partir do padrão de ligações de hidrogênio....	13
Figura 14. Imagens de microscopia de transmissão eletrônica obtidas para NC preparados a partir de diferentes fontes de celulose.....	14

Figura 15. Esquema mostrando que as regiões amorfas das fibrilas de celulose são cineticamente mais favoráveis a hidrólise ácida	15
Figura 16. Representação da equação química da produção da carboximetilcelulose ..	16
Figure 17. Fotografia da casca de soja antes (CB) e depois da purificação (CT).....	28
Figure 18. Espectro de FTIR para a CB, a CT e para os NCC ₃₀	30
Figura 19. Grupos éster-sulfatos introduzidos nas cadeias de celulose durante a preparação de NC com H ₂ SO ₄	31
Figure 20. Suspensões coloidais de NCC resultantes	32
Figure 21. Padrões de DR-X obtidos para a CB, CT, NCC ₃₀ e NCC ₄₀	33
Figure 22. Imagens de SEM da CB e CT.....	34
Figure 23. Imagens de TEM dos NCC. (a) e (b) NCC ₃₀ ; (c) e (d) NCC ₄₀	35
Figure 24. Distribuição das dimensões de comprimento (L), de diâmetro (D) e razão de aspecto (L/D) para NCC ₃₀ e NCC ₄₀ obtidas através de várias imagens de TEM.....	36
Figure 25. Imagens de AFM para os NCC ₃₀	38
Figure 26. Distribuição das dimensões de diâmetro (D) para NCC ₃₀ obtidas através das imagens de AFM.....	38
Figure 27. Curvas de TG para CB, CT e NCC ₃₀	40
Figure 28. Curvas de DTG para CB, CT e NCC ₃₀	41

Figure 29. Fotos dos filmes produzidos. A) Filme de CMC pura; B) Filme compósito de CMC com 2% (em massa) de NCC_{30} ; C) Filme compósito de CMC com 10% (em massa) de NCC_{30} 42

Figure 30. Gráfico da tensão de ruptura dos filmes produzidos..... 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variação do grau de cristalinidade, e dimensão lateral das microfibrilas de diferentes fontes de celulose nativa.....	11
Tabela 2. Principais constituintes da CB e da CT.....	29
Table 3 – Comprimento, diâmetro e razão de aspecto médio calculados a partir das imagens de TEM.....	36
Table 4 – Temperatura inicial do evento (T_{Onset}), temperatura da taxa máxima de perda de massa (T_{Max}), percentual de perda de massa (WL) e percentual de cinzas obtidas das curvas de TG/DTG para CB, CT e NCC ₃₀	41

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

NC – nanocristais de celulose

GP – grau de polimerização

CTs – complexos específicos terminais

CMC – carboximetilcelulose

GS – grau de substituição

CB – casca de soja bruta (antes do tratamento de purificação)

CT – casca de soja tratada (depois do tratamento de purificação)

TAPPI – Technical Association of the Pulp and Paper Industry

NCC – nanocristais de celulose de casca de soja

NCC₃₀ – nanocristais de celulose de casca de soja obtidos com 30 minutos de hidrólise

NCC₄₀ – nanocristais de celulose de casca de soja obtidos com 40 minutos de hidrólise

FTIR – espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

DR-X – difração de raios-x

TEM – microscopia de transmissão eletrônica

SEM – microscopia eletrônica de varredura

AFM – microscopia de força atômica

D – diâmetro

L – comprimento

L/D – aspecto de razão

TG – termogravimetria

DTG – termogravimetria derivativa

DSC – calorimetria exploratória diferencial

T_g – transição vítrea

T_c – temperatura de cristalização

T_m – temperatura de fusão

DMTA – análise térmica-dinâmico-mecânica

u.a. – unidades arbitrárias

ICr – índice de cristalinidade relativo

RESUMO

Diante dos problemas envolvidos na reciclagem de plástico e no esgotamento dos recursos fósseis surgiu um grande interesse em materiais sustentáveis e ambientalmente corretos. Neste contexto, a aplicação de nanocristais de celulose (NC) como agente de reforço para matrizes poliméricas tem atraído considerável atenção, pois os nanocompósitos baseados em NC geralmente exibem propriedades térmicas, mecânicas e de barreira superiores em relação ao polímero puro ou compósitos convencionais, e adicionalmente oferecem benefícios ambientais. A casca de soja é um resíduo agro-industrial disponível em grandes quantidades em vários países, incluindo o Brasil, que merece ser melhor e/ou adequadamente aproveitado. Neste estudo foram extraídos e caracterizados NC a partir de casca de soja sob diferentes condições de hidrólise ácida a fim de avaliar sua adequação como um agente de reforço para a fabricação de nanocompósitos. A hidrólise foi realizada a 40 °C durante 30 ou 40 min, utilizando 30 mL de H₂SO₄ 64% (m/m) por cada grama de fibra. Os nanocristais de celulose de casca de soja (NCC) foram rotulados como NCC₃₀ ou NCC₄₀ dependendo do tempo de hidrólise. Para avaliar a capacidade de reforço dos NCC obtidos foram produzidos filmes nanocompósitos, utilizando carboximetilcelulose (CMC) como matriz polimérica, e avaliou-se a resistência à ruptura destes filmes a diferentes níveis de carga. Os resultados mostraram que o aumento do tempo de extração (40 min) provocou uma diminuição nos comprimentos dos NCC e ainda causou danos na estrutura cristalina da celulose. Os NCC₃₀ apresentaram formato de agulha, cristalinidade elevada (73,5%), boa estabilidade térmica (temperatura inicial de degradação térmica de aproximadamente 170 °C), comprimento médio de 122,7 ± 39,4 nm, diâmetro médio de 2,77 ± 0,67 nm e razão de aspecto em torno de 44. Através dos testes de resistência à ruptura dos compósitos observou-se que os NCC₃₀ têm uma maior capacidade de reforço do que os NCC₄₀. Os NCC₃₀ são agentes de reforço satisfatórios para a matrix de CMC, pois houve um aumento na resistência à ruptura do polímero de até 2,56 vezes (ou 256%). Os NCC produzidos têm um grande potencial enquanto agentes de reforço para a produção de nanocompósitos e são uma alternativa que poderia expandir as aplicações comerciais dos filmes de CMC. Através da produção de nanocristais de celulose de casca de soja neste trabalho foi agregado valor a um resíduo de biomassa vegetal que provém de um *commodity* agro-industrial.

Palavras-chave: Nanocristais de celulose, casca de soja, resíduo agro-industrial, agente de reforço, nanocompósitos.

ABSTRACT

Given the problems involved in plastic recycling and the dwindling exhaustion of fossil resources, there is a great interest in sustainable and environmentally friendly materials. In this context, the application of cellulose nanocrystals (NC) as reinforcement in polymer matrixes has attracted considerable attention in this field since NC based nanocomposites generally exhibit significant improvements in thermal, mechanical, and barrier properties compared to the neat polymer or conventional composites, and additionally it offers environmental benefits. Soy hull is an agro-industrial waste available in large quantities in several countries, including Brazil, which deserves to be better and/or properly used. In this study, NC were extracted and characterized from soy hulls under different conditions of acid hydrolysis in order to evaluate their suitability as a reinforcement agent for the manufacture of nanocomposites. The hydrolysis was performed at 40 °C for 30 or 40 min, using 30 mL of H₂SO₄ 64% for each gram of fiber. The NC of soy hulls (NCC) were labeled NCC₃₀ or NCC₄₀ depending on the hydrolysis time. To evaluate the reinforcement capability of NC obtained were produced nanocomposite films using carboxymethylcellulose (CMC) as polymeric matrix, and evaluated the tensile at break of these films at different load levels. The results showed that a longer extraction time (40 min) resulted in a shorter length of CN and caused some damage on the crystalline structure of cellulose. The NCC₃₀ showed needle-shaped, high crystallinity (73.5%), good thermal stability (initial temperature of thermal degradation around 170 °C), average length of $122,7 \pm 39,4$ nm, diameter of $2,77 \pm 0,67$ nm and aspect ratio around 44. By the tensile strength tests of the composites was observed that the NCC₃₀ have a greater capability than the reinforcing NCC₄₀. The NCC₃₀ are reinforcing agents satisfactory for the CMC, because there was an increase in tensile at break of the polymer of 2,56 times (or 256%). The NCC produced have a great potential for use as reinforcing agents for the production of nanocomposites and are an alternative which could expand the commercial applications of CMC films. Through the production of cellulose nanocrystals of soy hulls in this work was added value to a plant biomass residue that comes from an agro-industrial *commodity*.

Keywords: Cellulose nanocrystals, soy hulls, agro-industrial residue, reinforcing agent, nanocomposites.

1. INTRODUÇÃO

Diante dos problemas envolvidos na reciclagem de plástico e no esgotamento dos recursos fósseis surgiu um grande interesse em materiais sustentáveis e ambientalmente corretos (Bondeson e Oksman, 2007; Morin e Dufresne, 2002; Rouilly e Rigal, 2002). Em resposta a esta situação, nos últimos anos, o desenvolvimento de biopolímeros para aplicações em que os polímeros sintéticos ou cargas minerais são tradicionalmente usados têm sido objeto de várias pesquisas acadêmicas e industriais (Angellier et al., 2004; Angellier et al., 2005; Chen et al., 2008; Dubief et al., 1999; Dufresne, 2008; John e Thomas, 2008; Samir et al., 2005). Neste contexto, a aplicação de nanocristais de celulose (NC) como agente de reforço para matrizes poliméricas tem atraído considerável atenção da comunidade de materiais poliméricos e compósitos, uma vez que os NC oferecem uma combinação única de extraordinárias propriedades físicas e benefícios ambientais (Habibi et al., 2010; Jean et al., 2008; Kalia et al., 2011; Peng et al., 2011; Štuncová et al., 2005). Os nanocompósitos baseados em NC geralmente exibem propriedades térmicas, mecânicas e de barreira (permeação de líquidos e gases) superiores em relação ao polímero puro ou compósitos convencionais (Azeredo et al., 2009; Choi e Simonsen, 2006; Tang e Weder, 2010).

A soja é um dos principais produtos agrícolas em todo o mundo. O óleo e a proteína que constituem o grão de soja são os principais geradores de renda dessa cultura e, conseqüentemente, pouca atenção é dada para a casca do grão de soja. A casca de soja é um subproduto do processo de extração do óleo de soja, pois é necessário remover a película que reveste o grão para a extração de óleo desta oleaginosa. Atualmente, a casca de soja é direcionada para produção de ração animal ou simplesmente descartada (sem o devido aproveitamento). Portanto, a casca de soja é um resíduo agro-industrial que merece aplicações mais nobres do que a simples utilização como fonte de fibra para o gado (Alemdar e Sain, 2008; Flauzino Neto et al., 2013; Ipharraguerre e Clark, 2003).

O Brasil se destaca como o segundo maior produtor de soja, respondendo por 26% da produção mundial (~67,6 milhões de toneladas safra 2009/2010). Segundo estimativas, na safra 2009/2010 cerca de 33,6 milhões de toneladas de soja no país foram destinadas à extração de óleo (http://www.bndes.gov.br/arqs/corredor_bioceanico/Produto%20A%20Parte%20IB.pdf). Considerando que para cada tonelada de grãos de soja processada, cerca de 2 % da massa total corresponde ao subproduto em

questão, estima-se que nesta mesma safra o Brasil produziu aproximadamente 670 mil toneladas de casca de soja (Silva et al., 2004; Zambom et al., 2001).

O uso de resíduos de biomassa vegetal como matéria-prima na produção de novos materiais de alta performance é uma aplicação comercial promissora que pode destravar o potencial da geração de produtos de alto valor agregado a partir de *commodities* agro-industriais (Alemdar e Sain, 2008; Purkait et al 2011; Teixeira et al., 2009). A utilização de biomassa residual é uma opção viável para a redução da dependência de produtos petroquímicos no Brasil. Devido ao seu baixo custo, abundância e pronta disponibilidade, estes resíduos podem ser mais bem aproveitados, reduzindo os custos de produção e o descarte no meio ambiente. Para tanto, novas tecnologias devem ser desenvolvidas com a finalidade de transformar resíduos em novos produtos. Considerando isso, fica claro que a fabricação de novos materiais de alta performance a partir de resíduos de biomassa vegetal (por exemplo: casca de soja) pode proporcionar benefícios tecnológicos, econômicos e ambientais ao país.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Constituição das Fibras vegetais

As fibras vegetais são exemplos de sistemas complexos desenvolvidos pela natureza. Seja por suas funções no universo biológico ou pelas aplicações industriais, as fibras vegetais são um dos materiais biodegradáveis de uso como agente de reforço de maior importância nos dias de hoje. Devido à estrutura única as fibras vegetais têm sido consideradas como compósitos de ocorrência natural, neste as fibrilas de celulose são mantidas coesas por uma matriz constituída de lignina e hemicelulose. Enquanto a matriz (lignina e hemicelulose) age como barreira natural à degradação microbiana e serve como proteção mecânica, as fibrilas de celulose tem como função promover resistência e estabilidade estrutural à parede celular das fibras (John e Thomas, 2008; Silva et al., 2009).

Os principais componentes das fibras vegetais são celulose, hemiceluloses (ou polioses) e lignina. Além destes componentes são encontrados nas fibras compostos inorgânicos e moléculas extraíveis com solventes orgânicos, como pectinas, carboidratos simples, terpenos, alcalóides, saponinas, polifenólicos, gomas, resinas, gorduras e graxas, entre outros (Silva et al., 2009). Portanto, considera-se que os materiais lignocelulósicos são constituídos basicamente de celulose, polioses, lignina, extrativos e substâncias minerais (cinzas), figura 1. A proporção destes constituintes depende do tempo de maturação, origem botânica e das condições utilizadas para se obter a fibra (Moreira, 2010).

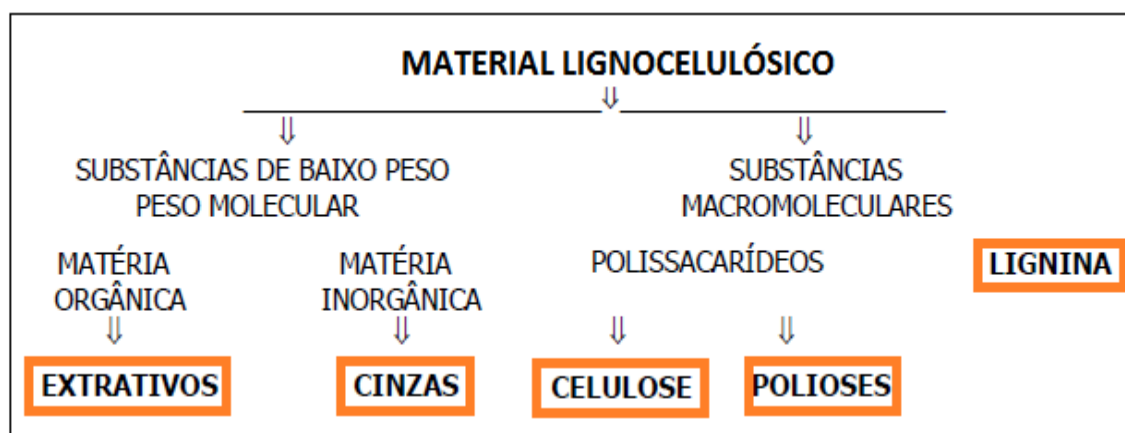


Figura 1. Esquema da constituição básica dos materiais lignocelulósicos.

2.2. Celulose

A celulose é o polímero natural mais abundante na natureza, sendo sintetizada a uma taxa anual de mais de 50 bilhões de toneladas (Silva et al., 2009). É o componente predominante em quase todas as fibras vegetais e consiste em um polímero formado por várias unidades de β -D-glucose ligadas entre si por ligações β -1,4-glicosídicas, gerando cadeias altamente lineares e com alta massa molar sendo o grau de polimerização (GP) de até 15000. A designação *D* vem de dextrógiro (substância que tem a propriedade de desviar o plano de polarização da luz para a direita) e refere-se ao posicionamento do grupo hidroxila à direita do átomo de carbono assimétrico C2, figura 2.

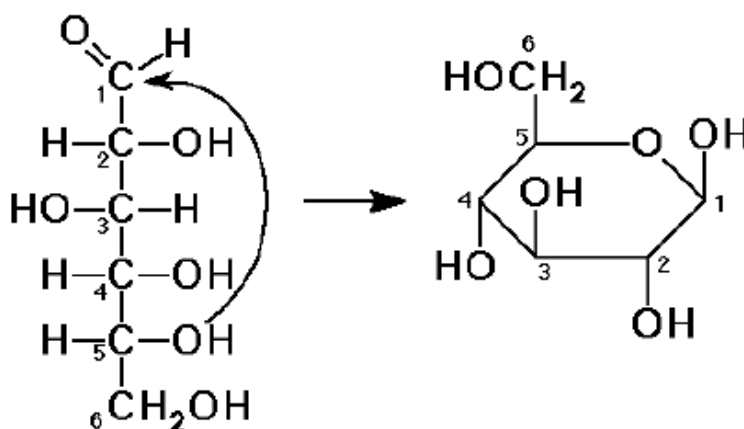


Figura 2. Estrutura da *D*-Glucose.

A ligação β resulta na rotação de 180° do plano das unidades alternadas da glucose, essa ligação glicosídica é do tipo 1,4 (pois envolve os carbonos 1 e 4). Duas unidades de anéis glicosídicos invertidos entre si, com um ângulo de 180° em relação a um mesmo plano, formam uma unidade de celulose denominada celobiose, figura 3 (Klem et al., 2005).

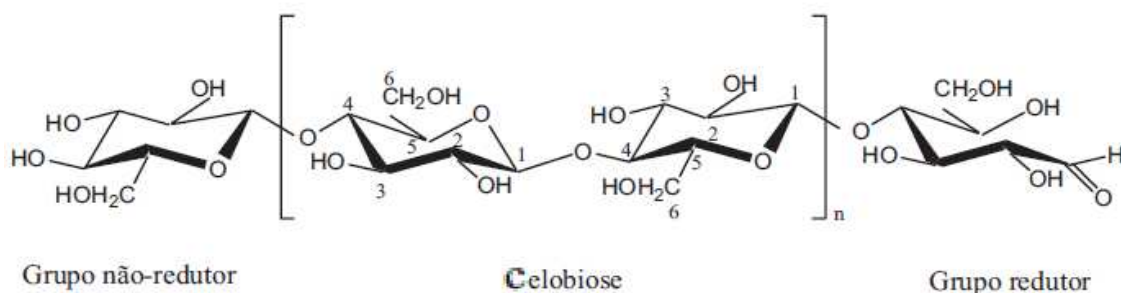


Figura 3. Estrutura molecular do polímero natural celulose e da sua unidade monomérica celobiose.

A *D*-glucopiranosose adota a conformação de cadeia ${}^4C_1$, que é a conformação de menor energia livre da molécula. Como consequência, os átomos de hidrogênio estão posicionados perpendicularmente ao plano formado pelos quatro átomos de carbono centrais (posição axial), enquanto os grupos hidroxila são posicionados na posição equatorial. Cada unidade de glucose contém três grupos hidroxilas livres, ligados aos carbonos 2, 3 e 6, respectivamente. Devido à disponibilidade destes grupos hidroxilas, a celulose tende a formar ligações de hidrogênio que são extremamente importantes para suas características químicas e físicas. Essas ligações podem ser de dois tipos: intramoleculares e intermoleculares. As ligações intramoleculares ocorrem entre os grupos hidroxila de uma mesma cadeia e são estas ligações que conferem rigidez à mesma. Já as ligações intermoleculares ocorrem entre grupos hidroxila de cadeias adjacentes e são responsáveis pela formação da estrutura supramolecular. Logo, a celulose é um polímero altamente hidrofílico, sem, contudo ser solúvel em água e apresenta estrutura semicristalina (de Almeida, 2009; de Mesquita, 2012; D'almeida, 1988; Fengel e Wegener, 1989; Klem et al., 2005).

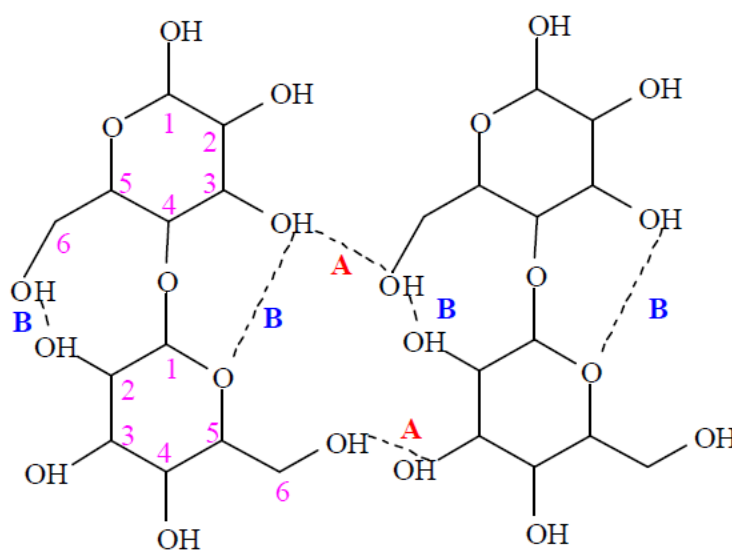


Figura 4. Representação das ligações de hidrogênio na estrutura cristalina da celulose. A) ligações de hidrogênio intermoleculares e B) ligações de hidrogênio intramoleculares.

2.3. Lignina

A lignina é uma das substâncias mais complexas dentre os materiais de alta massa molar que ocorrem na natureza, sendo formada pela polimerização desidrogenativa de unidades fenilpropânicas derivadas de três alcoóis: cumarílico (I),

coniferílico (II) e sinapílico (III), apresentados na figura 5. O processo de biossíntese da lignina leva a um crescimento aleatório de uma macromolécula, gerando uma estrutura amorfa, altamente ramificada e com diferentes tipos de ligações entre as unidades monoméricas, principalmente do tipo éter e carbono-carbono. Além de ligações carbono-carbono, a lignina possui diversos grupos funcionais em sua estrutura molecular, tais como ligações duplas, carbonilas, carboxílicos e metoxílicos. Estes grupamentos atuam, juntamente, como um complexo policromóforico que absorve comprimentos de onda desde o ultravioleta até o visível conferindo tonalidades de cor escuras às fibras vegetais (D'almeida, 1988; Fengel e Wegener, 1989; Moreira, 2010; Pasquini, 2004).

A lignina pode ser classificada como um polifenol, o qual é constituído por um arranjo irregular de várias unidades de fenilpropano que pode conter grupos hidroxila e metoxila como substituintes no grupo fenil. Existe uma grande dificuldade na elucidação química da estrutura da lignina devido ao fato de não haver um método bem estabelecido para isolar a lignina em sua forma nativa (Silva et al., 2009). A figura 6 mostra uma possível representação para a lignina.

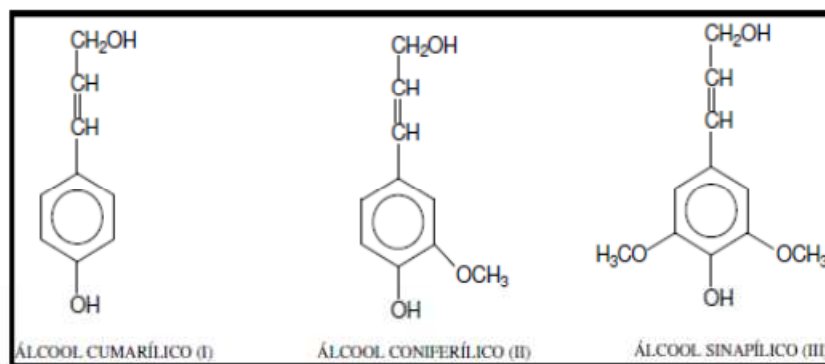


Figura 5. Estruturas esquemáticas dos alcoóis precursores da lignina. Cumarílico (I), coniferílico (II) e sinapílico (III).

A lignina confere rigidez à parede celular das fibras, atua como um cimento entre as fibrilas e como um agente enrijecedor no interior das fibras, gerando uma estrutura resistente ao impacto, compressão e dobra, além de causar um decréscimo na permeação de água através das paredes das fibras vegetais (material hidrofóbico) (Moreira, 2010).

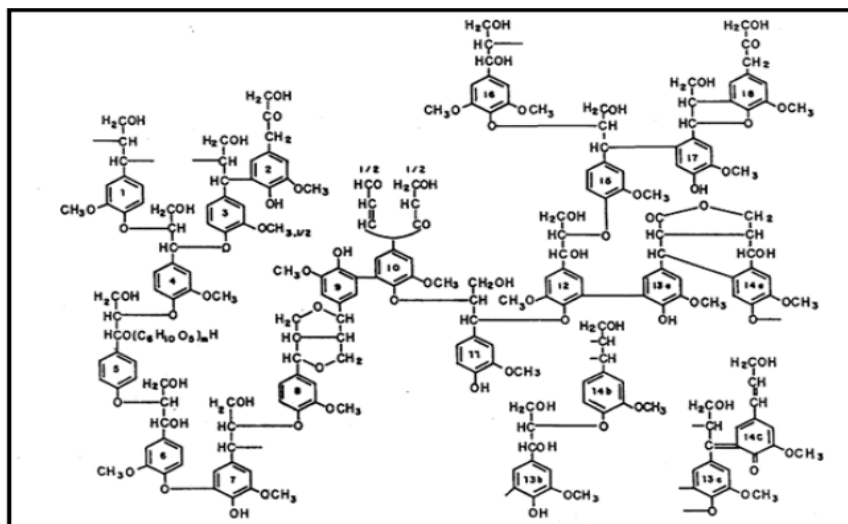


Figura 6. Ilustração de uma possível estrutura da lignina (Moreira, 2010).

2.4. Hemiceluloses

As hemiceluloses consistem de vários monossacarídeos polimerizados, incluindo carboidratos de cinco carbonos (como xilose e arabinose), carboidratos de seis carbonos (como galactose, glucose e manose), ácido 4-O-metil glucurônico e resíduos de ácido galactorônico. As hemiceluloses são bastante hidrofílicas, apresentam cadeias ramificadas, GP (na faixa de 100 a 200) bastante inferior ao da celulose e são essencialmente amorfas. As unidades de açúcares que compõem as hemiceluloses podem ser observadas na figura 7.

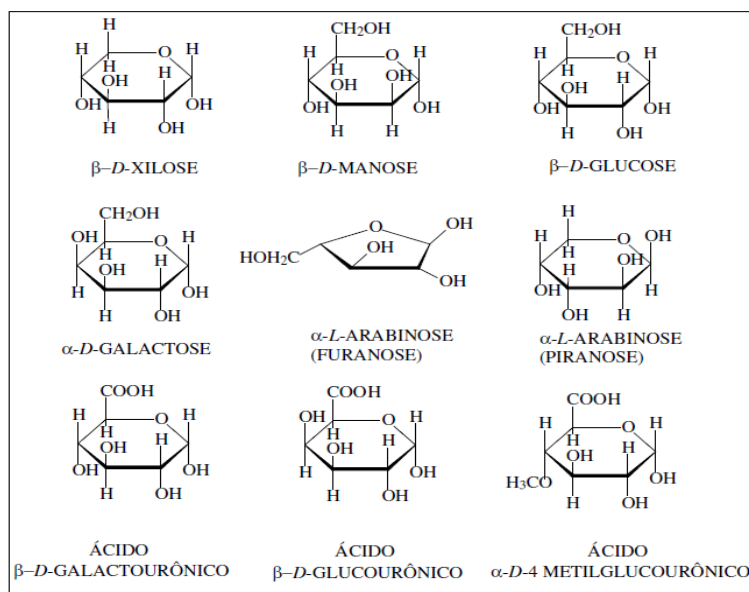


Figura 7. Estrutura molecular dos monômeros comumente encontrados na hemicelulose.

As hemiceluloses exercem importantes funções na regulação do crescimento das estruturas vegetais, atuam como ligantes entre celulose e lignina, mas tem pouca contribuição sobre a resistência mecânica das fibras. Devido a baixa massa molar e a estrutura amorfa as hemiceluloses são mais facilmente hidrolisáveis em relação a celulose, desta forma, a grande importância das hemiceluloses reside em vários processos industriais como a produção de açúcares fermentáveis e combustíveis como o etanol (Moreira, 2010; Pasquini, 2004).

2.5. Organização Hierárquica das Fibras Vegetais

As características particulares do polímero de celulose levam à formação da fibra vegetal. As fibras vegetais que constituem a biomassa estão organizadas em camadas primária e secundária que são majoritariamente constituídas de hemicelulose, lignina e celulose. A camada secundária é subdividida em camadas S1, S2 e S3 (Figura 8). A camada S2 é a mais espessa, responsável pela resistência mecânica da fibra, pois é basicamente constituída de celulose (~90%) na forma de micro/macrofibrilas.

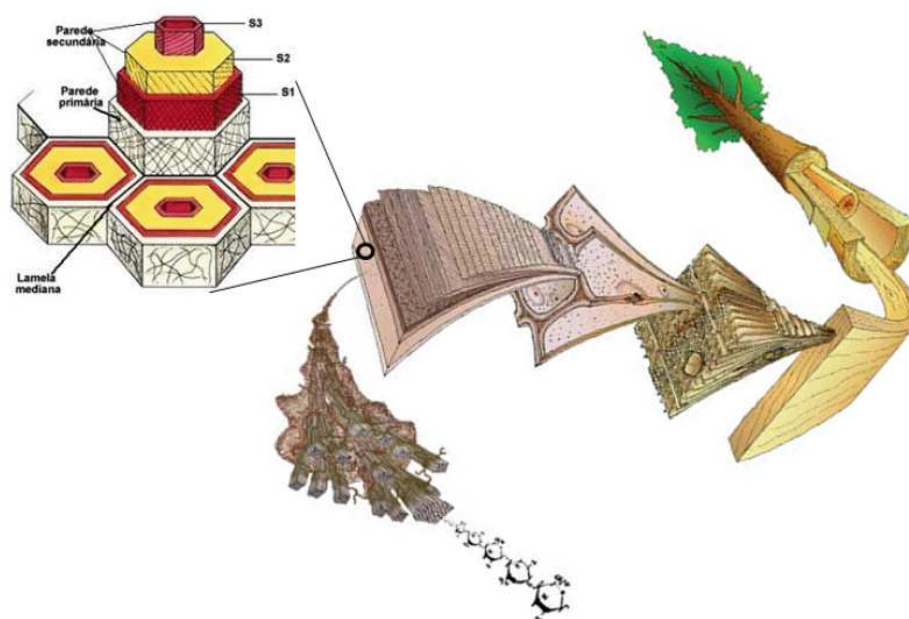


Figura 8. Estrutura hierárquica de um tecido vegetal (de Mesquita).

Na natureza, a celulose não ocorre como uma molécula isolada individual, e sim principalmente na forma de fibras. Isso ocorre porque a biossíntese é orquestrada por complexos específicos terminais (CTs) ligados à membrana plasmática. Para árvores e plantas os CTs são organizados em rosetas de seis membros com cada subunidade

polimerizando 6 cadeias de celulose e o complexo todo 36 cadeias (Figura 9a). Essas cadeias são dispostas lado a lado e serão posteriormente organizadas em estruturas nanométricas chamadas de fibrilas elementares (Figura 9b). As fibrilas elementares têm cerca de 3-4 nm de diâmetro e se combinam para formar estruturas mais espessas, as microfibrilas que contém regiões amorfas e cristalinas (Figuras 9c e 9d) (de Mesquita, 2012; Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008; Moon et al., 2011). Segundo o modelo estrutural proposto por Battista e Smith (Battista e Smith, 1962), cada microfibrila de celulose pode ser considerada como uma corrente que contém uma sequência de unidades de celulose (cristalitos), ligadas por domínios amorfos ou defeitos estruturais (Figura 9c e 9d).

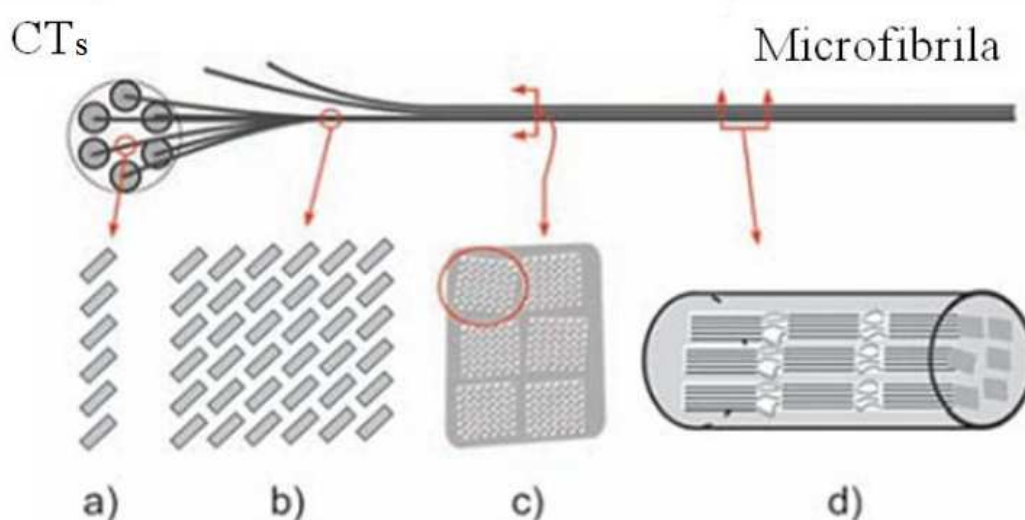


Figura 9. Representação esquemática dos níveis que precedem a formação de uma microfibrila presentes em plantas superiores. (a) seção transversal da estrutura formada pelas 6 cadeias de celulose na subunidade dos complexos específicos terminais. Cada retângulo cinza representa uma cadeia de celulose. (b) seção transversal das fibrilas elementares; (c) seção transversal das microfibrilas de celulose composta de 6 fibrilas elementares; (d) seção lateral das microfibrilas mostrando a configuração em série de regiões cristalinas e amorfas (Moon et al., 2011).

As cadeias de celulose presentes em uma microfibrila são estabilizadas tanto por forças de Van der Waals quanto por pontes de hidrogênio intra e intermoleculares, o que possibilita a formação das macrofibrilas (estruturas maiores formadas por microfibrilas), como mostrado na Figura 10. Portanto, as microfibrilas que compõem as fibras, resultantes do arranjo das moléculas de celulose, são constituídas de regiões cristalinas, altamente ordenadas, e amorfas, desordenadas. As regiões cristalinas resultam da ação combinada da biopolimerização e cristalização da celulose comandada por processos

enzimáticos. As regiões amorfas são resultados da má formação da estrutura devido à alteração no processo de cristalização. Essas são denominadas, por alguns autores, de regiões em que a cristalização ocorreu com defeito (de Mesquita, 2012; Moon et al., 2011).

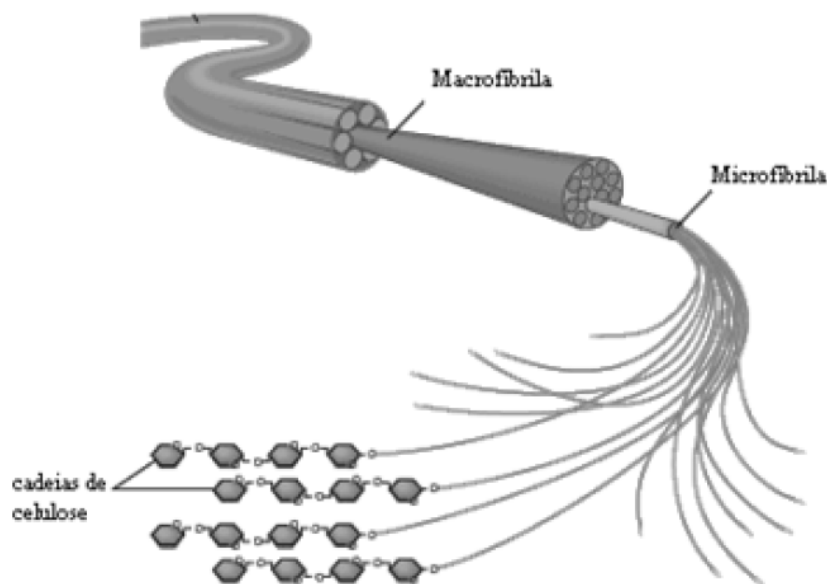


Figura 10. Estrutura hierárquica da constituição de uma macrofibrila (de Mesquita, 2012).

2.6. Polimorfos da Celulose

Nas regiões cristalinas existe um arranjo geométrico que se repete nos eixos principais da estrutura cristalina (eixos cristalográficos) para formar o volume total do cristal. Em cristalografia, a esse arranjo geométrico dá-se o nome de cela unitária. A cela unitária tem dimensões bem definidas. No caso da celulose existem mais de uma forma polimórfica, ou seja, não há uma dimensão única para a cela unitária. Seis polimorfos de celulose, I (celulose nativa), II, III_I, III_{II}, IV_I, e IV_{II}, foram identificados.

Estudos de ressonância magnética nuclear de carbono 13 em estado sólido mostraram que as celulosas nativas apresentam duas formas cristalinas distintas, I α e I β . O alomorfo I α possui uma estrutura cristalina triclínica (parâmetros de cela: $a = 6,717 \text{ \AA}$, $b = 5,962 \text{ \AA}$, $c = 10,400 \text{ \AA}$, $\alpha = 118.08^\circ$, $\beta = 114.80^\circ$ e $\gamma = 80.37^\circ$) contendo somente uma cadeia por cela unitária (Figura 11a), sendo a estrutura dominante em celulose proveniente de algas e bactérias. Já a forma I β , possui estrutura cristalina monoclínica (parâmetros de cela: $a = 7,784 \text{ \AA}$, $b = 8,201 \text{ \AA}$, $c = 10,38 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ e $\gamma = 96.5^\circ$) com duas cadeias de celulose por cela unitária (Figura 11b). Esta estrutura é dominante

em plantas superiores (alomorfo $I\beta$ é o termodinamicamente mais estável). De fato as duas estruturas coexistem em proporções que variam com a fonte (Silva e D'Almeida, 2009; de Mesquita, 2012; Moon et al., 2011).

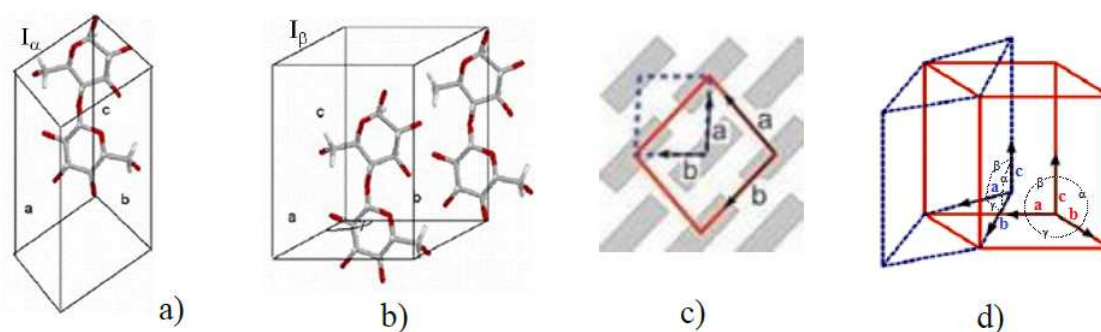


Figura 11. Estruturas cristalinas das celulosas nativas. A celulose $I\alpha$ apresenta uma estrutura cristalina triclínica (a) enquanto a celulose $I\beta$ monoclínica (b). (c) Representação esquemática das celas unitárias. Em (d) é mostrada a orientação relativa das celas unitárias das estruturas $I\alpha$ (linha seccionada) e $I\beta$ (linha sólida). Figura adaptada (Moon et al., 2011).

Dependendo da fonte precursora, as celulosas nativas poderão apresentar diferentes graus de cristalinidade, e proporções dos polimorfos $I\alpha$ e $I\beta$. Na Tabela 1 algumas características de celulosas de diferentes fontes são mostradas (Silva e D'Almeida, 2009; de Mesquita, 2012).

Tabela 1. Variação do grau de cristalinidade (X_c), e dimensão lateral (d) das microfibrilas de diferentes fontes de celulose nativa. Tabela adaptada (de Mesquita, 2012).

Fonte da celulose	X_c (%)	d (nm)	I_β (%)
Celulose de algas	>80	10-35	36-42
Celulose bacteriana	65-79	4-7	3-27
Algodão	56-65	7-9	--
Rami	44-47	3-12	--

Das outras formas possíveis, a celulose II é que possui a estrutura mais estável, sendo também a de maior relevância técnica, pois é utilizada para preparar materiais como celofane, rayon e tencel (de Mesquita, 2012). Ela pode ser obtida a partir da

celulose I por tratamento com hidróxido de sódio aquoso (mercerização) ou por dissolução da celulose e posterior precipitação/regeneração (O'Sullivan, 1997).

2.7. Estrutura da Celulose do Tipo II

A celulose II possui orientação antiparalela entre as moléculas (figura 12), e um sistema onde as ligações de hidrogênio estão modificadas (figura 13).

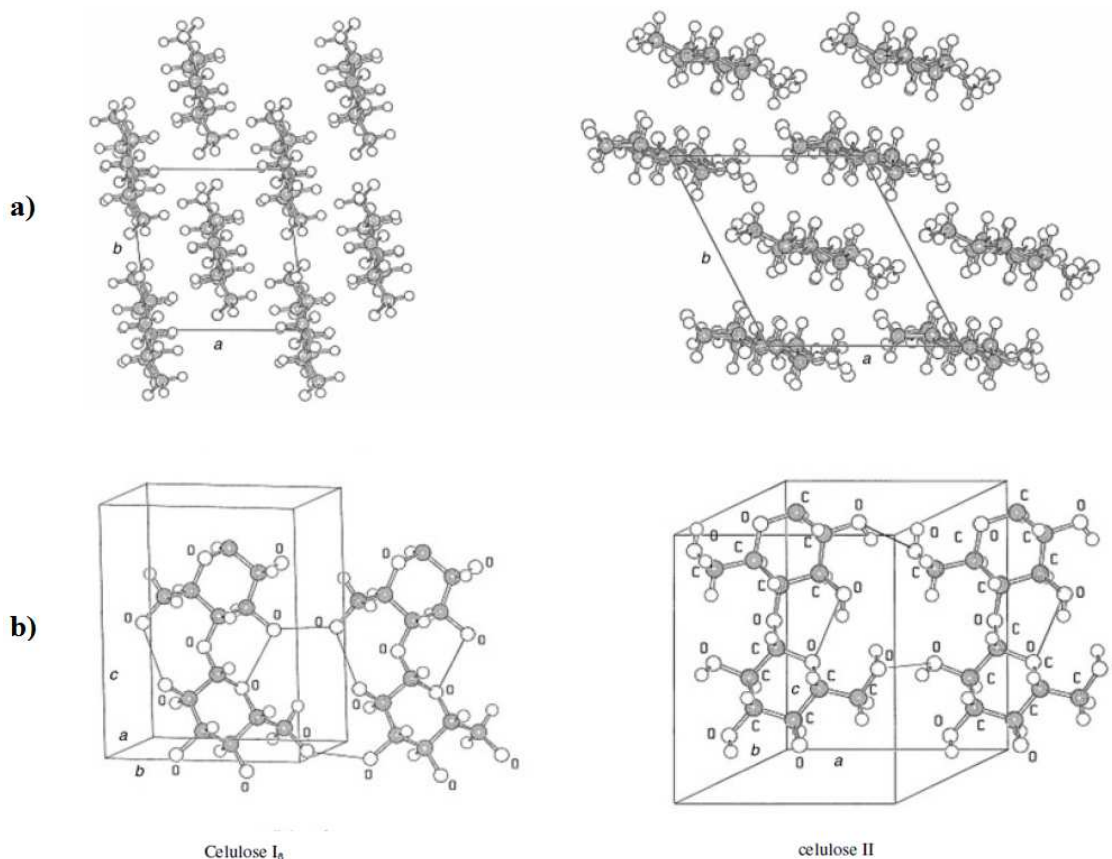


Figura 12. Estrutura cristalina da celulose I β e II (a) projeção da cela unitária dos cristais ao longo do plano a – b; (b) projeção da cela unitária paralela ao plano 100 (celulose I β) e ao plano 010 (celulose II) (Klem et al., 2005).

Ambas as estruturas observadas na figura 13 apresentam ligações de hidrogênio intra-cadeias dominantes na posição O3-H....O5. Estas ligações de hidrogênio dão à celulose a rigidez e linearidade da cadeia. A grande diferença entre a celulose I e II surge em relação às ligações de hidrogênio inter-cadeias. Na figura 13 observa-se que a celulose I apresenta predominantemente as ligações de hidrogênio em relação à posição O6-H....O3 e na celulose II o conjunto dominante se refere a posição O6-H....O2. Este fato tem influência direta na estrutura do retículo cristalino como pode ser observado na

figura 12 (de Souza, 2009).

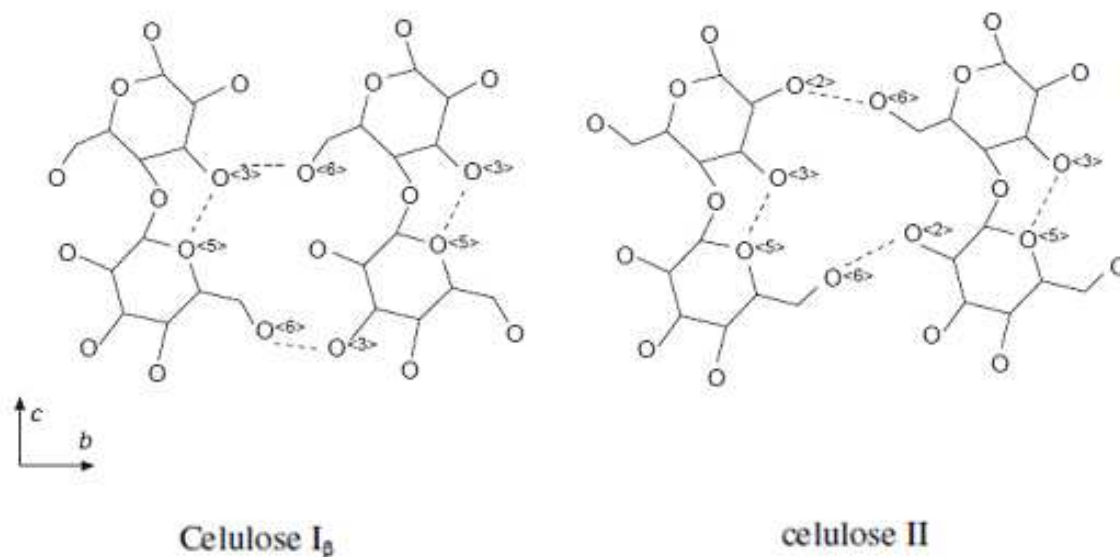


Figura 13. Distinção entre celulose I_β e II a partir do padrão de ligações de hidrogênio (O’Sullivan, 1997).

2.8. Nanocristais de Celulose

Os nanocristais de celulose são partículas de celulose aciculares (aspecto físico de agulha) de alta cristalinidade (monocristais quase sem defeitos) e com, pelo menos, uma dimensão menor ou igual a 100 nm (Flauzino Neto et al., 2013). Na literatura, existem termos diferentes para denominar essas nanopartículas, por exemplo, nanowhiskers de celulose, whiskers de celulose, cristalitos de celulose, cristais de celulose, nanocristais de celulose, celulose nanocristalina, monocristais de celulose e microcristais de celulose (Lima e Borsali, 2004; Peng et al., 2011; Samir et al., 2005; Shi et al., 2011; Silva e D’Almeida, 2009). A figura 14 mostra algumas imagens de microscopia de transmissão eletrônica dessas nanopartículas.

As principais características que estimulam a utilização dos NC enquanto agentes de reforço em matrizes poliméricas são: a enorme área superficial específica (estimada em várias centenas de $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), o grande módulo de elasticidade (cerca de 150 GPa), a alta razão de aspecto (comprimento/diâmetro) e a eminente capacidade de reforço à baixos níveis de carga (Dufresne, 2003; Šturcová et al., 2005). Outras vantagens atraentes dos NC são: baixa densidade (cerca de $1,566 \text{ g/cm}^3$), natureza não abrasiva (menor desgaste dos equipamentos envolvidos em seu processamento), caráter não-tóxico, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Além disso, os NC provém de

fontes naturais renováveis que são muito abundantes, portanto de baixo custo, não é necessário sintetizá-los, suas dimensões nanométricas permitem a produção de filmes compósitos com excelente transmitância de luz visível e são facilmente modificados quimicamente (a sua estrutura molecular tem uma superfície reativa de grupos hidroxila laterais, que facilitam a enxertia de espécies químicas para atingir propriedades de superfície diferentes) (Flauzino Neto et al., 2013; Lahiji et al., 2010; Li et al., 2009; Liu et al., 2010; Moon et al., 2011; Peng et al., 2011; Samir et al., 2005). Como desvantagens, podem ser citadas a baixa temperatura de processamento ($\sim 200^\circ\text{C}$) e a falta de uniformidade de suas propriedades, dependendo da origem e sazonalidade.

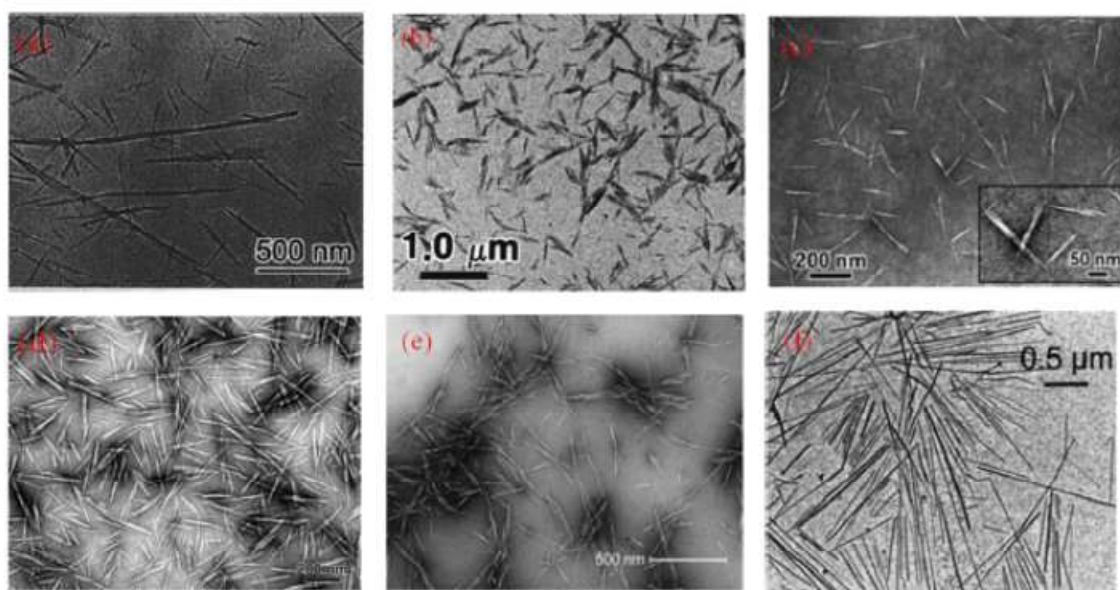


Figura 14. Imagens de microscopia de transmissão eletrônica obtidas para NC preparados a partir de diferentes fontes de celulose: (a) bacteriana (Araki e Kuga, 2001), (b) algodão (Heux et al., 2000), (c) Celulose microcristalina (Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008), (d) Rami (Habibi, et al., 2008), (e) sisal (Siqueira et al., 2009), (f) Tunicata (Angles e Dufresne, 2000).

A estrutura e as propriedades, em especial as dimensões geométricas dos NC (comprimento e diâmetro), dependem principalmente de dois fatores: (i) da biossíntese das microfibrilas de celulose, a qual é dependente da fonte de material celulósico, e (ii) do processo de extração dos NC a partir das microfibrilas de celulose, que inclui todos os pré-tratamentos, desintegração ou processos de desconstrução (Moon et al., 2011; Peng et al., 2011; Samir et al., 2005).

Vários métodos para a preparação de NC têm sido desenvolvidos nos últimos anos. Estes métodos incluem hidrólise assistida por ultrasom (Filson e Dawson-Andoh,

2009; Li et al., 2011), hidrólise ácida (Bondeson et al., 2006; Habibi et al., 2006), hidrólise enzimática (George et al., 2011; Hayashi et al., 2005; Satyamurthy et al., 2011), dissolução em N,N-dimetilacetamida/cloreto de lítio (Oksman et al., 2006) e dissolução em líquidos iônicos (Man et al., 2011). Dentre esses métodos, a hidrólise ácida é o mais bem conhecido e amplamente utilizado (Bondeson et al., 2006; Peng et al., 2011). Este processo consegue separar os domínios cristalinos da celulose da parte amorfa, permitindo a obtenção de cristais singulares e bem definidos. Este procedimento está baseado na cinética de hidrólise mais rápida apresentada pelas regiões amorfas da celulose em comparação com os domínios cristalinos, como exemplificado na figura 15 (Habibi et al., 2010; Peng et al., 2011; Silva e D'Almeida, 2009; Teixeira et al., 2011).

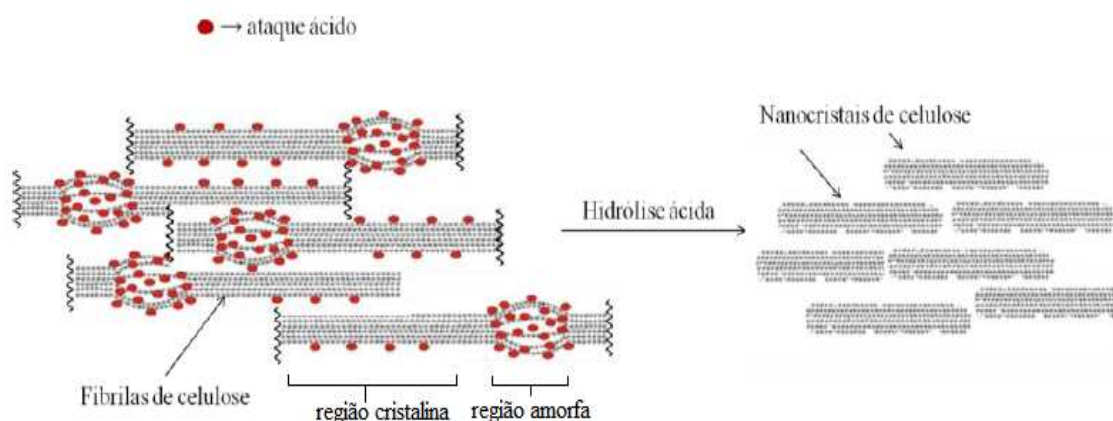


Figura 15. Esquema mostrando que as regiões amorfas das fibrilas de celulose são cineticamente mais favoráveis a hidrólise ácida (de Mesquita, 2012).

No que diz respeito a extração por hidrólise ácida, a temperatura, o tempo de reação, o tipo do ácido, a concentração de ácido e a proporção de ácido/celulose são parâmetros importantes, pois afetam a morfologia e propriedades dos NC (Habibi et al., 2010; Peng et al., 2011; Silva e D'Almeida, 2009; Teixeira et al., 2011).

A razão de aspecto (L/D) dos NC é um parâmetro crucial que tem uma influência notável sobre a capacidade de reforço da nanopartícula quando incorporada em uma matriz polimérica. Portanto, as condições de hidrólise ácida devem ser cuidadosamente estudadas e controladas de modo a obter um material com a morfologia desejada (Eichhorn et al., 2010; Martínez-Sanz et al., 2011).

Sabe-se que a morfologia e propriedades dos NC influenciam o seu desempenho como agente de reforço, também é conhecido que a morfologia e as propriedades dos

NC dependem da fonte original de celulose. Portanto, o desempenho dos NC como partículas de reforço depende da fonte original de celulose. Assim, o desenvolvimento de NC a partir de diferentes fontes de celulose é relevante (Flauzino Neto et al., 2013).

Várias fontes de celulose têm sido utilizadas por pesquisadores para gerar NC, mas o uso de resíduos agro-industriais como matéria-prima é muito raro (Purkait et al., 2011). Embora não haja ainda nenhum trabalho publicado sobre a extração de NC a partir de casca de soja, na literatura podem ser encontrados trabalhos de extração de nanofibras de celulose a partir da casca de soja e da vagem de soja (outro resíduo gerado a partir da atividade de cultivo de soja) (Alemdar e Sain, 2008; Wang e Sain, 2007).

2.9. Carboximetilcelulose

A carboximetilcelulose (CMC) é um polímero aniônico derivado da celulose em que normalmente é comercializada na forma sódica (sal de sódio), ou seja, como carboximetilcelulose de sódio. A CMC pode ser obtida por meio da reação de celulose mercerizada com o monocloroacetato. No processo, a celulose mercerizada interage com o monocloroacetato de sódio em uma reação de substituição para produzir a carboximetilcelulose (da Cruz, 2011).



Figura 16. Representação da equação química da produção da carboximetilcelulose (da Cruz, 2011).

A CMC é um biopolímero amplamente utilizado em várias indústrias: farmacêutica, alimentícia, agrícola, construção civil, tintas, cerâmicas, detergentes, adesivos e cosméticos. De acordo com suas propriedades físico-químicas, a CMC é empregada como agente espessante, doador de viscosidade, estabilizante de fluidos, emulsificante, agente tixotrópico, engomante, agente adesivo, agente de suspensão, entre outras. Este biopolímero possui excelentes propriedades de formação de filme e não causa nenhum efeito toxicológico no corpo humano. Filmes feitos deste material têm baixa permeabilidade a oxigênio, são transparentes, possuem uma boa estabilidade química, não representam uma ameaça ao meio ambiente e também são rentáveis. No

entanto, as limitações destas películas incluem: fracas propriedades termo-mecânicas e natureza fortemente hidrofílica, a qual empobrece as propriedades de barreira (Flauzino Neto et al., No prelo).

Considerando as limitações de filmes feitos de CMC, o efeito dos NC (enquanto nano-enchimentos) sobre as propriedades de filmes baseados em CMC é de interesse para o desenvolvimento de aplicações novas ou melhoradas para este polímero em áreas como embalagens e/ou revestimentos para alimentos (Flauzino Neto et al., No prelo).

3. OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho foram:

- avaliar a casca de soja enquanto matéria-prima para a produção de NC;
- extrair e caracterizar NC a partir da casca de soja sob diferentes condições de hidrólise ácida (utilizando ácido sulfúrico) de forma a obter um material com um índice de cristalinidade elevado, alta estabilidade térmica e morfologia adequada para ser empregado como agente de reforço na fabricação de nanocompósitos;
- avaliar a capacidade de reforço dos NC produzidos através da produção de nanocompósitos utilizando carboximetilcelulose como matriz polimérica;
- comparar as características dos NC produzidos a partir da casca de soja com outros reportados pela literatura;
- avaliar as potencialidades das diferentes técnicas de caracterização morfológica dos NC.

4. PARTE EXPERIMENTAL

No presente trabalho, diferentes técnicas foram empregadas para caracterizar as fibras, os nanocristais de celulose e os compósitos produzidos. Em relação as fibras e aos nanocristais as características investigadas foram a composição química, índice de cristalinidade, estabilidade térmica, carga de superfície e morfologia (forma e tamanho). Já para os compósitos foram realizados ensaios de tração.

4.1. Materiais

Ácido sulfúrico (95.0 – 98.0 % Vetec, P.A.), hidróxido de sódio (Vetec), hidróxido de potássio (Vetec), clorito de sódio (NaClO_2 80%, Sigma-Aldrich), ácido acético glacial (Synth), membrana de celulose (D9402, Sigma-Aldrich), carboximetilcelulose de sódio de grau alimentício (MM 70.000 - 90.000 e GS 0,8 Denvercel). A Casca de soja foi gentilmente cedida pela empresa Algar Agro SA (Uberlândia - MG).

4.2. Purificação

A casca de soja foi utilizada como recebida. Inicialmente, a casca de soja bruta (CB) foi tratada com uma solução aquosa de hidróxido de sódio a 2% (m/m) durante 4 horas a 100 °C sob agitação mecânica. Em seguida, o material foi filtrado, lavado com água da torneira até que o pH do eluído fosse aproximadamente 7 e posteriormente seco a 50 °C durante 12 horas em uma estufa com circulação de ar. Após este tratamento, as fibras foram branqueadas com uma solução composta de partes iguais (v:v) de tampão acetato (27 g de NaOH e 75 ml de ácido acético glacial, diluídos a 1 L de água destilada) e clorito de sódio aquoso (NaClO_2 em água a 1,7% m/m). O branqueamento foi realizado a 80 °C durante 4 horas. As fibras branqueadas foram filtradas, lavadas com água da torneira até que o pH do eluído fosse aproximadamente 7 e posteriormente secas a 50 °C durante 12 horas em uma estufa com circulação de ar. O teor de fibra ao longo destes tratamentos químicos foi de cerca de 4-6% (m/m). O material resultante do processo de purificação foi denominado de casca de soja tratada (CT). Estes procedimentos de deslignificação e branqueamento, também tem sido usados e/ou adaptados por outros pesquisadores (de Rodriguez et al., 2006; Siqueira et al., 2010a).

4.3. Composição Química

A seguir estão descritos os procedimentos para determinação da composição química (umidade, lignina Klason insolúvel, lignina Klason solúvel, α -celulose, hemicelulose e cinzas) da casca de soja antes (CB) e após o tratamento químico (CT). Todas as determinações foram realizadas com pelo menos três repetições para cada amostra.

4.3.1. Teor de Umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método da estufa de acordo com a norma TAPPI T264 OM-88 modificada. Uma massa de aproximadamente $2 \pm 0,01$ g de amostra foi colocada em cadinho previamente seco e tarado. Este conjunto foi condicionado em estufa a 105 ± 3 °C por 2 horas, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado. Logo em seguida, o conjunto foi colocado na estufa por mais 1 hora a 105 ± 3 °C e foram repetidos os procedimentos de arrefecimento e pesagem até se atingir massa constante (quando as pesagens sucessivas não diferiram por mais de 0,002 g). Assim o teor de umidade foi calculado como a diferença percentual entre a massa de amostra inicial e a massa de amostra depois do processo de secagem.

4.3.2. Teor de Cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada de acordo com norma TAPPI T211 OM-93 modificada. Em um cadinho de porcelana previamente seco e tarado, foi colocada uma massa de aproximadamente 1 g de amostra e o conjunto foi condicionado a temperatura de 800°C em mufla por 2 h. Em seguida o sistema (cadinho + amostra calcinada) foi resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado. O conteúdo de cinzas foi determinado considerando a percentagem de massa do resíduo (amostra após a calcinação) com relação a massa inicial de amostra seca.

4.3.3. Teor de Lignina Klason Insolúvel

A determinação do teor de lignina Klason insolúvel foi realizada seguindo a norma TAPPI T13M-54 modificada. Uma massa de aproximadamente $1 \pm 0,01$ g de amostra seca foi colocada em almofariz com 15,0 mL de solução de ácido sulfúrico 72% (m/m) ($d = 1,6389 \text{ g.mL}^{-1}$), macerada exaustivamente e deixada em repouso por 2 horas a temperatura ambiente (contadas a partir da adição de ácido a amostra). Após

esse tempo, a mistura foi transferida para um balão redondo de 1 L, diluída com água destilada para a concentração de ácido sulfúrico de 3% (m/m) (adição de água até que a solução tenha um volume total de 575 mL) e aquecida em refluxo por 4 h. Em seguida, filtrou-se a lignina insolúvel em funil de vidro sinterizado nº4, previamente seco e tarado. Coletou-se o filtrado para análise posterior de lignina Klason solúvel. O funil com a lignina insolúvel foi seco em estufa a 105 ± 3 °C por 12 horas, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado (em uma balança com precisão de 0,0001g). O conteúdo de lignina insolúvel foi calculado como a percentagem da massa de lignina insolúvel em relação a massa inicial de amostra seca.

4.3.4. Teor de Lignina Klason Solúvel

A quantidade de lignina solubilizada em meio ácido foi quantificada por meio da espectroscopia na região do ultravioleta de acordo com a norma TAPPI T13M-54 modificada. As soluções para as análises foram preparadas tomando o filtrado da etapa anterior e diluindo-o com água até a concentração final de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido sulfúrico. Uma solução de referência de concentração de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ foi preparada, a partir do ácido sulfúrico 72%. Foram feitas medidas de absorbância do filtrado nos comprimentos de onda de 215 e 280 nm. A concentração (g.L^{-1}) de lignina Klason solúvel foi calculada pela equação 1:

$$C (\text{g/L}) = [(4,53 A_{215}) - A_{280}] 300 \quad \text{eq. (1)}$$

Em que:

- $C (\text{g.L}^{-1})$ = concentração de lignina Klason solúvel em meio ácido.
- A_{215} = valor da absorbância a 215 nm.
- A_{280} = valor da absorbância a 280 nm.

A equação (1) aplica os mesmos princípios da lei de Lambert-Beer. Os dois valores de absorbância refletem a necessidade de se fazer uma correção para os compostos de furfural gerados durante a hidrólise, que interferem na medição da lignina solúvel. A absorbância em 280 nm é, na verdade, uma correção para os compostos de furfural enquanto que a absorbância em 215 nm é uma medida da concentração de lignina solúvel. Portanto, a equação (1) é resultante da resolução simultânea de duas equações:

$$A_{280} = 0,68 C_D + 18 C_L \quad \text{eq. (2)}$$

$$A_{215} = 0,15 C_D + 70 C_L \quad \text{eq. (3)}$$

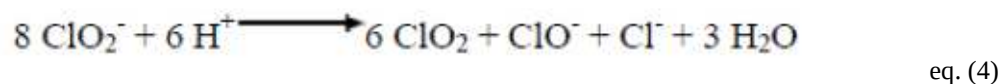
Onde:

- A_{280} = valor da absorvância a 280 nm.
- A_{215} = valor da absorvância a 215 nm.
- C_D = concentração dos carboidratos (g.L^{-1})
- C_L = concentração da lignina solúvel (g.L^{-1})

Os valores 0,68 e 0,15 são as absorvâncias molares dos produtos de degradação dos carboidratos em 280 e 215 nm, respectivamente, e os valores 18 e 70 são absorvâncias molares da lignina solúvel em 280 e 215nm, respectivamente.

4.3.5. Obtenção da Holocelulose

A holocelulose é o produto resultante da extração da lignina e é constituída por celulose e hemiceluloses. Este processo de deslignificação utiliza o clorito de sódio e está baseado na reação entre lignina e ClO_2 , ClO^- , produtos estes formados em reações redox de ClO_2^- em meio ácido segundo a equação (4).



O procedimento para obtenção da holocelulose foi realizado pelo método do clorito ácido como descrito por Browning (Browning, 1967). Uma massa de 5 g de amostra seca foi colocada em um erlenmeyer de 250 mL com 100 mL de água destilada. O erlenmeyer foi colocado em banho-maria, a 75 °C e a ele foram adicionados 2,0 mL de ácido acético e 3,0 g de clorito de sódio, nesta ordem, tampando o erlenmeyer para não ocorrer à perda do gás produzido na reação. Após 1 hora, adicionou-se novamente 2,0 mL de ácido acético e 3,0 g de clorito de sódio. Esse processo foi repetido por mais duas vezes. A mistura foi então resfriada a 10 °C, filtrada em funil de vidro sinterizado n°2, previamente seco e tarado, e lavada com água destilada a 5°C até que o resíduo fibroso apresentasse coloração esbranquiçada e o pH do eluído fosse igual ao da água utilizada na lavagem. Em seguida, o funil com o resíduo fibroso foi seco em estufa a 105 ± 3 °C por 6 horas, resfriado em dessecador e pesado para se quantificar o

rendimento da holocelulose.

4.3.6. Teor de α -Celulose

A celulose distingue-se analiticamente das hemiceluloses pela sua insolubilidade em soluções alcalinas aquosas. A extração sucessiva da holocelulose (preparada pelo método do clorito ácido) com hidróxido de potássio 5 e 24 % resulta em valores que, somados, representam a fração de hemiceluloses, logo o resíduo fibroso após as duas extrações é designado α -celulose (Browning, 1967). Transferiu-se 3,0 g de holocelulose seca para um erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 100 mL de solução de KOH (5%) e fez-se uma atmosfera inerte pelo borbulhamento de gás nitrogênio, durante os cinco minutos iniciais da extração para evitar a oxidação da celulose. O erlenmeyer foi vedado e mantido em agitação constante por 2 horas. A mistura foi então filtrada em funil de vidro sinterizado nº 2, lavada com 50 mL de solução de KOH (5%) e em seguida com 100 mL de água destilada. O resíduo fibroso retido no funil foi transferido novamente para o Erlenmeyer de 250 mL. O mesmo procedimento de extração foi repetido utilizando solução de KOH (24 %). Para lavagem do resíduo fibroso retido no funil, utilizou-se 25 mL de solução de KOH (24%), 50 mL de água destilada, 25 mL de ácido acético (10%) e 100 mL de água destilada, respectivamente. Após a extração dos componentes solúveis em soluções aquosas de hidróxido de potássio, o resíduo fibroso foi lavado com água destilada até que o filtrado apresentasse pH neutro. O resíduo foi então lavado com 50 mL de acetona, seco a 105 ± 3 °C por 6 horas, e pesado. O conteúdo de α -celulose foi determinado como a percentagem da massa de resíduo em relação a massa inicial de amostra seca, levando em conta o rendimento calculado na obtenção da holocelulose.

4.3.7. Teor de Hemiceluloses

O conteúdo de hemiceluloses foi determinado como a percentagem da diferença entre os teores de holocelulose e α -celulose em relação a massa inicial de amostra seca, levando em conta a o rendimento calculado na obtenção da holocelulose.

4.4. Extração de Nanocristais de Celulose

Após a purificação, a CT foi triturada com um liquidificador e passada através de uma peneira de 35 *mesh*. A hidrólise foi realizada a 40 °C durante 30 min ou 40 min sob agitação vigorosa e constante. Para cada grama de CT foram utilizados 30 mL de

H₂SO₄ 64% (m/m). Imediatamente após a hidrólise, a suspensão foi diluída 10 vezes com água fria ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) para parar a reação de hidrólise, e centrifugada duas vezes por 10 min a 7000 rpm para remover o excesso de ácido. O precipitado foi então dialisado contra água da torneira até pH neutro (5-7 dias) para remoção dos grupos sulfatos que não reagiram, sais e açúcares solúveis. Subsequentemente, a suspensão resultante do processo de diálise foi tratada com um dispersor do tipo Ultraturrax durante 5 min a 20000 rpm e sonicada durante 5 min (pulso utilizado: 4 seg. On e 2 seg. Off, sendo a energia acústica aplicada em torno de 15.000 J). A suspensão coloidal foi armazenada sob refrigeração a 4 °C com a adição de algumas gotas de clorofórmio e hipoclorito de sódio, para evitar o crescimento de bactérias e fungos. Os nanocristais de celulose de casca de soja (NCC) foram rotulados como NCC₃₀ ou NCC₄₀ dependendo do tempo de hidrólise.

4.5. Análise Gravimétrica

Os rendimentos das hidrólises foram calculados secando alíquotas, de volume conhecido, das suspensões de NCC a 105 °C durante 12 horas numa estufa com circulação de ar.

4.6. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho da CB, CT e NCC₃₀ foram obtidos utilizando o método do disco de KBr e um espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige-21. As amostras foram maceradas e misturadas com KBr em uma proporção mássica de 1:100 para preparar as pastilhas. Os espectros foram obtidos com 32 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹.

4.7. Análise Elementar

A análise elementar foi realizada para determinar o teor de enxofre antes e depois da hidrólise utilizando um analisador elementar EA1110-CHNS/O da CE Instruments.

4.8. Difração de Raios-X (DR-X)

Os difratogramas de raios-X para CB, CT, NCC₃₀ e dos NCC₄₀ foram obtidos a temperatura ambiente, com intervalo de 2 θ de 5 a 40°, velocidade de varredura de 1°/min e resolução de 0,02°. O aparelho utilizado foi um difratômetro Shimadzu LabX

XRD-6000, operando a uma potência de 40 kV com 30 mA de corrente e radiação de Cu K α (1,5406 Å). Para esta análise, todas as amostras foram secas a 50 °C durante 12 horas em uma estufa com circulação de ar. O índice de cristalinidade relativo (ICr) dos materiais foram determinados pelo método de Segal (Segal, 1959), como mostrado na Equação (1):

$$ICr = [(I_{002} - I_{am})/I_{002}] \times 100 \quad \text{eq. (5)}$$

Nesta equação, ICr expressa o grau relativo de cristalinidade, onde I_{002} é a intensidade de difração do plano 002 ($2\theta = 22,8^\circ$), e I_{am} é a intensidade de difração em $2\theta = 18^\circ$. I_{002} representa as regiões cristalinas e amorfas, enquanto I_{am} representa apenas a parte amorfa.

A partir dos padrões de difração de raios-X o diâmetro médio dos cristalitos de celulose foi calculado através da equação de Scherrer (6) (Klug e Alexander, 1954; Scherrer, 1918):

$$D_{hkl} = K \lambda / (\beta_{1/2} \cos \theta) \quad \text{eq. (6)}$$

Onde D_{hkl} é a dimensão do cristalito na direção normal à família de planos de rede hkl , K é um fator de correção relacionado ao formato da partícula que geralmente é considerado como sendo 0,9, λ é o comprimento de onda de radiação, θ é o ângulo de difração e $\beta_{1/2}$ é a largura do pico na metade da sua intensidade máxima. O tamanho médio dos cristais foi estimado em relação ao plano 002.

4.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

As morfologias da CB e da CT foram avaliadas em um microscópio JSM-7500F JEOL. As amostras foram fixadas no porta amostra e revestidas com uma camada de carbono (1-10 nm de espessura) e, em seguida observados com uma tensão de aceleração de 2-10 kV. As dimensões das amostras foram determinadas usando o software Image J como processador de imagens.

4.10. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

A morfologia dos NCC₃₀ e NCC₄₀ foram examinadas por TEM em um microscópio Zeiss EM 109 equipado com um sistema de captura de imagem para digital Olympus MegaView V. As suspensões dos NCC foram diluídas para concentrações ao redor de 0,01% (m/v) e sonicadas por 2 minutos com ultrassom de sonda (pulso

utilizado: 4 seg. On e 2 seg. Off, sendo a energia acústica aplicada em torno de 6.000 J). Logo em seguida, uma gota dessas suspensões foi depositada em grades de transmissão de cobre recobertos com *Formvar*, constratadas por imersão em uma solução de acetato de uranila 2% (m/v) e secas em dessecador à temperatura ambiente. As amostras foram observadas a 80 kV. As dimensões dos NCC foram determinadas usando o software Image J como processador de imagens. Cem nanocristais foram escolhidos aleatoriamente e um mínimo de 100 e 200 medidas foram usadas para determinar o comprimento e o diâmetro médio, respectivamente.

4.11. Microscopia de Força Atômica (AFM)

As medidas de AFM foram realizadas com um equipamento Shimadzu SPM-9600. Uma gota da suspensão diluída dos NCC₃₀ foi depositada sobre uma superfície de mica recém clivada e seca com nitrogênio. As imagens de AFM foram obtidas à temperatura ambiente no modo dinâmico (ou não-contato), com uma velocidade de varredura de 1 Hz, utilizando ponteiras de Si com um raio de curvatura inferior a 10 nm e uma constante elástica de 42 N.m⁻¹. Os diâmetros dos nanocristais foram determinados utilizando o software VectorScan (software próprio do equipamento). Para eliminar o efeito de convolução entre a ponta da sonda e as nanopartículas os diâmetros dos nanocristais foram estimados medindo as suas alturas, logo assumiu-se que os NCC₃₀ possuíam formato cilíndrico (Beck-Candanedo et al., 2005). Cem nanocristais foram escolhidos aleatoriamente e duas medições de altura para cada nanocristal foram feitas para determinar o diâmetro médio dos NCC₃₀.

4.12. Análise Térmica

As estabilidades térmicas da CB, CT e dos NCC₃₀ foram avaliadas com o auxílio de um equipamento Shimadzu DTG-60H. As amostras com massa entre 5 e 7 mg foram colocadas em um porta-amostra de alumina e aquecidas de 25 até 600°C a uma razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 30 mL.min⁻¹.

4.13. Preparação dos filmes nanocompósitos

Diferentes alíquotas das suspensões de NCC e de uma solução aquosa de CMC a 3% (m/v) foram misturadas e homogeneizadas por tratamento com ultra-som durante 3 min (pulso utilizado: 4 seg. On e 2 seg. Off, sendo a energia acústica aplicada em torno

de 9.000 J). As proporções mássicas dos NCC₃₀ para CMC foram controlados em 2:98, 4:96, 6:94, 8:92 e 10:90, respectivamente. Para os NCC₄₀ esta proporção foi de 2:98. Os filmes compósitos de NCC/CMC foram fabricados por *casting*, a 35 °C durante 24 h em uma estufa com circulação de ar e logo em seguida armazenadas em sacos herméticos. A massa final de todos os compósitos foi de 0,7 g. Similarmente a preparação dos compósitos foi produzido um filme de CMC pura para comparação de resultados.

4.14. Ensaio de Tração

A resistência à ruptura (ou tensão de ruptura) dos nanocompósitos e do filme de CMC pura foi medida com o auxílio de uma máquina de ensaios universal (MTS - 810 Sistema de teste de material). As dimensões das amostras foram ~30 µm de espessura, ~7,00 mm de largura e 30 mm de comprimento. A taxa de deformação utilizada foi de 1 mm.min⁻¹ e célula de carga de 1kN a 25 °C. O aparelho foi previamente calibrado e foram feitas pelo menos 4 medidas para cada amostra a fim de obter uma reprodutibilidade dos resultados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Purificação, Composição Química e FTIR

O tratamento alcalino foi realizado para solubilizar a lignina, pectinas, hemiceluloses e proteínas (Dufresne et al., 1997), enquanto que o branqueamento foi aplicado para remover a lignina residual (de Rodriguez et al., 2006; Wang et al, 2007a). O rendimento da purificação foi de 46% (calculado com base na massa inicial seca de CB). A figura 17 mostra o aspecto físico do casca de soja antes (CB) e depois da purificação (CT). A coloração do material após a purificação indica que houve remoção de componentes não-celulósicos.



Figure 17. Fotografia da casca de soja antes (CB) e depois da purificação (CT).

Os teores de umidade encontrados para a CB e CT foram $9,2 \pm 0,1$ e $7,5 \pm 0,1$, respectivamente. Na tabela 2 estão os valores encontrados para a composição da CB e da CT. Considerando que são muitos os fatores que podem influenciar a composição química de um material lignocelulósico, por exemplo: diferenças genéticas, diferenças na cultura (época de plantio, tipo de adubação) e ambientais (temperatura, água, clima, alimentação), os valores encontrados para os principais componentes da CB estão de acordo com valores reportados na literatura (Ipharraguerre e Clark, 2003; Zambom et al., 2001).

Tabela 2. Principais constituintes da CB e da CT. Os resultados são relativos à massa de amostra seca e estão expressos como % média $\pm$ desvio padrão.

	α -Celulose	Hemiceluloses	Lignina Klason Insolúvel	Lignina Klason Solúvel	Lignina Total	Cinzas	Total da matéria seca
CB	48,2 $\pm$ 2,1	24,0 $\pm$ 3,0	3,48 $\pm$ 1,01	2,30 $\pm$ 0,05	5,78 $\pm$ 1,06	3,94 $\pm$ 0,06	81,9
CT	84,6 $\pm$ 4,0	11,2 $\pm$ 4,0	3,67 $\pm$ 0,41	0	3,67 $\pm$ 0,41	0,28 $\pm$ 0,03	99,8

A soma da percentagem de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas para a CB corresponde a 81,9% da matéria seca total, indicando que existem outros componentes como por exemplo, proteína e extrativos. Como mostrado na tabela 2, após a purificação, o teor de celulose aumenta significativamente, o teor de hemiceluloses reduz aproximadamente para a metade do inicial e o de lignina reduz para cerca de dois terços do original. A soma da percentagem de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas para a CT corresponde a 99,8% da matéria seca total, portanto, a purificação não só removeu hemiceluloses, lignina e cinzas, mas também outros componentes, tais como proteínas, extrativos.

Verificou-se que as percentagens de remoção de massa dos componentes principais da CB devido ao processo de purificação foram de 19,3, 78,5 e 70,8% para α -celulose, hemicelulose e lignina, respectivamente. A perda de massa de celulose durante o processo de purificação pode ser relacionada com dois fatores: (i) a quebra de cadeias de celulose durante o branqueamento e (ii) a perda de material inerente aos vários processos de filtração e de transferência de massa realizados.

Levando em conta que a purificação foi feita para remover os constituintes não-celulósicos e principalmente a lignina, que age como um aglutinante natural dificultando o ataque ácido, o processo de purificação atingiu o seu objetivo, uma vez que a composição da CT é adequada para a extração de NC por hidrólise ácida.

A Figura 18 mostra os espectros de FTIR para a CB, a CT e para os NCC₃₀. O pico a 1742 cm⁻¹ no espectro da CB é atribuído aos grupos éster acetyl e urônicos de hemiceluloses ou a ligação éster do grupo carboxílico de ácidos ferúlico e p-cumárico da lignina e/ou hemiceluloses (Sain e Panthapulakkal, 2006; Sun et al., 2005). Este pico diminui para o espectro da CT e praticamente desaparece no espectro dos NCC₃₀, devido à remoção significativa de hemiceluloses e lignina, relacionada com a purificação e a hidrólise ácida utilizadas.

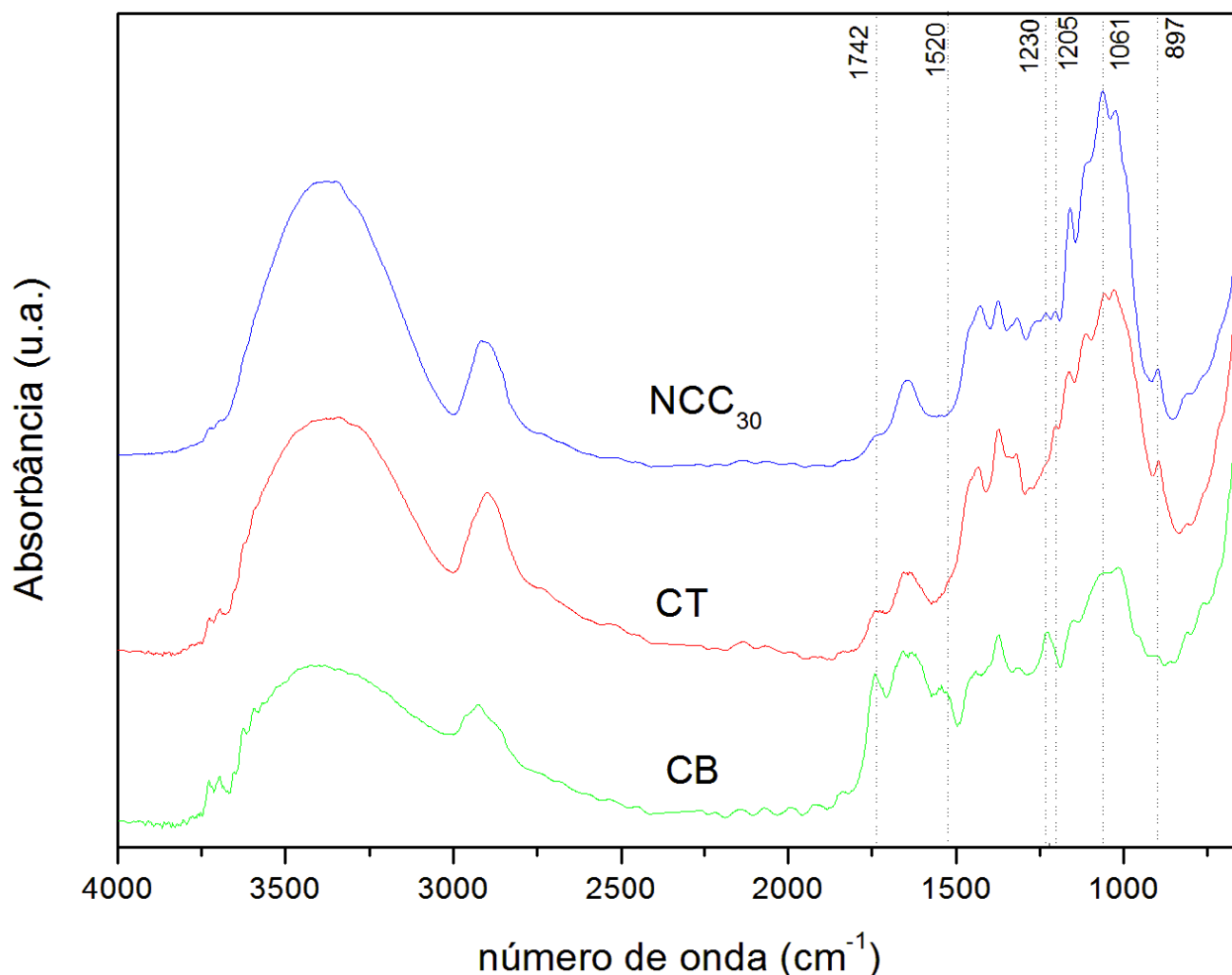


Figure 18. Espectro de FTIR para a CB, a CT e para os NCC₃₀.

O pico largo em 1520 cm^{-1} no espectro da CB é indício da presença de lignina sendo atribuído a vibração do esqueleto aromático $\text{C}=\text{C}$ (Sun et al., 2005; Xiao et al., 2001). Este pico desaparece nos espectros obtidos para CT e NCC₃₀ indicando remoção de lignina. No espectro da CB a banda próxima a 1230 cm^{-1} refere-se a deformação assimétrica axial de $=\text{C}-\text{O}-\text{C}$, que é geralmente observada quando grupos como éter, éster e fenol estão presentes (Siqueira et al., 2010b). Este pico quase desaparece nos espectros da CT e dos NCC₃₀, isso também evidencia remoção de lignina por meio dos tratamentos químicos empregados.

O pico fino e pequeno em 1205 cm^{-1} no espectro dos NCC₃₀ está relacionado com a vibração $\text{S}=\text{O}$ devido à esterificação da celulose como relatado na literatura (Lu e Hsieh, 2010). Os picos a 1061 e 897 cm^{-1} estão associados com os estiramentos $\text{C}-\text{O}$ e $\text{C}-\text{H}$ da celulose (Alemдар e Sain, 2008), estes picos apareceram em todos os espectros. O crescimento destes picos indica que houve aumento da percentagem de celulose. As

diferenças nos espectros de CT e dos NCC₃₀ sugerem que NCC₃₀ possui um teor de celulose muito alto.

5.2. Extração de Nanocristais de Celulose e Análise Elementar

Os rendimentos das hidrólises com relação à quantidade inicial de fibras secas (CT) foram de 20 e 8% para os NCC₃₀ e NCC₄₀, respectivamente; e estes valores são consistentes com outros dados da literatura (Purkait et al., 2011).

A hidrólise com ácido sulfúrico envolve a introdução de grupos sulfatos na superfície dos NCC, e estes grupos sulfatos carregam a superfície dos NCC negativamente provocando uma estabilização aniônica por forças de repulsão, levando assim à obtenção de dispersões aquosas estáveis (figura 19) (Beck-Candanedo et al., 2005; Lima e Borsali, 2004; Silva e D'Almeida, 2009).

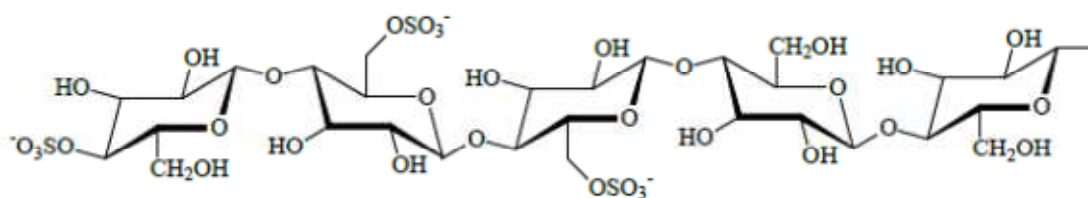


Figura 19. Grupos éster-sulfatos introduzidos nas cadeias de celulose da superfície dos nanocristais de celulose durante a hidrólise com H₂SO₄.

Os resultados das análises elementares permitiram calcular a concentrações de grupos sulfato para a CT, NCC₃₀ e NCC₄₀ que foi de 0, 118 e 111 mmol de SO₄²⁻.Kg⁻¹ de celulose, respectivamente. Estes resultados confirmam a incorporação de grupos sulfato nos NCC após tratamento com ácido e também que ambas as condições de hidrólise utilizados conduziram a obtenção de suspensões aquosas homogêneas e estáveis (como pode ser visto na Figura 20).

Esperava-se que um aumento no tempo de extração resultasse em NCC com maior sulfatação, contudo a carga de superfície foi maior para NCC₃₀ do que para NCC₄₀. Provavelmente, a pequena diferença observada está associada com a falta de um controle rigoroso do tempo de diálise, uma vez que a diálise promove a desulfatação sobre as superfícies dos nanocristais (Wang et al., 2007b). A presença dos grupos sulfato nos NCC₃₀ também foi confirmada pelo análise de FTIR, como mostrado na figura 18 e discutido anteriormente.

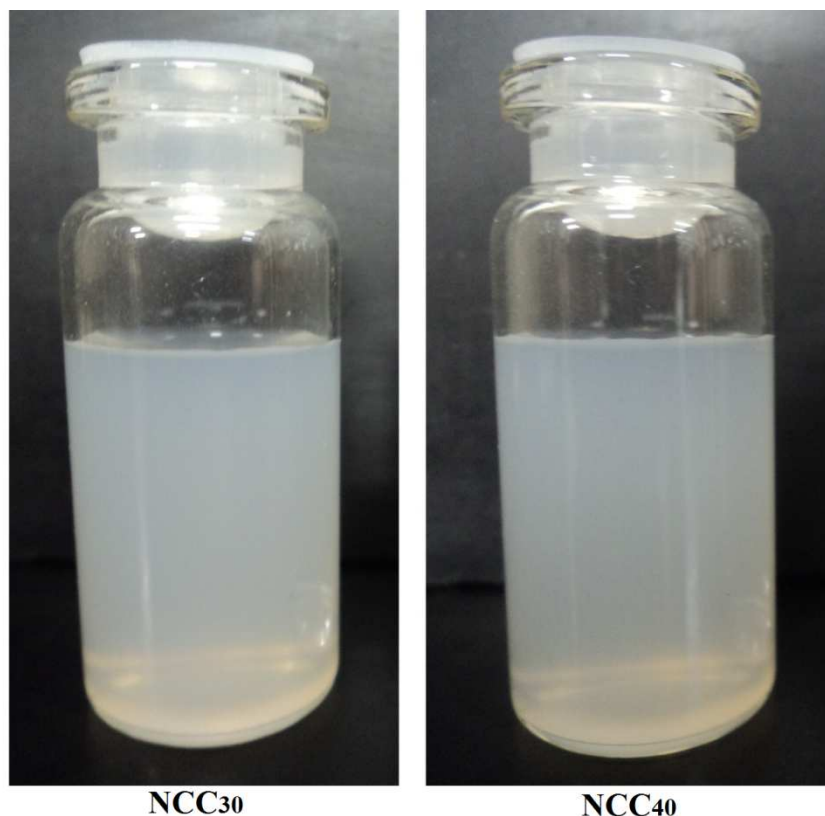


Figure 20. Suspensões coloidais de NCC resultantes. NCC₃₀ (esquerda) e NCC₄₀ (direita).

5.3. DR-X

Os padrões de difração para a CB, CT, NCC₃₀ e NCC₄₀ são mostrados na figura 21. Como pode ser observado, esses padrões de difração são típicos de materiais semicristalinos, apresentando um halo amorfo amplo e picos cristalinos. A partir dos difratogramas de raios-X os ICr foram calculados e os valores encontrados foram de 26,3, 67,2, 73,5 e 64,4% para a CB, CT, NCC₃₀ e NCC₄₀, respectivamente. O maior valor do ICr da CT em comparação com a CB pode ser bem entendido pela redução e remoção de parte dos constituintes não-celulósicos (que são basicamente amorfos) durante os processos de deslignificação e branqueamento. O aumento no valor de ICr dos NCC₃₀ em relação a CT ocorreu devido à remoção parcial dos domínios *para*-cristalinos (ou amorfos) durante a hidrólise ácida. O difratograma dos NCC₃₀ apresenta picos mais estreitos e mais nítidos por causa da sua maior cristalinidade em comparação com outras amostras (Teixeira et al., 2010a). Uma diminuição no ICr dos NCC₄₀ em relação a NCC₃₀ foi observada, isto sugere que o tempo de extração de 40 min foi severo sob as condições de hidrólise empregadas. Portanto, o tratamento ácido de 40 min não atacou apenas a parte amorfa da celulose, mas também destruiu parcialmente os domínios cristalinos da celulose. Efeitos similares para tempo de hidrólise em excesso

também foram observados em estudos anteriores (Chen et al., 2009; Teixeira et al., 2011).

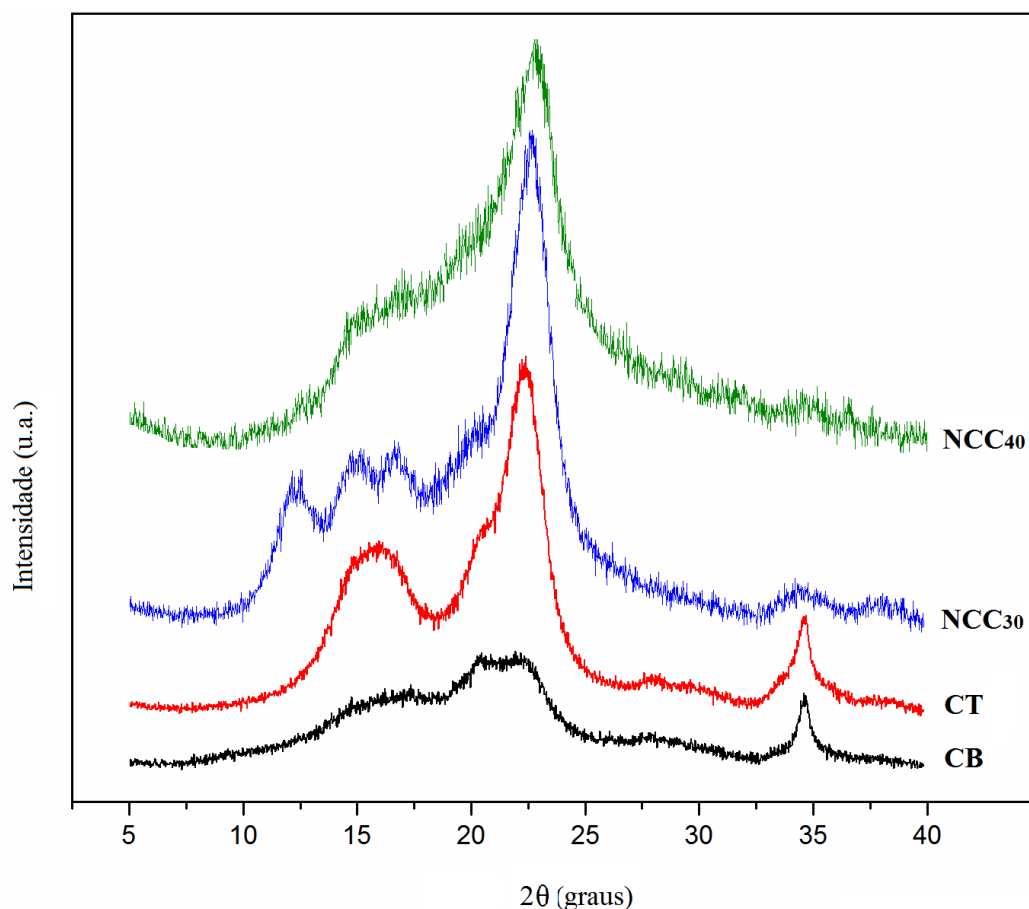


Figure 21. Padrões de DR-X obtidos para a CB, CT, NCC₃₀ e NCC₄₀.

Em todos os difratogramas, há uma predominância de celulose do tipo I, verificada pela presença de picos a $2\theta = 15^\circ$ (plano 101), 17° (plano $10\bar{1}$), 21° (plano 021), 23° (plano 002) e 34° (plano 004), embora os padrões de difração para os NCC₃₀ e NCC₄₀ exibam uma mistura de polimorfos de celulose I e II celulose. A presença de celulose do tipo II pode ser observado pelos picos em $2\theta = 12^\circ$ (plano 101), 20° (plano $10\bar{1}$) e 22° (plano 002) (Borysiak e Garbarczyk, 2003).

Possivelmente, a presença de celulose do tipo II está associada à regeneração da celulose depois da hidrólise, uma vez que uma solução de ácido sulfúrico 64% pode ser um solvente para a celulose (O'Sullivan, 1997). As amostras de NCC deveriam ter aproximadamente a mesma quantidade de celulose do tipo II, no entanto a amostra NCC₄₀ (que tem o maior tempo de extração) praticamente não apresenta conteúdo de celulose II no seu difratograma; isso ocorre pois a celulose do tipo II é mais susceptível à hidrólise ácida do que a celulose nativa (Xiang et al., 2003).

A média da seção transversal dos cristalitos de celulose foi determinada a partir dos difratogramas de raios-X através da equação (6). Uma vez que esta equação é restrita às amostras de alta cristalinidade e sem qualquer alargamento dos picos, este cálculo foi feito apenas para os NCC₃₀ e o valor encontrado foi de 2,73 nm.

5.4. Análises de Microscopia

5.4.1. SEM

A figura 22 mostra algumas das imagens de SEM obtidas a partir da CB e CT.

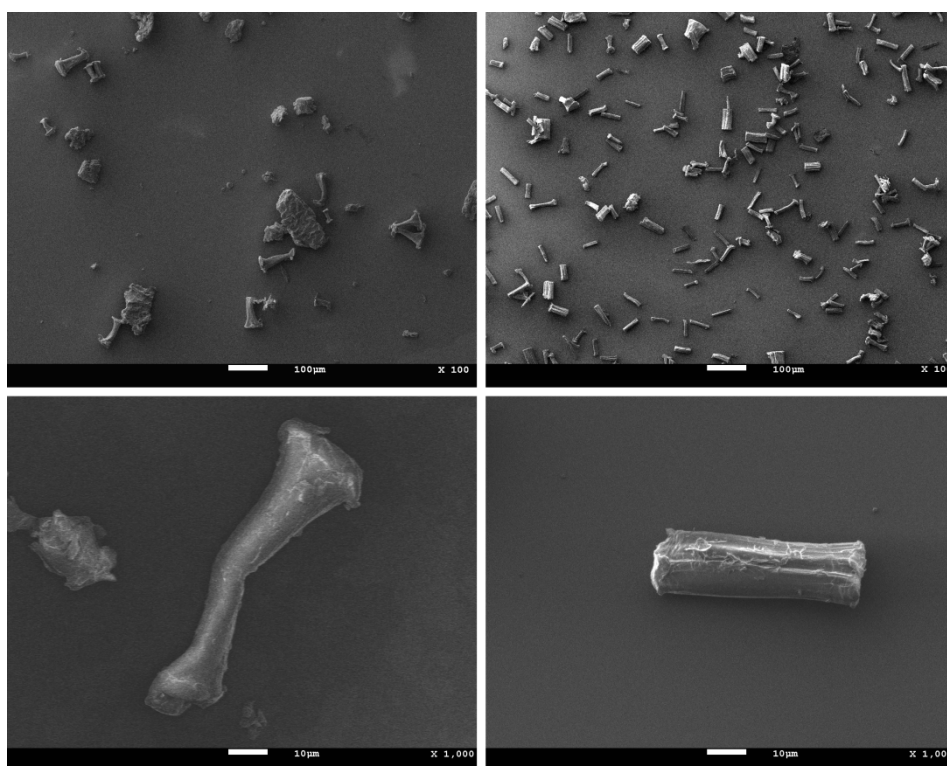


Figure 22. Imagens de SEM da CB (esquerda) e CT (direita).

Ambas amostras exibiram um tamanho micrométrico, mas nitidamente houve uma redução de tamanho após o processo de purificação. Visualmente a CB exibiu tamanhos e formas irregulares apresentando um comprimento entre 40-170 μm de comprimento e 10-80 μm de largura. Já a CT aparenta ter tamanhos e formas mais regulares, apresentando um comprimento entre 33-62 μm , largura entre 3-16 μm e formato retangular. Atráves das imagens de SEM também é perceptível que após o processo de purificação o material apresentou um aspecto mais fibroso, provavelmente

isso está relacionado a retirada dos componentes não-celulósicos que circundam as fibras (como por exemplo a lignina).

5.4.2. TEM e AFM

A Figura 23 mostra as micrografias de TEM dos NCC extraídos. As imagens de TEM apresentam nanopartículas com formato de agulha, confirmando que a extração de NCC foi bem sucedida.

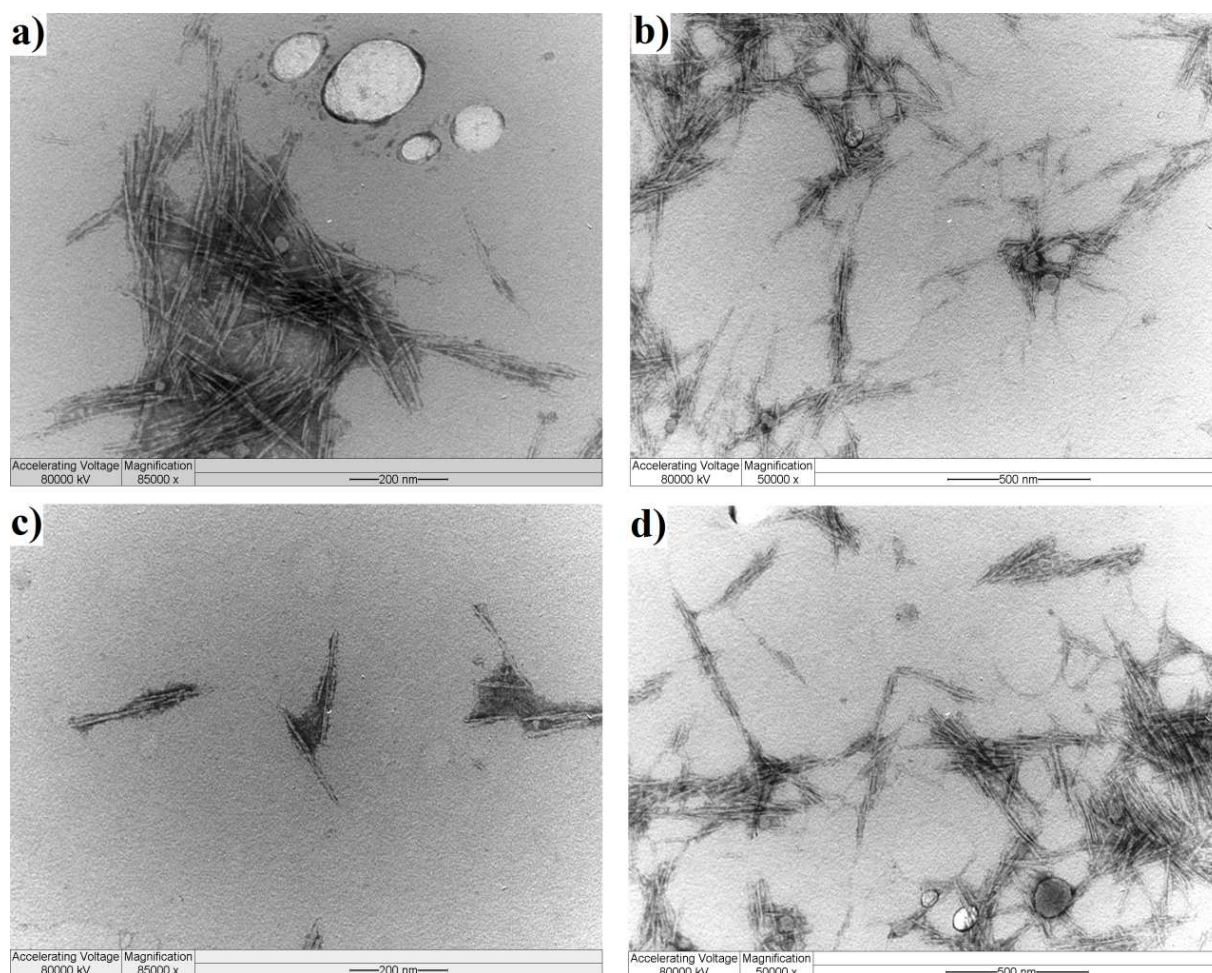


Figure 23. Imagens de TEM dos NCC. (a) e (b) NCC₃₀; (c) e (d) NCC₄₀.

Estas imagens mostram nanocristais individuais e alguns agregados. O aparecimento de cristais lateralmente agregados nas imagens de TEM é esperado, devido à elevada área superficial específica e as fortes interações de hidrogênio estabelecidas entre os NC. Estes agregados podem existir mesmo em suspensão, mas quando o meio de dispersão é removido, como no caso da preparação de amostra para

TEM, estes agregados podem ser ainda mais numerosos do que os cristais individuais (de Mesquita et al., 2010; Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008).

A Figura 24 mostra as distribuições de comprimento (L), do diâmetro (D) e da razão de aspecto (L/D) obtidas através de várias imagens de TEM. Os valores estatísticos destas distribuições são mostrados na Tabela 3. O aumento do tempo de extração resultou em comprimentos menores para NCC₄₀ quando comparado com NCC₃₀. Isto era esperado, uma vez que o tempo de extração longo (40 min) destruiu parcialmente os domínios cristalinos como mostrado pela análise de DR-X (Rosa et al., 2010). Apesar de todos os histogramas evidenciarem uma redução das dimensões das partículas, se o desvio padrão de cada valor for levado em conta pela análise de TEM não houve diferença significativa entre os diâmetros dos NCC. Com o aumento do tempo de hidrólise, o desvio padrão das distribuições das dimensões diminuíram (Tabela 3) (Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008).

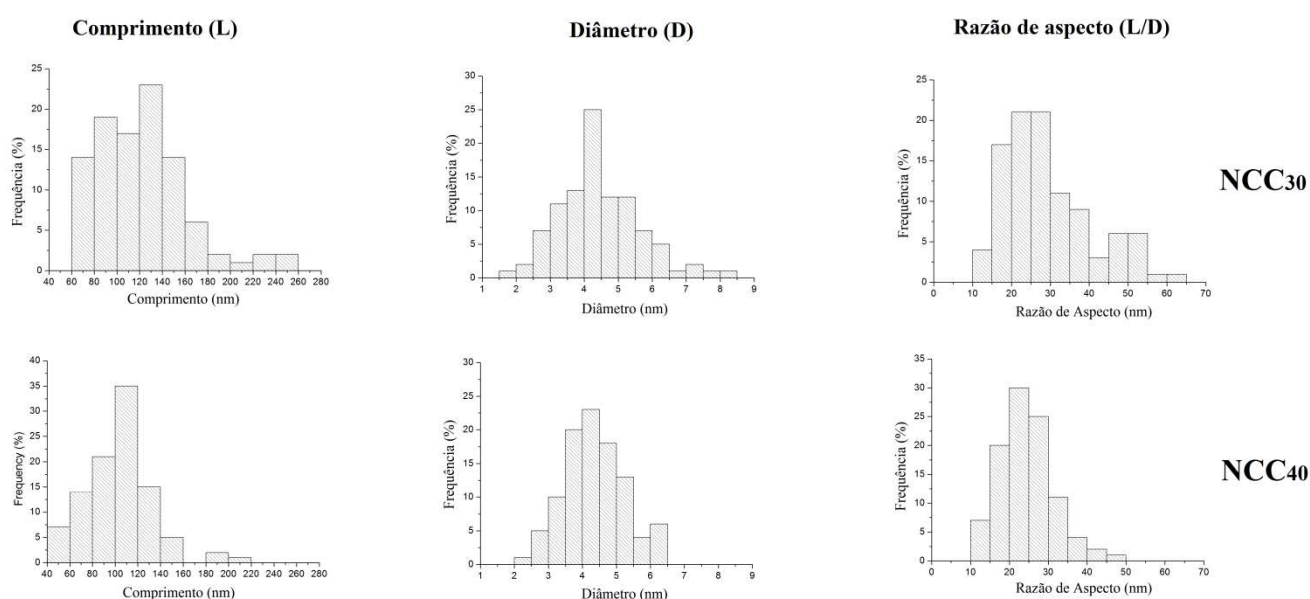


Figure 24. Distribuição das dimensões de comprimento (L), de diâmetro (D) e razão de aspecto (L/D) para NCC₃₀ (superior) e NCC₄₀ (inferior) obtidas através de várias imagens de TEM.

Table 3 – Comprimento, diâmetro e razão de aspecto médio calculados a partir das imagens de TEM.

	Comprimento (nm)	Diâmetro (nm)	Razão de aspecto (nm)
NCC ₃₀	122,7 ± 39,4	4,4 ± 1,20	27,9 ± 11,5
NCC ₄₀	103,4 ± 29,4	4,4 ± 0,89	23,5 ± 7,1

Como consequência das condições de hidrólise, uma diminuição na razão de aspecto (L/D) para os NCC₄₀ em comparação com NCC₃₀ foi observada por meio das imagens de TEM. Isto sugere que os NCC₃₀ podem oferecer um melhor efeito de reforço do que os NCC₄₀ a níveis de carga semelhantes (Dalmas et al., 2007; Eichhorn et al., 2010; Martínez-Sanz et al., 2011). A razão de aspecto dos NCC a partir de imagens de TEM foram superiores a 10, que é considerado como o valor mínimo para que ocorra uma transferência de reforço significativa das partículas para a matriz (Azeredo et al., 2009; Jiang et al., 2007 ; Mutjé et al., 2007). Como pode ser observado na Figura 22, foi difícil distinguir com clareza cristais individuais de estruturas germinadas (ou aglomeradas), portanto a estimativa do diâmetro dos cristais pode ter sido superestimada.

De forma similar a preparação da amostra para TEM, a preparação da amostra para AFM também pode conduzir a nanocristais agregados nas suas imagens, no entanto a análise AFM permite o discernimento de NC individuais de estruturas aglomeradas por meio dos perfis de altura transversais. Assim, os valores de diâmetro para os NC obtidos a partir da TEM são geralmente maiores que os valores de altura obtidos a partir das medições de AFM. Além disso, um exame estrutural detalhado é essencial, não só para os desenvolvedores do processo de extração de NC, mas também para os desenvolvedores de aplicações funcionais. Deste modo, as medições de AFM foram realizadas para os NCC₃₀ a fim de obter uma caracterização mais exata da espessura dos cristalitos individuais.

A Figura 25 mostra algumas imagens obtidas por AFM. Estas imagens também apresentaram nanopartículas com formato acicular. O diâmetro médio para os NCC₃₀ determinado por AFM foi de $2,77 \pm 0,67$ nm. A Figura 26 mostra o histograma correspondente a estas medidas. Se considerarmos o diâmetro obtido por meio de medições de AFM para calcular a razão de aspecto para os NCC₃₀, este parâmetro aumenta acentuadamente, variando de 24 até 77, com um valor médio de 44, sendo que este valor se situa na gama de NC que têm um grande potencial para ser usado como agentes de reforço em nanocompósitos (Rosa et al., 2010).

Os resultados da investigação morfológica obtidos através dos métodos de microscopia são consistentes com outros relatos onde NC foram extraídos de diferentes fontes (Bai et al., 2009; Beck-Candanedo et al., 2005; de Rodriguez et al., 2006; Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008; Kvien et al., 2005; Rosa et al., 2010; Siqueira et al., 2010a; Teixeira et al., 2011).

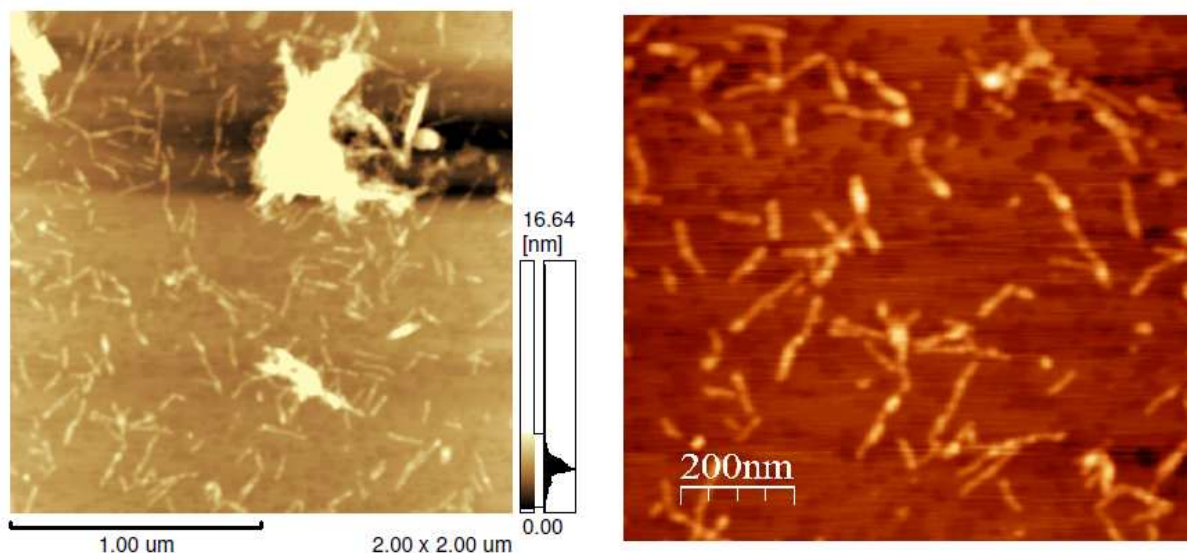


Figure 25. Imagens de AFM para os NCC₃₀.

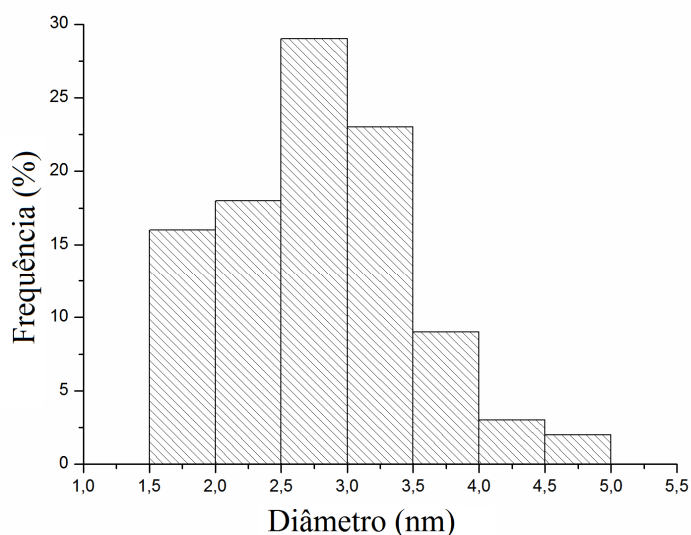


Figure 26. Distribuição das dimensões de diâmetro (D) para NCC₃₀ obtidas através das imagens de AFM.

Determinar as dimensões exatas de NC é complicado devido as limitações específicas dos diferentes métodos analíticos utilizados. No caso da AFM, a geometria e o tamanho da ponteira representam as principais limitações, resultando em uma superestimativa das dimensões dos NC. Assumindo que os nanocristais têm formato cilíndrico, para compensar o alargamento da imagem devido à convolução da ponta da sonda e das nanopartículas, a altura dos NC é tomada como diâmetro equivalente (Beck-Candanedo et al., 2005.; Kvien et al., 2005). Já para as medidas de comprimento este efeito é inevitável (Beck-Candanedo et al., 2005; Rusli et al., 2011). Por outro lado, caracterizações detalhadas também podem ser obtidas por TEM, mas esta técnica requer

contrastação que em geral é limitada de acordo com a sensibilidade do material (Kvien et al., 2005).

Exames morfológicos precisos podem ser obtidos por TEM e AFM, no entanto estas técnicas estão restritas ao exame de um número pequeno de partículas em algumas imagens. Além disso, a informação obtida por estas técnicas requerem tempos longos para a preparação da amostra, coleta e análise dos dados. Uma medida de tamanho baseada na massa como um todo, como por exemplo difração de raios-x, pode ser considerada uma técnica complementar rápida e útil para avaliar e/ou confirmar os resultados obtidos através de métodos baseados em microscopia (Boluk et al., 2011; Terech et al., 1999).

O valor encontrado para a espessura dos NCC₃₀ através da equação de Scherrer é mais próximo ao valor encontrado por AFM do que por TEM, portanto, tendo em conta o que foi dito anteriormente, é evidente que os diâmetros estimados pela TEM não correspondem aos cristais individuais. Assim, neste caso, a caracterização da espessura dos NCC por AFM foi mais confiável do que a obtida com a TEM.

5.5. Análise Térmica

Uma vez que as temperaturas de processamento de termoplásticos muitas vezes excede os 200°C, a estabilidade térmica destes cristais é um fator chave para que os mesmos possam ser usados como materiais de reforço eficazes (Roman e Winter, 2004). As análises termogravimétricas foram realizadas apenas para CB, CT e NCC₃₀, pois o NCC₃₀ tem uma maior capacidade de reforço do que NCC₄₀, como suportado pelas análise de DR-X e TEM. As curvas de termogravimetria (TG) e termogravimetria derivativa (DTG) para CB, CT e NCC₃₀ são mostradas nas Figuras 27 e 28, respectivamente. Os dados correspondentes estão listados na Tabela 4. Nota-se que para ambas as amostras os perfis de perda de massa apresentam basicamente três eventos. O primeiro evento está relacionado à evaporação da água adsorvida dos materiais ou compostos de baixo peso molecular (presente na CB), para ambas as amostras este evento ocorreu entre 35 e 150 °C e no mesmo houve uma pequena perda de massa.

O segundo evento, corresponde basicamente ao processo de degradação da celulose, que é constituído por vários processos simultâneos: despolimerização, desidratação e decomposição das unidades glicosídicas (Araki et al., 1998). Devido à baixas temperaturas de decomposição das hemiceluloses e pectina (Moran et al., 2008), a curva de DTG para a CB apresenta uma pequena ampliação (ou ombro) do lado

esquerdo do pico principal que representa a pirólise de celulose (cerca de 340 °C). Nesta mesma etapa, a degradação térmica dos NCC₃₀ também procedeu a temperaturas inferiores a da CT, mas este comportamento era esperado dado que a introdução de grupos sulfato diminui a termoestabilidade dos NC (Roman e Winter, 2004). Isso ocorre porque a incorporação de grupos sulfatos na superfície da celulose após a hidrólise exerce efeito catalítico nas suas reações de degradação térmica (Teixeira et al., 2010b).

O terceiro evento (pico da DTG acima 425 °C) foi atribuído à oxidação e a quebra dos resíduos carbonizados para formação de produtos gasosos de baixo peso molecular (Roman e Winter, 2004; Teixeira et al., 2010b). Nesta etapa, observa-se uma menor quantidade de resíduo carbonizado para a CT em relação a CB, pois os constituintes não-celulósicos podem induzir a formação de resíduo carbonizado (Nguyen et al., 1981). Para esta mesma etapa os NCC₃₀ apresentam um aumento no resíduo carbonizado quando comparados a CT, pois os grupos sulfatos podem atuar como retardantes de chama (Maren e William, 2004; Roman e Winter, 2004). Estes resultados estão de acordo com os obtidos a partir da composição química, DR-X e FTIR.

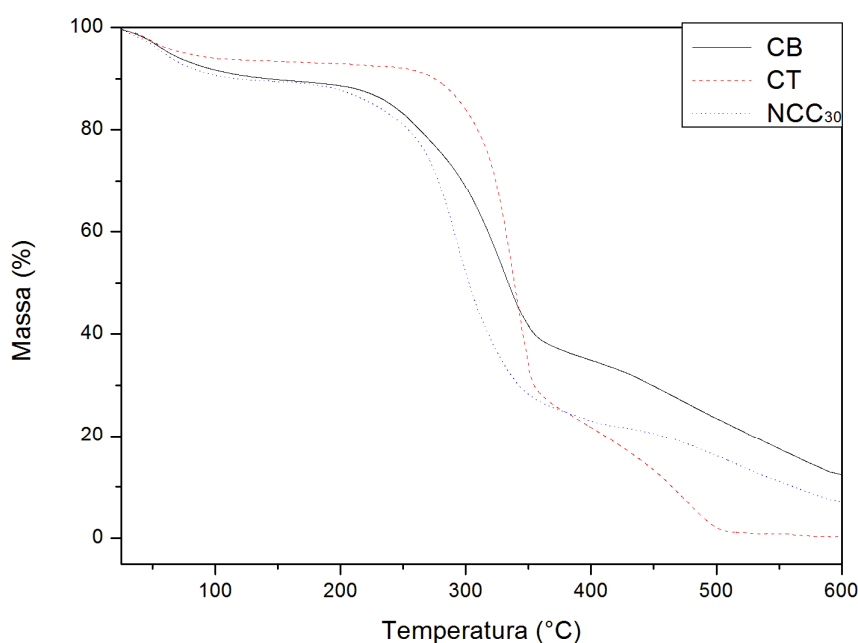


Figure 27. Curvas de TG para CB, CT e NCC₃₀.

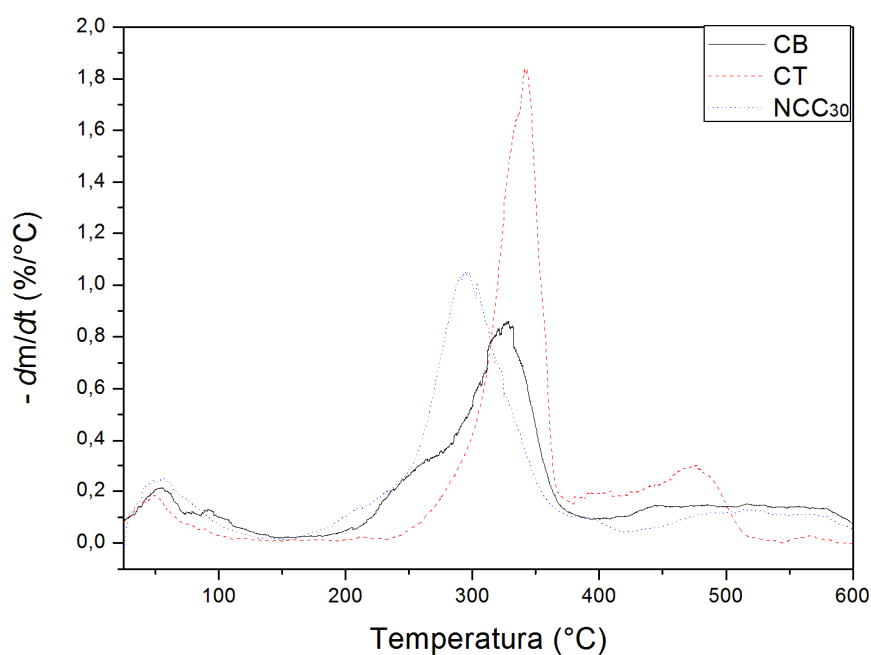


Figure 28. Curvas de DTG para CB, CT e NCC₃₀.

Table 4 – Temperatura inicial do evento (T_{Onset}), temperatura da taxa máxima de perda de massa (T_{Max}), percentual de perda de massa (WL) e percentual de resíduo carbonizado obtidas das curvas de TG/DTG para CB, CT e NCC₃₀.

Amostra	Evento 1			Evento 2			Evento 3			
	Evaporação de água			Degradação térmica da celulose			Degradação de resíduos carbônicos			
	T_{Onset} (°C)	T_{Max} (°C)	WL (%)	T_{Onset} (°C)	T_{Max} (°C)	WL (%)	T_{Onset} (°C)	T_{Max} (°C)	WL (%)	Resíduo Carbonizado (%)
CB	25	56	10	190	327	57	420	510	21	12
CT	25	54	7	240	342	75	423	477	17,5	0,5
NCC ₃₀	25	50	10	170	294	68	432	518	15	7

5.6. Ensaio de Tração

A figura 29 mostra o aspecto físico de alguns dos filmes compósitos produzidos e do filme de CMC pura. Visualmente a incorporação de NCC na matriz de CMC não afetou a transparência nem a homogeneidade dos filmes, conforme pode ser verificado na figura 29.

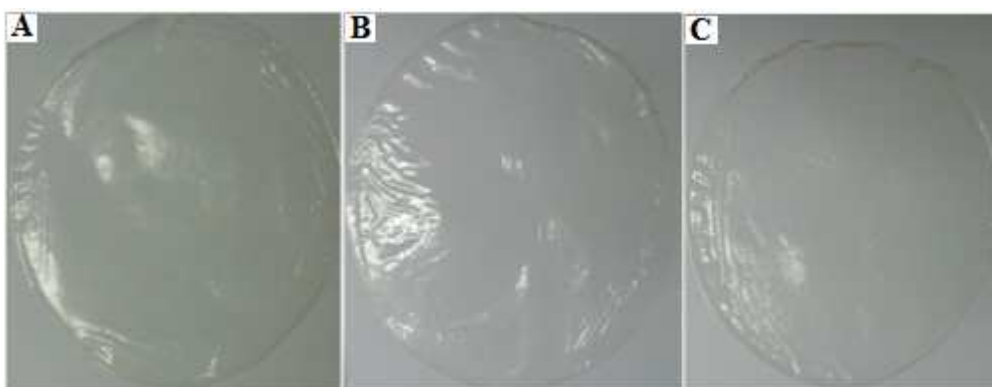


Figure 29. Fotos dos filmes produzidos. A) Filme de CMC pura; B) Filme compósito de CMC com 2% (em massa) de NCC₃₀; C) Filme compósito de CMC com 10% (em massa) de NCC₃₀.

Como reportado em estudos anteriores, a capacidade de reforço dos NC depende de dois fatores principais: (i) do índice de cristalinidade, uma vez que o aumento do índice de cristalinidade resulta num aumento do módulo de elasticidade do material de reforço, portanto, maior é a sua capacidade de reforço, (ii) da razão de aspecto, porque uma alta razão de aspecto proporciona uma área de superfície específica elevada, consequentemente um melhor efeito de reforço (Azeredo et al., 2009; Shi et al., 2011).

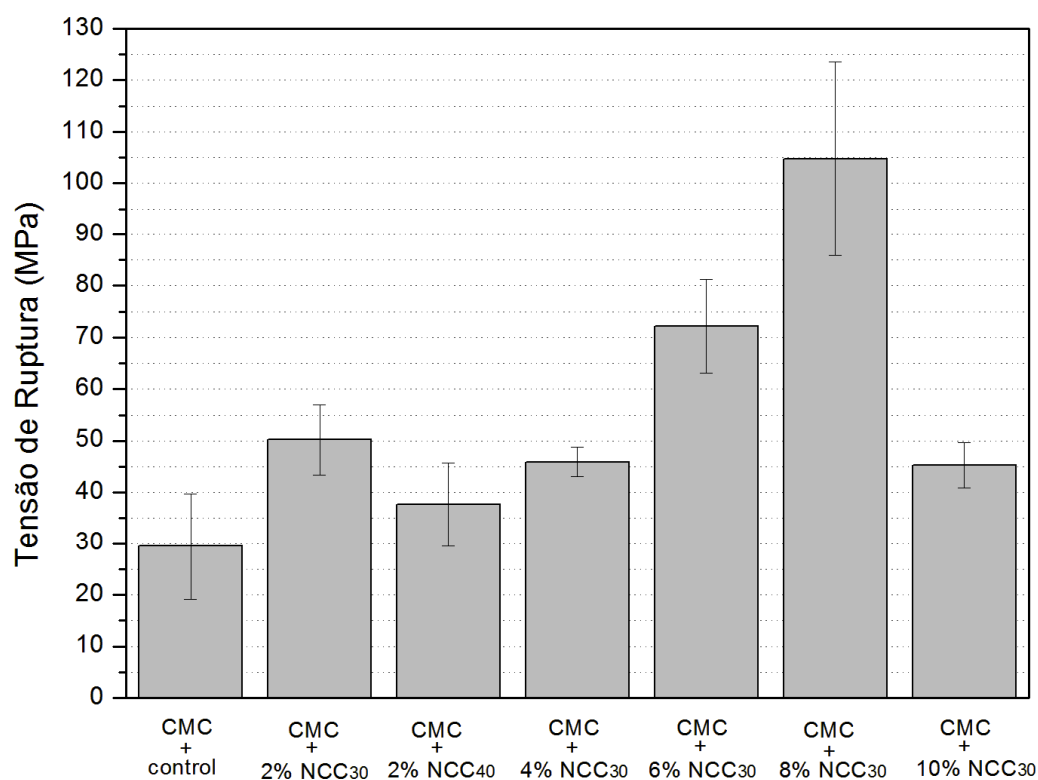


Figure 30. Gráfico da tensão de ruptura dos filmes produzidos.

O gráfico apresentado na figura 30, exibe o efeito do conteúdo de NCC sobre a tensão de ruptura dos filmes produzidos. Através do gráfico observa-se que para uma adição de 2% de NCC na matriz de CMC a resistência à ruptura aumentou 0,70 e 0,24 vezes (ou 70 e 24%) quando empregados os NCC₃₀ e NCC₄₀, respectivamente. Isso confirma que os NCC₃₀ possuem uma maior capacidade de reforço devido a sua maior cristalinidade e maior razão de aspecto. A tensão de ruptura aumentou com a adição da quantidade de NCC₃₀ até um nível de carga de 8%, provavelmente após esse nível de carga ocorreu acúmulo ou aglomeração dos NCC₃₀ na matriz e consequentemente a resistência à ruptura para o nível de carga de 10% foi menor do que para 8%. Para um nível de carga de 8% de NCC₃₀ a tensão de ruptura aumentou 2,56 vezes (ou 256%), este valor é maior do que o reportado para compósitos de NC de Polpa Kraft de *Eucalyptus urograndis* e matrix CMC, que para o mesmo nível de carga aumentou 0,65 vezes (ou 65%) (Flauzino Neto et al., No prelo). É importante ressaltar que neste outro estudo citado, os compósitos foram preparados de forma similar ao deste trabalho, mas houve um aumento progressivo da tensão de ruptura com o aumento de carga até um nível de 15% de NC (aumento na tensão de ruptura de 1,07 vezes ou 107%). Considerando que os NC produzidos a partir de Polpa Kraft tinham um ICr de 71% e razão de aspecto de aproximadamente 20 (Flauzino Neto et al., No prelo), a diferença no aumento da resistência à ruptura deve estar relacionada com a maior razão de aspecto apresentada pelos NCC₃₀. Os NCC₃₀ são agentes de reforço satisfatórios para a CMC, dado o grande aumento na tensão de ruptura apresentado pelos nanocompósitos em relação ao filme de CMC. Estas melhorias na resistência à ruptura dos filmes sugerem que há uma íntima associação entre carga e matriz. A utilização de NCC como agente de reforço é uma alternativa que pode expandir as aplicações comerciais dos filmes de CMC.

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho mostrou que NC podem ser isolados a partir de casca de soja. A purificação empregada foi eficaz e permitiu a obtenção de fibras com constituição adequada para a extração de NC (alto teor de α -celulose e pouca lignina). As condições de hidrólise utilizadas conduziram a obtenção de suspensões aquosas de NCC estáveis, devido a introdução de grupos sulfato na superfície dos NCC. A análise de FTIR indica que os NCC₃₀ possui um teor de celulose muito alto.

Através da difração de raios-x foi possível observar que houve formação de celulose do tipo II nos NCC, pois às condições de hidrólise utilizadas permitiram a re-precipitação de celulose. O aumento do tempo de extração (40 min), resultou numa diminuição nos comprimentos dos NCC e ainda causou alguns danos na estrutura cristalina da celulose. Para um tempo de extração de 30 min os NCC apresentaram formato acicular, cristalinidade elevada (73,5%), boa estabilidade térmica (temperatura inicial de degradação térmica de aproximadamente 170 °C), comprimento médio (L) de $122,7 \pm 39,4$ nm, diâmetro médio (D) de $2,77 \pm 0,67$ nm e razão de aspecto (L/D) em torno de 44. Neste estudo a análise por AFM mostrou ser uma alternativa a análise por TEM quando há dificuldade para avaliar se as estruturas nas micrografias de TEM são NC individuais ou NC lateralmente agregados. A estimativa do diâmetro médio dos NC a partir do difratograma de raios X pode ser útil para confirmar os resultados obtidos através dos métodos baseados em microscopia.

Através da avaliação da tensão de ruptura observou-se que os NCC₃₀ apresentaram uma maior capacidade de reforço do que os NCC₄₀. A tensão de ruptura aumentou com o aumento da quantidade de nanocristais até um nível de carga de 8%, acima desse nível de carga provavelmente ocorreu um acúmulo ou aglomeração dos nanocristais na matriz de CMC o que reduziu as propriedades mecânicas do compósito. Como mostrado, a adição de NCC₃₀ na CMC pode influenciar a dinâmica molecular do polímero resultando em alterações significativas no seu comportamento mecânico (aumento de até 2,6 vezes ou 256% na tensão de ruptura) e portanto pode maximizar o campo de aplicações deste polímero. Pode-se concluir destes resultados que os NC obtidos a partir de casca de soja tem um grande potencial para serem usados como agentes de reforço na produção de nanocompósitos. Através da produção de nanocristais de celulose de casca de soja neste trabalho foi agregado valor a um resíduo de biomassa vegetal que provém de um *commodity* agro-industrial

7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Para uma melhor compreensão da influência dos NCC na matrix de CMC poderiam ser feitos as seguintes medidas:

- Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC): Análise de transições térmicas dos materiais compósitos como temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c) e temperatura de fusão (T_m).
- Análise Termogravimétrica (TG): determinação da estabilidade térmica dos materiais compósitos como temperatura de degradação, através de medidas de variação de massa em função da temperatura.
- Resistência a Tração para determinação do módulo de Young e elasticidade na ruptura dos materiais compósitos.
- Análise Térmica-Dinâmico-Mecânica (DMTA): para análise das propriedades viscoelásticas dos materiais compósitos.
- Copo de Payne: para análise das propriedades de barreira dos compósitos frente ao vapor d'água.
- Espectroscopia na região Ultravioleta-visível: para análise da transmitância de luz através dos filmes compósitos produzidos.
- Também poderiam utilizar os NCC como reforço em matrizes poliméricas apolares e para tanto seria necessário modificar a superfície dos NCC para a compatibilização dos mesmos com matrizes apolares.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alemдар, A., Sain, M., 2008. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues - wheat straw and soy hulls. *Bioresource Technology* 99, 1664-1671.
- Angellier, H., Choïnard, L., Boisseau, S. M., Ozil, P., Dufresne, A., 2004. Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology. *Biomacromolecules* 5, 1545-1551.
- Angellier, H., Putaux, J. L., Boisseau, S. M., Ozil, P., Dufresne, A., 2005. Starch nanocrystal fillers in an acrylic polymer matrix. *Macromolecular Symposia* 221, 95-104.
- Angles, M.N., Dufresne, A., 2000. Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposites. Structural analysis. *Macromolecules* 33, 8344-8353.
- Araki, J., Wada, M., Kuga, S., Okano, T., 1998. Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 142, 75-82.
- Araki, J., Kuga, S., 2001. Effect of Trace Electrolyte on Liquid Crystal Type of Cellulose Microcrystals. *Langmuir* 17, 4493-4496.
- Azeredo, H. M. C., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., 2009. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. *Journal of Food Science* 74, N31-N35.
- Bai, W., Holbery, J., Li, K. C., 2009. A technique for production of nanocrystalline cellulose with a narrow size distribution. *Cellulose* 16, 455-465.
- Battista, O. A., Smith, P. A., 1962. Microcrystalline cellulose the oldest polymer finds new industrial uses. *Industrial and Engineering Chemistry* 54, 20-29.
- Beck-Candanedo, S., Roman, M., Gray, D. G., 2005. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules* 6, 1048-1054.
- Boluk, Y., Lahiji, R., Zhao, L., McDermott, M. T., 2011. Suspension viscosities and shape parameter of cellulose nanocrystals (CNC). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 377, 297-303.

Bondeson, D., Mathew, A., & Oksman, K., 2006. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis. *Cellulose* 13, 171–180.

Bondeson, D., Oksman, K., 2007. Polylactic acid/cellulose whisker nanocomposites modified by polyvinyl alcohol. *Composites Part A- Applied Science and Manufacturing* 38, 2486-2492.

Borysiak S., Garbarczyk. J., 2003. Applying the WAXS method to estimate the supermolecular structure of cellulose fibres after mercerization. *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 11, 104–106.

Browning, B. L. Methods of wood chemistry. New York/London/Sydney: Interscience Publishers, 1967. v. II.

Chen, G., Wei, M., Chen, J., Huang. J., Dufresne, A., Chang, P. R., 2008. Simultaneous reinforcing and toughening: New nanocomposites of waterborne polyurethane filled with low loading level of starch nanocrystals. *Polymer* 49, 1860-1870.

Chen, Y., Liu, C., Chang, P.R., Cao, x., Anderson, D.P., 2009. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. *Carbohydrate Polymers* 76, 607–615.

Choi, Y. J., Simonsen, J., 2006. Cellulose nanocrystal-filled carboxymethyl cellulose nanocomposites. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 6, 633-639.

Dalmas, F., Cavaillé, J.Y., Gauthier, C., Chazeau, L., Dendievel, R., 2007. Viscoelastic behavior and electrical properties of flexible nanofiber filled polymer nanocomposites. Influence of processing conditions. *Composites Science and Technology* 67, 829–39.

da Cruz, S. F. Síntese e caracterização da metilcelulose produzida a partir do caroço de manga para aplicação como aditivo em argamassas. 2011. 131p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2011.

de Almeida, E. V. R. Valorização da celulose de sisal: uso na preparação de acetatos e de filmes de acetatos de celulose/celulose e quitosana/celulose. 2009. 158p. Tese (Doutorado em Ciências - Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2009.

de Mesquita, J. P., Donnici, C. L., Pereira, F. V., 2010. Biobased nanocomposites from layer-by-layer assembly of cellulose nanowhiskers with chitosan. *Biomacromolecules* 11, 473-480.

de Mesquita, J. P. Nanocristais de celulose para preparação de bionanocompósitos com quitosana e carbonos nanoestruturados para aplicações tecnológicas e ambientais. 2012. 189p. Tese (Doutorado em Ciências - Química) – Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2012.

de Rodriguez, N. L. G., Thielemans, W., & Dufresne, A., 2006. Sisal cellulose whiskers reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. *Cellulose*, 13, 261–270.

de Souza, E. E. Síntese e caracterização de membranas de celulose regenerada a partir da celulose extraída do bagaço de cana-de-açúcar para produção de cuprofane. 2009. 73p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2009.

Dubief, D., Samain, E., Dufresne, A., 1999. Polysaccharide microcrystals reinforced amorphous poly(β -hydroxyoctanoate) nanocomposite materials. *Macromolecules* 32, 5765-5771.

Dufresne, A., Caville, J., Vignon, M., 1997. Mechanical behavior of sheets prepared from sugar beet cellulose microfibrils. *Journal of Applied Polymer Science* 64, 1185–1194.

Dufresne, A., 2003. Interfacial phenomena in nanocomposites based on polysaccharide nanocrystals. *Composite Interfaces* 10, 369–387.

Dufresne, A. Cellulose-based composites and nanocomposites. In: Gandini A., Belgacem M. N. (Eds.) Monomers, polymers and composites from renewable resources. Great Britain: Elsevier, 2008. p. 401-418.

D'almeida, M. L. O. Celulose e papel - Tecnologia de fabricação da pasta celulósica. 2ª ed. São Paulo: Departamento de Divulgação do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, 1988. v. I.

Eichhorn, S. J., Dufresne, A., Aranguren, M., Marcovich, N. E., Capadona, J. R., Rowan, S. J., 2010. Review: Current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *Journal of Materials Science* 45, 1–33.

Elazzouzi-Hafraoui, S., Nishiyama, Y., Putaux, J. L., Heux, L., Dubreuil, F., Rochas, C., 2008. The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose. *Biomacromolecules* 9, 57–65.

Fengel, D.; Wegener, G. Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Berlin/New York: Walter de Gruyter, 1989. 613p.

- Filson, P.B., Dawson-Andoh, B. E., 2009. Sono-chemical preparation of cellulose nanocrystals from lignocellulose derived materials. *Bioresource Technology* 100, 2259-2264.
- Flauzino Neto, W. P., Silvério, H. A., Dantas, N. O., Pasquini, D., 2013. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue - soy hulls. *Industrial Crops and Products* 42, 480-488.
- Flauzino Neto, W. P., Silvério, H. A., Vieira, J. G., Alves, H. C. S., Pasquini, D., Assunção, R. M. N., Dantas, N. O. **(No prelo)**. Preparation and characterization of nanocomposites of carboxymethyl cellulose reinforced with cellulose nanocrystals. *Macromolecular Symposia*.
- George, J., Ramana, K.V., Bawa, A.S., Siddaramaiah, 2011. Bacterial cellulose nanocrystals exhibiting high thermal stability and their polymer nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules* 48, 50-57.
- Habibi, Y.; Chanzy, H.; Vignon, M. R., 2006. TEMPO-mediated surface oxidation of cellulose whiskers. *Cellulose* 13, 679-687.
- Habibi, Y., Goffin, A. L., Schiltz, N., Duquesne, E., Dubois, P., Dufresne, A., 2008. Bionanocomposites based on poly(epsilon-caprolactone)-grafted cellulose nanocrystals by ring-opening polymerization. *Journal of Materials Chemistry* 18, 5002-5010.
- Habibi, Y., Lucia, L. A., Rojas, O. J., 2010. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews* 110, 3479-3500.
- Hayashi, N., Kondo, T., Ishihara, M., 2005. Enzymatically produced nano-ordered short elements containing cellulose I β crystalline domains. *Carbohydrate Polymers* 61, 191–197.
- Heux, L., Chauve, G., Bonini, C., 2000. Nonflocculating and chiral-nematic self-ordering of cellulose microcrystals suspensions in nonpolar solvents. *Langmuir* 16, 8210-8212.
- Ipharraguerre, I. R., Clark, J. H., 2003. Soyhulls as an Alternative Feed for Lactating Dairy Cows: A Review. *Journal Dairy Science* 86, 1052-1073.
- Jean, B.; Dubreuil, F.; Heux, L.; Cousin, F., 2008. Structural details of cellulose nanocrystals/polyelectrolytes multilayers probed by neutron reflectivity and AFM. *Langmuir* 24, 3452–3458.

Jiang, B., Liu, C., Zhang, C., Wang, B., Wang, Z., 2007. The effect of non-symmetric distribution of fiber orientation and aspect ratio on elastic properties of composites. *Composites Part B - Engineering* 38, 24–34.

John, M. J., Thomas, S., 2008. Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers* 71, 343-364.

Kalia, S., Dufresne, A., Cherian, B. M., Kaith, B. S., Avérous, L., Njuguna, J., Nassiopoulos, E., 2011. Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review. *International Journal of Polymer Science* 2011, 1-35.

Klem, D., Heublein, B., Fink, H., Bohn, A., 2005. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable raw material. *Angewandte Chemie-International Edition* 44, 3358-3393.

Klug, H. P.; Alexander, L. E. In *X-Ray Diffraction Procedures for Polycrystalline and Amorphous Materials*; Wiley Interscience: New York, 1954, p. 491.

Kvien, I., Tanem, B. S., Oksman, K., 2005. Characterization of cellulose whiskers and their nanocomposites by atomic force and electron microscopy. *Biomacromolecules* 6, 3160–3165.

Lahiji, R. R., Xu, X., Reifenberger, R., Raman, A., Rudie, A., Moon, R. J., 2010. Atomic force microscopy characterization of cellulose nanocrystals. *Langmuir* 26, 4480-4488.

Li, R., Fei, J., Cai, Y., Li, Y., Feng, J., Yao, J., 2009. Cellulose whiskers extracted from mulberry: a novel biomass production. *Carbohydrate Polymers* 76, 94–99.

Li, W., Wang, R., Liu, S., 2011. Nanocrystalline cellulose prepared from softwood kraft pulp via ultrasonic-assisted acid hydrolysis. *BioResources* 6, 4271-4281.

Lima, M. M. S., Borsali, R., 2004. Rodlike cellulose microcrystals: structure, properties, and applications. *Macromolecular Rapid Communications* 25, 771–787.

Liu, H., Liu, D., Yao, F., Wu, Q., 2010. Fabrication and properties of transparent polymethylmethacrylate/cellulose nanocrystals composites. *Bioresouce Technology* 101, 5685-5692.

Lu, P., Hsieh, Y., 2010. Preparation and properties of cellulose nanocrystals: Rods, spheres, and network. *Carbohydrate Polymers* 82, 329-336.

- Man, Z., Muhammad, N., Sarwono, A., Bustam, M. A., Kumar, M. V., Rafiq, S., 2011. Preparation of Cellulose Nanocrystals Using an Ionic Liquid. *Journal of Polymers and the Environment* 19, 726-731.
- Maren, R., William, T. W., 2004. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules* 5, 1671–1677.
- Martínez-Sanz, M., Lopez-Rubio, A., Lagaron, J. M., 2011. Optimization of the nanofabrication by acid hydrolysis of bacterial cellulose nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers* 85, 228-236.
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youghblood, J., 2011. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews* 40, 3941-3994.
- Morán, J. I., Alvarez, V. A., Cyras, V. P., & Vázquez, A., 2008. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose* 15, 149–159.
- Moreira, F. K. V. Desenvolvimento de nanocomósitos poliméricos biodegradáveis a partir de pectina, amido e nanofibras de celulose. 2010. 213p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2010.
- Morin, A., Dufresne, A., 2002. Nanocomposites of chitin whiskers from *Riftia* tubes and poly(caprolactone). *Macromolecules* 35, 2190-2199.
- Mutjé, P., Lopez, A., Vallejos, M.E., Lopez, J.P., Vilaseca, F., 2007. Full exploitation of *Cannabis sativa* as reinforcement/filler of thermoplastic composite materials. *Composites Part A Applied Science and Manufacturing* 38, 369–77.
- Nguyen, T., Zavarin, E., Barrall, E. M., 1981. Thermal-analysis of lignocellulosic materials. Part 1: Unmodified materials. *Journal of Macromolecular Science, Part C – Polymer Reviews* 20, 1–65.
- Oksman, K., Mathew, A. P., Bondeson, D. Kvien, I., 2006. Manufacturing process of cellulose whiskers/polylactic acid nanocomposites. *Composites Science and Technology* 66, 2776-2784.
- O’Sullivan, A. C., 1997. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose* 4, 173–207.
- Pasquini, D. Polpação organossolve/dióxido de carbono supercrítico de bagaço de cana-de-açúcar. 2004. 197p. Tese (Doutorado em Ciências - Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2004.

Peng, B. L.; Dhar, N., Liu, H. L., Tam, K. C., 2011. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 9999, 1-16.

Purkait, B. S., Ray, D., Sengupta, S., Kar, T., Mohanty, A., Misra, M., 2011. Isolation of Cellulose Nanoparticles from Sesame Husk. *Industrial Engineering Chemistry Research* 50, 871-876.

Roman, M., Winter, W. T., 2004. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules* 5, 1671–1677.

Rosa, M.F., Medeiros, E.S., Malmonge, J.A., Gregorski, K.S., Wood, D.F., Mattoso, L.H.C., Glenn, G., Orts, W.J., Imam, S.H., 2010. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers* 81, 83–92.

Rouilly, A., Rigal, L., 2002. Agro-materials: a bibliographic review. *Journal of Macromolecular Science Part C - Polymer Reviews* C42, 441-479.

Rusli, R., Shanmuganathan, K., Rowan, S. J., Weder, C., Eichhor, S. J., 2011. Stress transfer in cellulose nanowhisker composites - Influence of whisker aspect ratio and surface charge. *Biomacromolecules* 12, 1363-1369.

Sain, M., Panthapulakkal, S., 2006. Bioprocess preparation of wheat straw fibers and their characterization. *Industrial Crops and Products* 23, 1–8.

Samir, M. A. S. A., Alloin, F., Dufresne, A., 2005. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules* 6, 612-626.

Satyamurthy, P., Jain, P., Balasubramanya, R. H., Vigneshwaran, N., 2011. Preparation and characterization of cellulose nanowhiskers from cotton fibres by controlled microbial hydrolysis. *Carbohydrate Polymers* 83, 122-129.

Scherrer, P., 1918. Estimation of the size and internal structure of colloidal particles by means of röntgen. *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen* 2, 96-100.

Segal, L., 1959. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal* 29, 786-794.

Shi, J., Shi, S. Q., Barnes, H. M., Pittman, C. U. Jr., 2011. A chemical process for preparing cellulosic fibers hierarchically from kenaf bast fibers. *Bioresources* 6, 879-890.

Silva, D. C., Kazama, R., Faustino, J. O., Zambom, M. A., Santos, G. T. dos, Branco, A. F., 2004. Digestibilidade in vitro e degradabilidade in situ da casca do grão de soja, resíduo de soja e casca de algodão. *Acta Scientiarum* 26, 501-506.

Silva, D. J., D'Almeida, M. L. O., 2009. Cellulose Whiskers. *O Papel* 70, 34-52.

Silva, R., Haraguchi, S. K., Muniz, E. C., Rubira, A. F., 2009. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. *Química Nova* 32, 661-671.

Siqueira, G., Bras, J., Dufresne, A., 2009. Cellulose Whiskers versus Microfibrils: Influence of the Nature of the Nanoparticle and its Surface Functionalization on the Thermal and Mechanical Properties of Nanocomposites. *Biomacromolecules* 10, 425-432.

Siqueira, G., Abdillahi, H., Bras, J., Dufresne, A., 2010a. High reinforcing capability cellulose nanocrystals extracted from *Syngonanthus nitens* (Capim Dourado). *Cellulose* 17, 289-298.

Siqueira, G., Bras, J., Dufresne, A., 2010 b. Luffa cylindrical as lignocellulosic source of fiber, microfibrillated cellulose, and cellulose nanocrystals. *Bioresources* 5(2), 727-740.

Šturcová, A., Davies, G.R., Eichhorn, S. J., 2005. Elastic modulus and stress-transfer properties of tunicate cellulose whiskers. *Biomacromolecules* 6, 1055–1061.

Sun, X.F., Xu, F., Sun, R.C., Fowler, P., Baird, M.S., 2005. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. *Carbohydrate Research* 340, 97–106.

Tang, L., Weder, C., 2010. Cellulose whisker/epoxy resin nanocomposites. *Applied Materials & Interfaces* 2, 1073-1080.

Teixeira, E. M., Pasquini, D., Curvelo, A. A. S., Corradini, E., Belgacem, M. N., Dufresne, A., 2009. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. *Carbohydrate Polymers* 78, 422–431.

Teixeira, E. M., Corrêa, A. C., Manzoli, A., Leite, F. L., Oliveira, C. R., Mattoso, L. H. C., 2010a. Cellulose nanofibers from white and naturally colored cotton fibers. *Cellulose* 17, 595-606.

Teixeira, E. M., Oliveira, C. R., Mattoso, L. H. C., Corrêa, A. C., Paladin, P. D., 2010b. Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida. *Polímeros* 20, 264-268.

Teixeira, E. M., Bondancia, T. J., Teodoro, K. B. R., Corrêa, A. C., Marconcini, J. M., Mattoso, L. H. C., 2011. Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations. *Industrial Crops and Products* 33, 63-66.

Terech, P., Chazeau, L., Cavaille, J. Y., 1999. A small-angle scattering study of cellulose whiskers in aqueous suspensions. *Macromolecules* 32, 1872-1875.

Wang, B., Sain, M., 2007. Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. *Composites Science and Technology*, 67, 2521-2527.

Wang, B., Sain, M., Oksman, K., 2007a. Study of structural morphology of hemp fiber from the micro to the nanoscale. *Applied Composite Materials* 14, 89–103.

Wang, N., Ding, E., Cheng, R., 2007b. Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups. *Polymer* 48, 3486-3493

Xiang, Q., Lee, Y. Y., Pettersson, P. O., Torget, R. W., 2003. Heterogeneous aspects os acid hydrolysis of α -cellulose. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 107, 505-514.

Xiao, B., Sun, X.F., Sun, R.C., 2001. Chemical, structural, and thermal characterization of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw. *Polymer Degradation and Stability* 74, 307–319.

Zambom, M. A., Santos, G. T., Modesto, E. C., Alcalde, C. R., Gonçalves, G. D., Silva, D. C., Silva, K. T., Faustino, J. O., 2001. Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. *Acta Scientiarum* 23, 937-943.

http://www.bndes.gov.br/arqs/corredor_bioceanico/Produto%20A%20Parte%20IB.pdf

9. ANEXOS

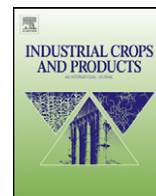
9.1. Anexo a) Artigo publicado

Flauzino Neto, W. P., Silvério, H. A., Dantas, N. O., Pasquini, D., 2013. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue - soy hulls. *Industrial Crops and Products* 42, 480-488.

9.2. Anexo b) Artigo aceito para publicação

Flauzino Neto, W. P., Silvério, H. A., Vieira, J. G., Alves, H. C. S., Pasquini, D., Assunção, R. M. N., Dantas, N. O. **(No prelo)**. Preparation and characterization of nanocomposites of carboxymethyl cellulose reinforced with cellulose nanocrystals. *Macromolecular Symposia*.

Anexo a)



Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue – Soy hulls

Wilson Pires Flauzino Neto^a, Hudson Alves Silvério^a, Noélio Oliveira Dantas^b, Daniel Pasquini^{a,*}

^a Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Santa Mônica, Av. João Naves de Ávila, 2121, 38400-902 Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

^b Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Santa Mônica, Av. João Naves de Ávila, 2121, 38400-902 Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 April 2012

Received in revised form 14 June 2012

Accepted 26 June 2012

Keywords:

Cellulose nanocrystals

Soy hulls

Agro-industrial residue

Reinforcement

Nanocomposites

ABSTRACT

Soy hulls are an agro-industrial residue available in huge quantities throughout the world whose application deserves more attention than simply as cattle feed. This work evaluates the use of soy hulls as a source of cellulose to obtain nanocrystals by acid hydrolysis. The hydrolysis was performed at 40 °C for 30 or 40 min, using 30 mL of H₂SO₄ 64% for each gram of cellulose. The resulting nanocrystals were characterized by crystallinity index, morphology, surface charge and thermal stability. The results showed that the more drastic hydrolysis conditions (40 min) resulted in a shorter length of nanocrystals and caused some damage on the crystalline structure of the cellulose. At an extraction time of 30 min, the nanocrystals presented a high crystallinity (73.5%), an average length of 122.66 ± 39.40 nm, a diameter of 2.77 ± 0.67 nm and an aspect ratio around 44, therefore presenting a great potential as reinforcement in nanocomposite preparations.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Given the problems involved in plastic recycling and the dwindling exhaustion of fossil resources, there is a great interest in sustainable and environmentally friendly materials. As a result, in recent years, the development of biopolymers for applications in which synthetic polymers or mineral fillers are traditionally used, has been the object of intensive academic and industrial research (Angellier et al., 2005). In this context, the application of cellulose nanocrystals (CWs) as reinforcement in polymer matrixes has attracted considerable attention in this field since it offers a unique combination of high physical properties and environmental benefits (Habibi et al., 2010; Peng et al., 2011). CWs based nanocomposites generally exhibit significant improvements in thermal, mechanical, and barrier properties compared to the neat polymer or conventional composites (Azeredo et al., 2009).

Cellulose nanocrystals are needle-shaped cellulose particles with at least one dimension equal or less than 100 nm and have a highly crystalline nature (almost defect-free crystallites). In the literature, there are different terms to denominate these nanoparticles, e.g. cellulose nanowhiskers, cellulose whiskers, cellulose crystallites, cellulose crystals, cellulose nanocrystals, nanocrystalline cellulose, cellulose monocystals and cellulose

microcrystals (Lima and Borsali, 2004; Peng et al., 2011; Shi et al., 2011).

The main features that stimulate the use of CWs as polymer reinforcement agents are their large specific surface area (estimated to be several hundreds of m² g⁻¹), their very high modulus of elasticity (approximately 150 GPa), their great aspect ratio, and their ability to act as a significant reinforcement at low filler loading levels. Other attractive advantages of CWs are their low density (about 1.566 g/cm³), non-abrasive nature, non-toxic character, biocompatibility and biodegradability. Additionally, the CWs come from renewable natural sources which are very abundant and therefore low-costing, it is not necessary to synthesize them, and they allow the production of composites films with excellent visible light transmittance which are easily modified chemically (their structure has a reactive surface of –OH side groups that facilitate grafting chemical species to achieve different surface properties) (Moon et al., 2011; Peng et al., 2011).

Among the several methods for preparing cellulose nanostructures, the acid hydrolysis is the most well-known and widely used (Peng et al., 2011). This process breaks the disordered and amorphous parts of the cellulose, releasing single and well-defined crystals. Thus, this procedure to isolate CWs is based on the quicker hydrolysis kinetics presented by the amorphous regions, as compared to the crystalline ones (Habibi et al., 2010; Peng et al., 2011; Teixeira et al., 2011).

Regarding extraction by acid hydrolysis, the temperature and the time of reaction, acid nature, acid concentration and the acid-to-cellulose ratio are also important parameters that affect the

* Corresponding author. Tel.: +55 34 3239 4143; fax: +55 34 3239 4208.

E-mail addresses: danielpasquini2005@yahoo.com.br, pasquini@iqufu.ufu.br (D. Pasquini).

morphology and properties of CWs (Habibi et al., 2010; Peng et al., 2011; Teixeira et al., 2011).

It is known that the morphology and properties of the CWs influence their performance as a reinforcing agent (Eichhorn et al., 2010). It is also known that the morphology and properties of the CWs depend mainly on the source of the original cellulose and the extraction process (Moon et al., 2011; Peng et al., 2011). Therefore, the performance of the CWs as reinforcing particles is dependent on the source of the original cellulose. Thus, the development of CWs from different resources of cellulose is relevant.

Soy is one of the main agricultural products in the world. Brazil stands as the second largest producer of soybeans, accounting for 28% of the world production (http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?cod_pai=2&op_page=294). The oil and protein constituents of soybeans are the main income generators in soy plants and consequently little attention is paid to the applications of soy hulls (Alemdar and Sain, 2008). Soy hulls are obtained in the soybean oil extraction process since it is necessary to remove the film coating the grain for the oil extraction. For each ton of soy seed processed, about 2% of the total mass matches the by-product in question (Zambom et al., 2001). At present, some soy hulls are used as a fiber source for cattle, however, huge amounts of soy hulls are left to waste (Alemdar and Sain, 2008; Ipharraguerre and Clark, 2003).

Soy hulls are an agro-industrial waste available in huge quantities in many countries, including Brazil, which deserves to be used in other different applications. Although there is not yet any published work on the extraction of CWs from soy hulls fiber, in the literature can be found papers on extraction of cellulose nanofibers from soy hulls and soybean pod (another residue generated from the soy crop activity) (Alemdar and Sain, 2008; Wang and Sain, 2007).

The use of biomass residues for projects other than feedstock, such as in the production of high performance materials, is a prospective commercial application that would unlock the potential for a generation of value-added products from agro-industrial commodities (Alemdar and Sain, 2008; Purkait et al., 2011). Various cellulosic resources have been used by researchers to generate CWs, but the use of agro-waste as a precursor is very rare (Purkait et al., 2011).

In the present paper, CWs were extracted and characterized from soy hulls by acid hydrolysis in order to evaluate their suitability as a reinforcement agent for the manufacture of nanocomposites. Different techniques were employed to characterize the fibers and cellulose nanocrystals of soy hulls in order to investigate the chemical composition, crystallinity index, thermal stability, surface charge and morphology (shape and size).

2. Materials and methods

The soy hulls were supplied by Algar Agro S. A. (Uberlândia, Minas Gerais, Brazil). The other reagents employed in this study were: sulfuric acid (95.0–98.0 wt%, Vetec, P.A.), sodium hydroxide (Vetec), potassium hydroxide (Vetec), sodium chlorite (NaClO_2 , technical grade, 80%, Sigma–Aldrich), glacial acetic acid (Synth), and cellulose membrane (D9402, Sigma–Aldrich).

2.1. Purification

Initially the soy hulls (SH) were treated with a sodium hydroxide aqueous solution of 2% (w/w) for 4 h at 100 °C under mechanical stirring and then washed several times with distilled water until the alkali was completely removed, and finally dried at 50 °C for 12 h in an air-circulating oven. After this treatment, the fibers were bleached with a solution made up of equal parts (v:v) of acetate

buffer (27 g NaOH and 75 mL glacial acetic acid, diluted to 1 L of distilled water) and aqueous sodium chlorite (1.7 wt% NaClO_2 in water). This bleaching treatment was performed at 80 °C for 4 h. The bleached fibers were washed repeatedly in distilled water until the pH of the fibers became neutral and subsequently dried at 50 °C for 12 h in an air-circulating oven. The fiber content throughout these chemical treatments was about 4–6% (w/w) (de Rodriguez et al., 2006; Siqueira et al., 2010). The material which resulted after the purification was the treated soy hulls (TSH).

2.2. Extraction of cellulose nanocrystals

After the chemical treatment was completed, the TSH were milled with a blender and passed through a 35-mesh screen and then used for the extraction of nanocrystals by acid hydrolysis. The hydrolysis was performed at 40 °C for 30 min or 40 min under vigorous and constant stirring. For each gram of TSH we used 30 mL of H_2SO_4 64% (w/w). Immediately following the hydrolysis, the suspension was diluted 10-fold with cold water to stop the hydrolysis reaction, and centrifuged twice for 10 min at 7000 rpm to remove the excess acid. The precipitate was then dialyzed with tap water to remove non-reactive sulfate groups, salts and soluble sugars, until the neutral pH (5–7 days) be reached. Subsequently, the resulting suspension of dialysis process was treated using a disperser type UltraTurrax for 5 min at 20,000 rpm and sonicated for 5 min. The colloidal suspension was stored in a refrigerator at 4 °C with the addition of some drops of chloroform to avoid any bacterial growth. The cellulose nanocrystals or whiskers of soy hulls were labeled WSH₃₀ or WSH₄₀ depending on the time of extraction.

2.3. Gravimetric analysis

The hydrolysis yield and the WSH concentration in the final suspension were calculated drying an aliquot of the suspension with a known volume at 105 °C for 12 h in an air-circulating oven.

2.4. Chemical composition

The chemical composition of SH and TSH was measured as follows. The lignin content was determined according to a standard method of Technical Association of Pulp and Paper Industry TAPPI T222 om-88. The holocellulose (α -cellulose + hemicellulose) content was estimated by the acid chlorite method (Browning, 1967). The α -cellulose content was determined treating the holocellulose with potassium hydroxide solutions (Browning, 1967). The hemicellulose content was found by subtracting the α -cellulose part from the holocellulose content. An average of three replicates was calculated for each sample.

2.5. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

A Shimadzu IRPrestige-21 infrared spectrophotometer was used to obtain spectra for the SH, TSH and WSH₃₀. The KBr disk (ultra-thin pellets) method was used in taking the IR spectra. Samples were ground and mixed with KBr (sample/KBr ratio, 1/100) to prepare pastilles. The experiments were carried out using in the range of 400–4000 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and a total of 32 scans for each sample.

2.6. Elemental analysis

Elemental analysis was performed mainly to determine the total sulfur content before and after the extraction of nanocrystals. It was carried out with an EA1110-CHNS/O elemental analyzer from CE Instruments.

2.7. X-ray diffraction (XRD)

The X-ray diffractograms of SH, CSH, WSH₃₀ and WSH₄₀ were obtained at room temperature within a 2θ range from 5 to 40° and a scan rate of 1° min⁻¹. The equipment used was a diffractometer Shimadzu LabX XRD-6000, operating at a power of 40 kV with a current of 30 mA and Cu K α radiation (1.5406 Å). Before performing the XRD, all samples were dried at 50 °C for 12 h in an air-circulating oven. The crystallinity index (Crl) of the material was determined by the Segal method (Segal, 1959) as shown in Eq. (1):

$$\text{Crl} = \left[\frac{(I_{002} - I_{\text{am}})}{I_{002}} \right] \times 100 \quad (1)$$

In this equation, Crl expresses the relative degree of crystallinity, I_{002} is the intensity of the 002 lattice diffraction at $2\theta = 22.8^\circ$, and I_{am} is the intensity of diffraction at $2\theta = 18^\circ$. I_{002} represents both crystalline and amorphous regions while I_{am} represents only the amorphous part.

The average thickness of cellulose crystallites was estimated from the X-ray diffraction patterns by using Scherrer's Eq. (2) (Klug and Alexander, 1974):

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\beta_{1/2} \cos \theta} \quad (2)$$

where D_{hkl} is the crystallite dimension in the direction normal to the hkl family of lattice planes, K is the correction factor and usually taken to be 0.9, λ is the radiation wavelength, θ is the diffraction angle and $\beta_{1/2}$ is the peak width at half maximum intensity. The crystal size was determined perpendicular to the 002 planes. Before plotting, data were smoothed over 35 adjacent points and then normalized, so that the main peaks had the same y-axis values and could be compared directly.

2.8. Scanning electron microscopy (SEM)

The morphology of TSH was evaluated by SEM on a JEOL JSM-7500F microscope. A sample was coated with a 1–10-nm-thick carbon layer and then observed with an accelerating voltage of 2–10 kV.

2.9. Transmission electron microscopy (TEM)

The morphology of WSH₃₀ and WSH₄₀ were examined by TEM in a Zeiss EM 109 transmission electron microscope equipped with a system for digital image capture Olympus MegaView V. A drop of diluted nanocrystals aqueous suspension was deposited on a Cu microgrid (200 mesh) and allowed to dry. The grid was negatively stained with a 3% (w/w) solution of uranyl acetate and dried at room temperature. The sample was observed at 80 kV. The dimensions of whiskers were determined using digital image analyses (ImageJ). A hundred nanocrystals were randomly selected and a minimum of 100 and 200 measurements were used to determine the average length and the diameter, respectively.

2.10. Atomic force microscopy (AFM)

The AFM measurements were performed with Shimadzu SPM-9600 equipment for evaluating the thickness of the WSH₃₀. A drop of diluted nanocrystals aqueous suspension was deposited onto a freshly cleaved mica surface and air-dried. AFM images were obtained at room temperature in the dynamic mode with a scan rate of 1 Hz and using Si tips with a curvature radius of less than 10 nm and a spring constant of 42 N m⁻¹. The thicknesses of nanocrystals were determined using the VectorScan software (software for Shimadzu's SPM-9600). To eliminate the effect of tip radius on width measurements, we measured the heights of the nanocrystals,



Fig. 1. Images of soy hulls before (left) and after the purification (right).

which are not subject to peak broadening artifacts, and assumed the nanocrystals to be cylindrical in shape (Beck-Candanedo et al., 2005). A hundred nanocrystals were randomly selected and two measurements for each nanocrystal were used to determine the average thickness.

2.11. Thermal characterization

Thermal stabilities of SH, TSH and WSH₃₀ were evaluated using Shimadzu DTG-60H equipment. The analysis conditions were: a nitrogen atmosphere with flow 30 mL min⁻¹, heating rate of 10 °C min⁻¹, temperature range 25–600 °C, sample mass between 5 and 7 mg and aluminum pans.

3. Results and discussion

3.1. Purification and chemical composition

A diluted alkali treatment was performed to solubilize the lignin, pectins, hemicelluloses and proteins (Dufresne et al., 1997), while the bleaching was applied to remove the lignin residues (de Rodriguez et al., 2006). The yield of purification was 46% (by dry mass). Fig. 1 shows the physical aspect of the SH before and after purification (TSH). Visually, a white colored TSH was obtained, indicating that a great part of the initial non-cellulosic components were removed by purification process, consequently TSH have higher cellulose content than SH.

The contents of the cellulose were $48.2 \pm 2.1\%$ and $84.6 \pm 4.0\%$, of the hemicelluloses were $24.0 \pm 3.0\%$ and $11.2 \pm 4.0\%$, and lignin were $5.78 \pm 1.06\%$ and $3.67 \pm 0.33\%$, for SH and TSH, respectively. The values found for the main constituents of SH are in agreement with literature data (Ipharraguerre and Clark, 2003; Zambom et al., 2001).

The sum of the percentage of cellulose, hemicelluloses and lignin to the SH corresponds to 78.0% of the total dry matter, showing that there are other components in SH (e.g. protein, extractives and ash). As showed above, after the purification, the cellulose content significantly increased, while the hemicelluloses content was reduced to approximately half of the original, and the lignin content was reduced to approximately two-third of the original.

The sum of the percentage of cellulose, hemicelluloses and lignin to the TSH corresponds to 99.5% of the total dry matter, therefore the purification not only removed hemicelluloses and lignin but also other components such as proteins, extractives and ash. The purification process was effective so the composition of TSH is suitable for the extraction of whiskers. It was verified that the percentage of mass consumption of the main components of the SH due to the purification process was 19.3, 78.3 and 56.0% for α -cellulose, hemicelluloses and lignin, respectively. The mass loss of

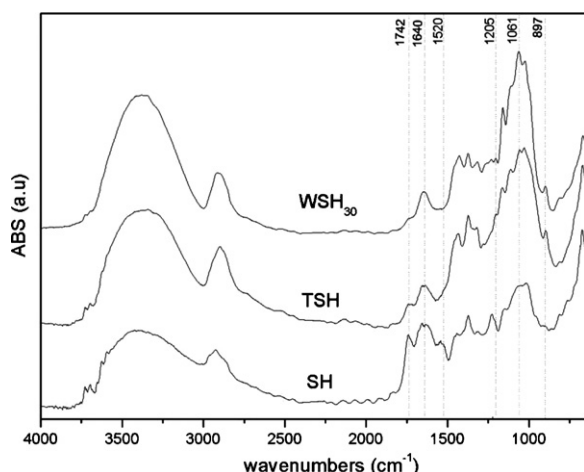


Fig. 2. FTIR spectra of untreated soy hulls (SH), treated soy hulls (TSH) and cellulose nanocrystals of soy hulls obtained by acid hydrolysis of 30 min (WSH₃₀).

cellulose during the purification process can be related to two factors: (i) the breakdown of cellulose chains during bleaching and (ii) the loss of material inherent in various filtering processes and mass transfer.

Fig. 2 shows the FTIR spectra of SH, TSH and WSH₃₀. The peak at 1742 cm⁻¹ in the spectrum of SH is attributed to the acetyl and uronic ester groups of hemicellulose or the ester linkage of carboxylic group of ferulic and p-coumaric acids of lignin and/or hemicelluloses (Sun et al., 2005). This peak decreased in the spectrum of TSH due to the significant removal of hemicelluloses and lignin, and finally almost disappeared in the spectra of WSH₃₀ because of acid extraction.

The peak at 1640 cm⁻¹ is assigned to the absorbed water. Although the peak at 1630 cm⁻¹ in SH and TSH may be from the water, we believe that it was predominantly attributed to the aromatic C=C stretch of aromatic ring in the lignin (Sun et al., 2005). The contribution from the absorbed water predominates in the case of WSH₃₀.

The broad peak at 1520 cm⁻¹ in the spectra of SH and TSH are indicative of the presence of lignin and attributed to the C=C vibration (Sun et al., 2005). This peak disappeared in WSH₃₀, further indicating the removal of the corresponding groups from lignin. The tiny peak at 1205 cm⁻¹ in the spectra of WSH₃₀ is related to S=O vibration, due the esterification reaction, as reported in previous literature (Lu and Hsieh, 2010).

The peaks at 1061 and 897 cm⁻¹ are associated with cellulose the C–O stretching and C–H rock vibrations of cellulose (Alemdar and Sain, 2008), which appeared in all of the spectra. The growth of these peaks showed the increase in the percentage of cellulosic components. The differences in the spectra of TSH and WSH₃₀ indicate that these samples have higher cellulose content, suggesting that they are almost pure cellulose.

3.2. Extraction of cellulose nanocrystals and elemental analysis

The yields of the WSH, with respect to the initial amount of dried TSH fibers, for WSH₃₀ and WSH₄₀ were 20 and 8 wt%, respectively; these values were similar to those found to sesame husk nanocrystals (Purkait et al., 2011). The concentration of the final suspensions of WSH₃₀ and WSH₄₀ were 2.3431 and 0.9198 g L⁻¹, respectively. The lower concentration of WSH₄₀ suspension with respect to WSH₃₀ gave an initial evidence of cellulose degradation using 40 min for acid hydrolysis.

Elemental analysis revealed that the concentration of negatively charged sulfate groups in TSH, WSH₃₀ and WSH₄₀ are

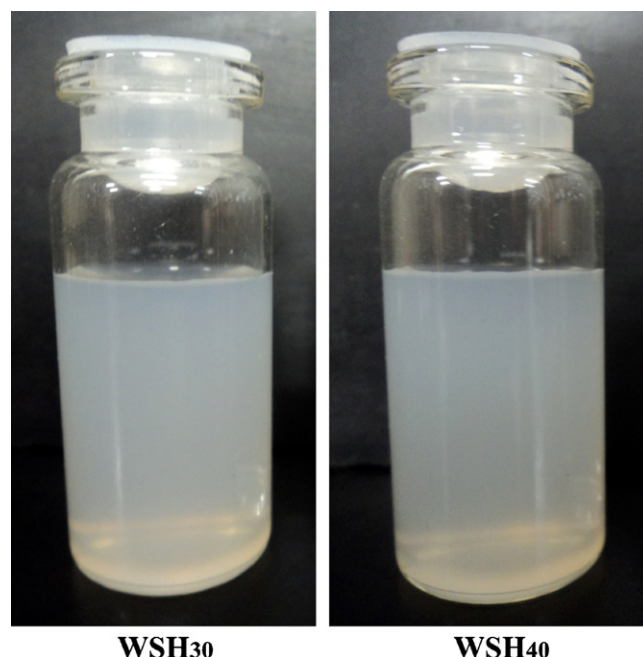


Fig. 3. The resulting colloidal suspensions for WSH₃₀ and WSH₄₀.

0, 118 and 111 mmol SO₄⁻ kg⁻¹ of cellulose, respectively. These results confirm the incorporation of sulfate groups into the cellulose chains after acid treatment and also that both hydrolysis conditions used led to obtaining homogeneous and stable aqueous suspensions (as can be seen in Fig. 3). It is known that the increase of extraction time results in higher sulfate content in the CWs, however, the sulfate content was higher for WSH₃₀ than for WSH₄₀. Probably, this unexpected behavior is associated with the lack of a strict control of the dialysis time, since the dialysis promotes the desulfation on the nanocrystals surfaces (Wang et al., 2007). The presence of the sulfate groups in WSH₃₀ was also confirmed by the FTIR, as showed in Fig. 2 and discussed earlier.

3.3. X-ray diffraction

The X-ray diffraction patterns of SH, TSH, WSH₃₀ and WSH₄₀ are shown in Fig. 4. These patterns are typical of semicrystalline

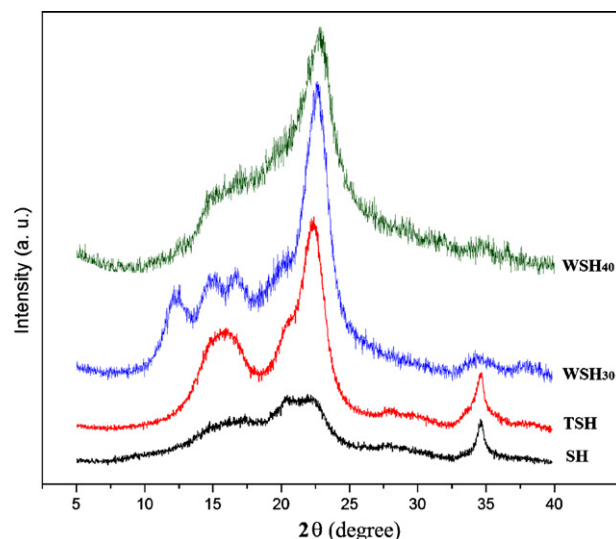


Fig. 4. X-ray diffractograms of SH, TSH, WSH₃₀ and WSH₄₀.

materials with an amorphous broad hump and crystalline peaks. From these data, the CrI was determined using the procedure described in Section 2. By this method, the CrI was found to be about 26.3, 67.2, 73.5 and 64.4% for the SH, TSH, WSH₃₀ and WSH₄₀, respectively.

The higher CrI value of TSH compared to SH can be well understood by the reduction and removal of amorphous non-cellulosic compounds induced by the alkali and bleaching treatments performed in the purification process. The increase in CrI value of WSH₃₀ in relation to TSH was also observed, due to the partial removal of the para-crystalline domains during the acid hydrolysis. In Fig. 4, narrower and sharper peaks for WSH₃₀, can be observed because of their higher crystallinity compared to other samples.

A decrease in CrI of WSH₄₀ with respect to WSH₃₀ and TSH was observed, and this suggests that the extraction time of 40 min was severe under the hydrolysis conditions employed, therefore the acid treatment of 40 min not only removed the amorphous portion of cellulose but also partly destroyed the crystalline ones. A similar effect of a hydrolysis time in excess was observed in a previous study (Teixeira et al., 2011; Chen et al., 2009).

In all diffractograms profiles (Fig. 4), there is a predominance of type I cellulose, verified by the presence of peaks at $2\theta = 15^\circ$ (plane 101), 17° (plane 10 $\bar{1}$), 21° (plane 021), 23° (plane 002) and 34° (plane 004), though the diffraction patterns of WSH₃₀ and WSH₄₀ display a mixture of polymorphs of cellulose I and cellulose II. The presence of cellulose type II can be observed by peaks at $2\theta = 12^\circ$ (plane 101), 20° (plane 10 $\bar{1}$) and 22° (plane 002) (Borysiak and Garbarczyk, 2003).

Possibly the presence of cellulose type II is associated to the re-precipitation of cellulose after hydrolysis, since a 64% sulfuric acid solution can be a solvent for cellulose. The samples of WSH should have about the same amount of cellulose type II, however, the sample WSH₄₀ (that has the higher extraction time) practically presents no cellulose type II content in your diffractogram profile; due to the fact that type II cellulose is more susceptible to hydrolysis than native cellulose (Xiang et al., 2003).

The average cross-sectional dimension of the elementary cellulose crystallites was determined from X-ray diffractograms by applying Scherrer's expression as described in Section 2. Since Scherrer's equation is restricted to samples of high crystallinity and without any broadening of peaks, this calculation was made only for WSH₃₀ and the value found was 2.73 nm.

3.4. Microscopic analyses

3.4.1. Scanning electron microscopy (SEM)

The SEM picture of TSH was taken to investigate their structure and is shown in Fig. 5. Visually, it is clear that TSH is a micro-sized fiber that exhibited an irregular shape and size (about 14–125 μm in length and 4–15 μm in width).

3.4.2. Transmission electron microscopy (TEM) and atomic force microscopy (AFM)

Fig. 6 shows TEM micrographs of cellulose whiskers extracted for WSH₃₀ and WSH₄₀. TEM pictures presented needle-like nanoparticles, confirming that the extraction of whiskers from soy hulls was successful. These images show individual nanocrystals and some aggregates. The appearance of laterally aggregated elementary crystallites in TEM images is expected due to the high specific area and strong hydrogen bonds established between the whiskers. These aggregates may exist even in suspension but, when the dispersing medium is removed, as in the case of the TEM sample preparation, bundles of whiskers can be even more numerous than individualized needle (Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008).

Fig. 7 shows the length (L), width (D) and aspect ratio (L/D) distributions of WSH obtained by several TEM images, as described in



Fig. 5. SEM image of TSH (magnification: 1000 $\times$).

Section 2. The statistics of the WSH length, width and aspect ratio are shown in Table 1.

The increase in extraction time resulted in a slight shorter length for WSH₄₀ when compared with WSH₃₀. This was expected, since the long extraction time (40 min) partially destroyed areas of the crystalline domains as seen by XRD analysis. No significant difference in diameter among the whiskers could be detected by TEM, if the standard deviation of each value is taken into account. With increasing hydrolysis time, the standard deviation of the dimensions distribution decreased (see Table 1) (Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008).

As a consequence of the whiskers preparation conditions, a decrease in the aspect ratio (L/D) of WSH₄₀ compared with WSH₃₀ was observed by TEM measurements. This suggests that WSH₃₀ can give a better reinforcing effect than WSH₄₀ at the same filler loading levels (Eichhorn et al., 2010). The aspect ratio of the WSH from TEM images were higher than 10, considered as the minimum value for a good stress transfer from the matrix to the fibers for any significant reinforcement to occur (Azeredo et al., 2009). As seen in Fig. 6 it was difficult to clearly discern individual whiskers from agglomerated structures, and therefore an estimate of the width of the whiskers was not clearly obtained.

Similarly to the TEM sample preparation, the AFM sample preparation can also lead to nanocrystals aggregated in their images; however, the AFM analysis allows the discernment of individual whiskers of agglomerated structures through transverse height profiles. Thus, the diameter values of CWs obtained from TEM are typically larger than height values obtained from AFM measurements. In addition, detailed structural examination is essential, not only for the CWs manufacturing process developers, but also for the developers of functional applications. In this way, AFM topography measurements were performed for WSH₃₀ in order to have a more precise characterization of thickness of the individual crystallites.

Fig. 8 shows the images obtained by AFM. These images also presented needle-like nanoparticles. The average diameter of the WSH₃₀ determined by AFM measurements was 2.77 ± 0.67 nm. Fig. 9 shows the histograms corresponding to these measurements. If we consider the diameter obtained by AFM measurements to calculate the aspect ratio for WSH₃₀, this parameter increases markedly, ranging from about 24 up to 77, with an average value of

Table 1

Length, width and aspect ratio, for WSH₃₀ and WSH₄₀ obtained from TEM analysis.

	Length (nm)	Diameter (nm)	Aspect ratio (nm)
WSH ₃₀	122.7 $\pm$ 39.40	4.43 $\pm$ 1.20	29.41 $\pm$ 11.53
WSH ₄₀	103.4 $\pm$ 29.38	4.36 $\pm$ 0.89	24.41 $\pm$ 7.10

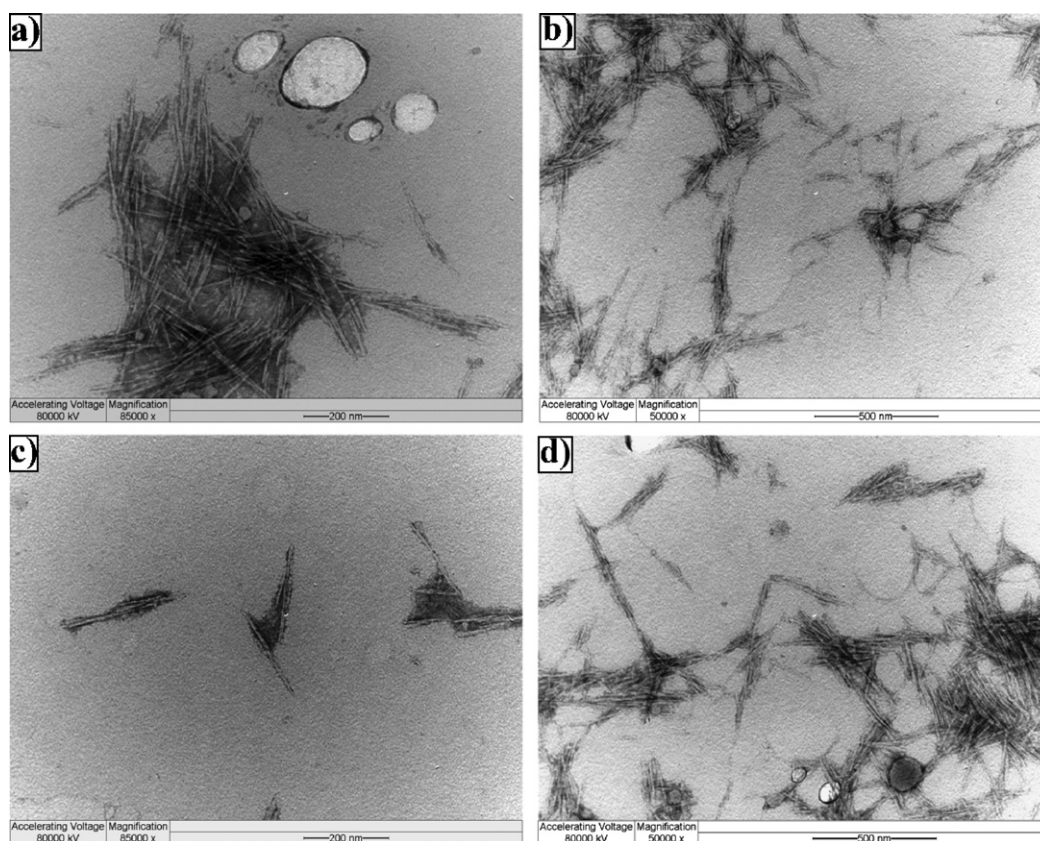


Fig. 6. TEM pictures for cellulose nanocrystals: (a) and (b) extracted at 30 min (WSH₃₀); (c) and (d) extracted at 40 min (WSH₄₀).

about 44, which lies in the range of long nanowhiskers which have great potential to be used as reinforcing agents in nanocomposites (Rosa et al., 2010).

The results of morphological investigation by microscopy-based methods are similar with other reports where CWs were extracted from different sources (Beck-Candanedo et al., 2005; de Rodriguez et al., 2006; Elazzouzi-Hafraoui et al., 2008; Kvien et al., 2005; Rosa et al., 2010; Siqueira et al., 2010; Teixeira et al., 2011).

Determining the exact dimensions of CWs is complicated by the specific limitations of the different analytical methods used. In the case of AFM, tip/sample broadening represents the main limitation, resulting in an overestimation of CWs dimensions. Since the CWs are assumed to be cylindrical in shape, the height of the CWs was taken to be equivalent to the diameter, to compensate for image widening due to the convolution of the tip and the particle (Beck-Candanedo et al., 2005; Kvien et al., 2005). However,

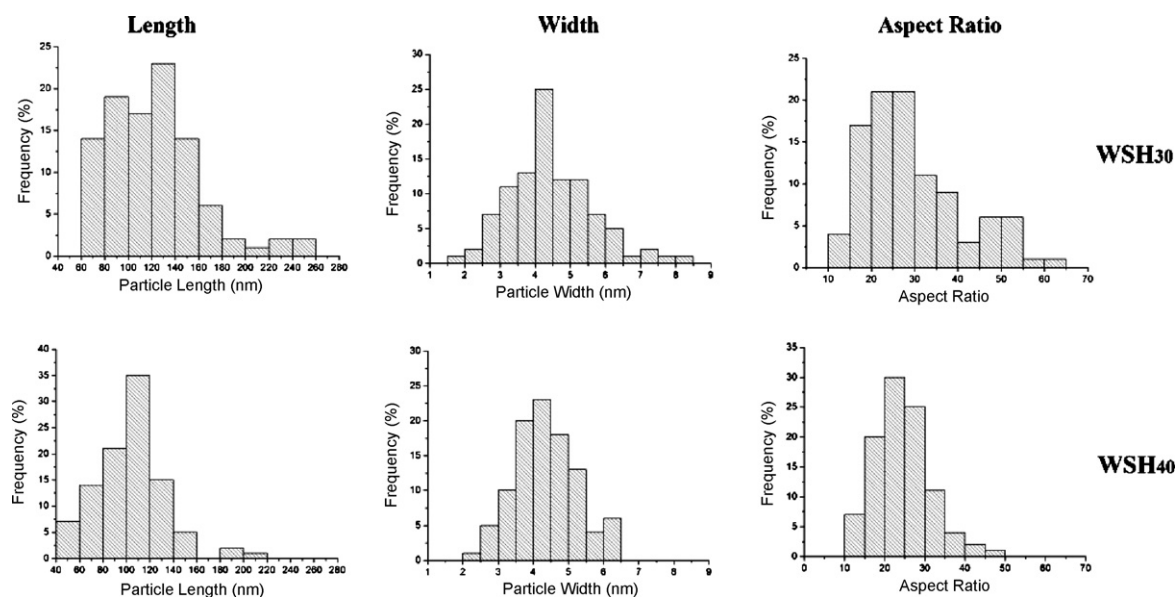


Fig. 7. Length, width and aspect ratio distribution histograms of WSH₃₀ and WSH₄₀ obtained by TEM micrographs.

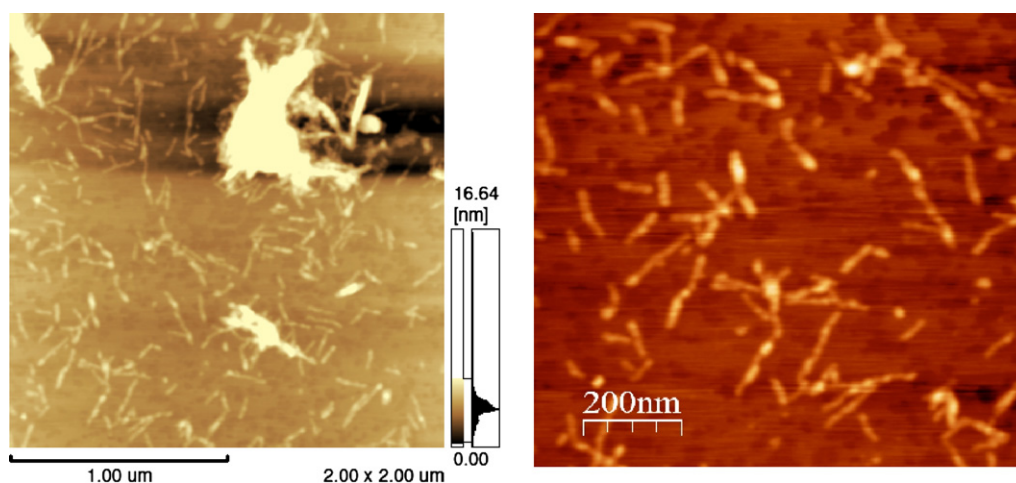


Fig. 8. AFM images of WSH₃₀.

the tip broadening effects causes an error in the length measurements, but this is unavoidable (Beck-Candanedo et al., 2005). On the other hand, detailed information also was obtained by TEM, but this technique required staining and suffered in general from limited contrast and beam sensitivity of the material (Kvien et al., 2005).

An accurate morphological examination can be obtained by TEM and AFM, however, these techniques are restricted to the examination of single particles or a small number of particles in some images. In addition, the information obtained by these techniques requires length times for sample preparation, data collection and data analysis. A measurement of CWs size based on a bulk property, as small- and wide-angle X-ray scattering, would provide a rapid complimentary technique to confirm the results from the above microscopy based methods (Boluk et al., 2011).

The value found for the thickness through the Scherrer's equation is nearest the value found by AFM than by TEM, therefore taking into account what was said in the paragraph above, it is clear that the diameters estimated by TEM did not correspond to individual crystals. Thus, in this case, AFM characterization of thickness is more reliable than TEM.

3.4.3. Thermogravimetric analysis (TGA)

As reported in previous studies, the treatment with sulfuric acid leads to a remarkable decrease in thermal stability of cellulose whiskers. Since typical processing temperatures for thermoplastics rise above 200 °C, the thermal stability of these crystals is a key

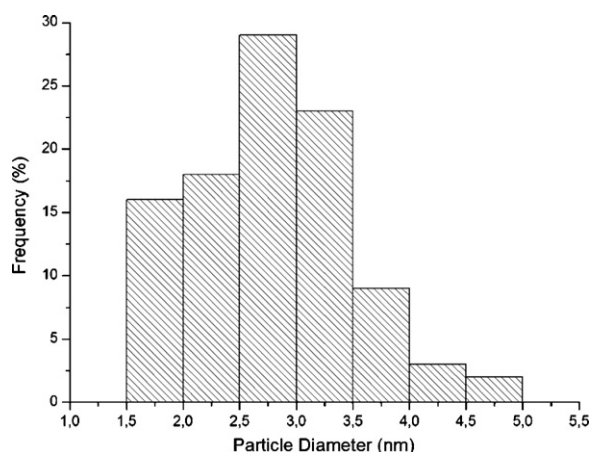


Fig. 9. Diameter distribution histogram of WSH₃₀ obtained by AFM measurements.

factor in order for them to be used as effective reinforcing materials (Roman and Winter, 2004).

Thermogravimetric (TG) analyses were performed only for SH, TSH and WSH₃₀, because the WSH₃₀ has a higher reinforcing capability than WSH₄₀, supported by XRD and TEM analysis. The TG and differential thermogravimetry (DTG) curves of the SH, TSH and WSH₃₀ are shown in Fig. 10(A) and (B), respectively. The

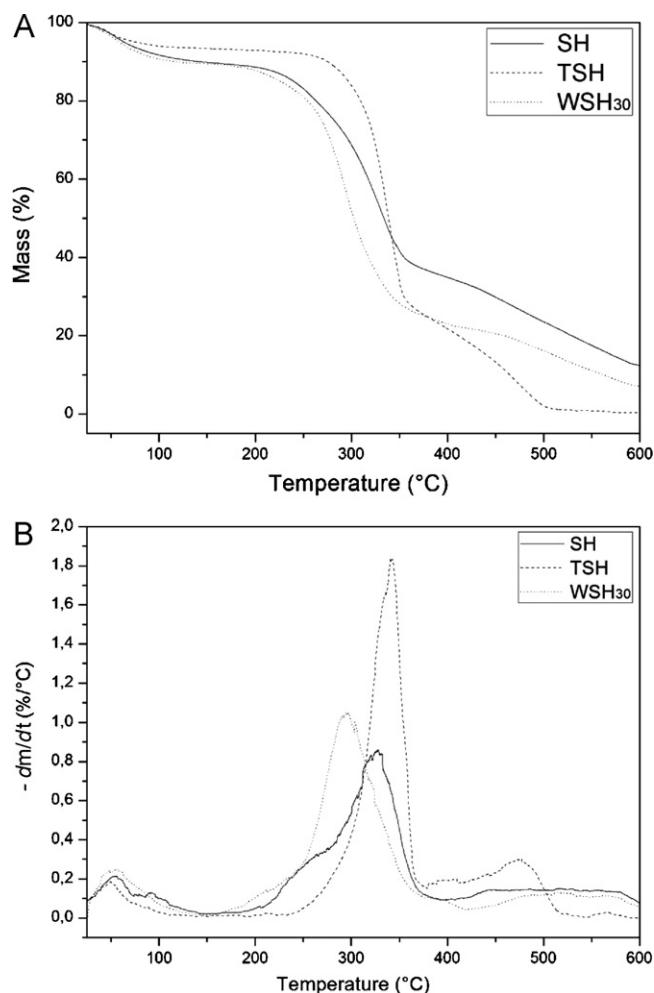


Fig. 10. (A) TG and (B) DTG curves of the SH, TSH and WSH₃₀.

Table 2

Onset temperature (T_{Onset}), degradation temperature on maximum weight-loss rate (T_{Max}), weight loss (WL) and char yield for SH, TSH and WSH₃₀ obtained from the TG and DTG curves.

Sample	Water evaporation			Cellulose thermal degradation			Carbonic residue degradation			
	T_{Onset} (°C)	T_{Max} (°C)	WL (%)	T_{Onset} (°C)	T_{Max} (°C)	WL (%)	T_{Onset} (°C)	T_{Max} (°C)	WL (%)	Char yield (%)
SH	25	56	10	190	327	57	420	510	21	12
TSH	25	54	7	240	342	75	423	477	17,5	0,5
WSH ₃₀	25	50	10	170	294	68	432	518	15	7

corresponding data are listed in Table 2. In all cases, a small weight loss was found in the range of 35–150 °C, due to the evaporation of the water of the materials or low molecular weight compounds (present in SH).

The first degradation step corresponds basically to cellulose degradation processes such as depolymerization, dehydration and decomposition of glycosyl units (Roman and Winter, 2004). Due to the low decomposition temperature of hemicellulose, lignin and pectin (Morán et al., 2008), the DTG curve of untreated soy hulls showed a small broadening or shoulder on the left side of the main peak, which accounts for the pyrolysis of cellulose (about 340 °C). On the other hand at the same step, the thermal degradation of WSH₃₀ also proceeded at lower temperatures than TSH, but this behavior was expected given that the introduction of sulfate groups diminishes the thermostability in the cellulose whiskers because of the dehydration reaction of cellulose crystals as reported elsewhere (Roman and Winter, 2004).

The second degradation step (DTG peak above 425 °C) was attributed to the oxidation and breakdown of the charred residue to lower molecular weight gaseous products (Roman and Winter, 2004). In this step, less charred residue of TSH than that of SH is due to that fact that the non-cellulosic could induce higher char formation (Nguyen et al., 1981), while the increased charred residue of WSH₃₀ is because of the sulfate groups acting as the flame retardants (Roman and Winter, 2004). These results are very consistent with results obtained from the chemical composition, XRD and FTIR measurements.

4. Conclusions

The present work shows that cellulose nanocrystals can be isolated from soy hulls. Chemical treatment with sodium chlorite and alkali removed the non-cellulosic constituents resulting in fibers with high content of α -cellulose, hence suitable for extracting CWs. The hydrolysis conditions used led to obtaining stable aqueous suspensions of WSH which are negatively charged, due the presence of sulfate groups. Through the X-ray diffraction was possible to observe that there was formation of cellulose type II in the WSH due to the hydrolysis conditions used permit re-precipitation of cellulose. A longer extraction time (40 min) resulted in a shorter length of WSH and caused some damage on the crystalline structure of cellulose. For extraction time of 30 min the WSH presented a needle-shaped nature, high crystallinity (73.5%), good thermal stability (around 200 °C), an average length (L) of 122.66 ± 39.40 nm, diameter (D) of 2.77 ± 0.67 nm, giving an aspect ratio (L/D) around 44. It can be concluded from these results that the cellulose nanocrystals obtained from soy hulls have great potential to be used as reinforcement agents for the manufacture of nanocomposites. In this study AFM analysis was used as an alternative to electron microscope due to the difficult to judge whether the structures observed in TEM micrographs were individual WSH or several WSH laterally aggregated. The estimated average width of cellulose crystallites by X-ray diffraction patterns through Scherrer's equation is a rapid complimentary technique to confirm the results from the microscopy based methods. In this work a value has been added

to an agro-waste material apart from the generation of ecofriendly cellulosic nanofillers for diversified applications.

Acknowledgement

The authors thank CAPES/PROAP, CNPq and FAPEMIG for financial support.

References

- Alemдар, A., Sain, M., 2008. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues – wheat straw and soy hulls. *Bioresour. Technol.* 99, 1664–1671.
- Angellier, H., Putaux, J.L., Boisseau, S.M., Ozil, P., Dufresne, A., 2005. Starch nanocrystal fillers in an acrylic polymer matrix. *Macromol. Symp.* 221, 95–104.
- Azeredo, H.M.C., Mattoso, L.H.C., Wood, D., Williams, T.G., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H., 2009. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. *J. Food Sci.* 74, N31–N35.
- Beck-Candanedo, S., Roman, M., Gray, D.G., 2005. Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules* 6, 1048–1054.
- Boluk, Y., Lahiji, R., Zhao, L., McDermott, M.T., 2011. Suspension viscosities and shape parameter of cellulose nanocrystals (CNC). *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 377, 297–303.
- Borysiak, S., Garbacz, J., 2003. Applying the WAXS method to estimate the supermolecular structure of cellulose fibres after mercerization. *Fibres Text. East. Eur.* 11, 104–106.
- Browning, B.L., 1967. *Methods of Wood Chemistry*, 1st ed. Interscience Publishers, New York.
- Chen, Y., Liu, C., Chang, P.R., Cao, X., Anderson, D.P., 2009. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. *Carbohydr. Polym.* 76, 607–615.
- de Rodriguez, N.L.G., Thielemans, W., Dufresne, A., 2006. Sisal cellulose whiskers reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. *Cellulose* 13, 261–270.
- Dufresne, A., Caville, J., Vignon, M., 1997. Mechanical behavior of sheets prepared from sugar beet cellulose microfibrils. *J. Appl. Polym. Sci.* 64, 1185–1194.
- Eichhorn, S.J., Dufresne, A., Aranguren, M., Marcovich, N.E., Capadona, J.R., Rowan, S.J., 2010. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *J. Mater. Sci.* 45, 1–33.
- Elazzouzi-Hafraoui, S., Nishiyama, Y., Putaux, J.L., Heux, L., Dubreuil, F., Rochas, C., 2008. The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose. *Biomacromolecules* 9, 57–65.
- Habibi, Y., Lucia, L.A., Rojas, O.J., 2010. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chem. Rev.* 110, 3479–3500.
- Ipharraguerre, I.R., Clark, J.H., 2003. Soyhulls as an alternative feed for lactating dairy cows: a review. *J. Dairy Sci.* 86, 1052–1073.
- Klug, H.P., Alexander, L.E., 1974. *X-ray diffraction procedures for polycrystalline and amorphous materials*. John Wiley & Sons, New York.
- Kvien, I., Tanem, B.S., Oksman, K., 2005. Characterization of cellulose whiskers and their nanocomposites by atomic force and electron microscopy. *Biomacromolecules* 6, 3160–3165.
- Lima, M.M.S., Borsali, R., 2004. Rodlike cellulose microcrystals: structure, properties, and applications. *Macromol. Rapid Commun.* 25, 771–787.
- Lu, P., Hsieh, Y., 2010. Preparation and properties of cellulose nanocrystals: rods, spheres, and network. *Carbohydr. Polym.* 82, 329–336.
- Moon, R.J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youghblood, J., 2011. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chem. Soc. Rev.* 40, 3941–3994.
- Morán, J.I., Alvarez, V.A., Cyran, V.P., Vázquez, A., 2008. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose* 15, 149–159.
- Nguyen, T., Zavarin, E., Barrall, E.M., 1981. Thermal-analysis of lignocellulosic materials. Part 1. Unmodified materials. *J. Macromol. Sci. C: Polym. Rev.* 20, 1–65.
- Peng, B.L., Dhar, N., Liu, H.L., Tam, K.C., 2011. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective. *Can. J. Chem. Eng.* 89, 1191–1206.
- Purkait, B.S., Ray, D., Sengupta, S., Kar, T., Mohanty, A., Misra, M., 2011. Isolation of cellulose nanoparticles from sesame husk. *Ind. Eng. Chem. Res.* 50, 871–876.
- Roman, M., Winter, W.T., 2004. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules* 5, 1671–1677.

- Rosa, M.F., Medeiros, E.S., Malmonge, J.A., Gregorski, K.S., Wood, D.F., Mattoso, L.H.C., Glenn, G., Orts, W.J., Imam, S.H., 2010. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydr. Polym.* 81, 83–92.
- Segal, L., 1959. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Text. Res. J.* 29, 786–794.
- Shi, J., Shi, S.Q., Barnes, H.M., Pittman Jr., C.U., 2011. A chemical process for preparing cellulosic fibers hierarchically from kenaf bast fibers. *Bioresources* 6, 879–890.
- Siqueira, G., Abdillahi, H., Bras, J., Dufresne, A., 2010. High reinforcing capability cellulose nanocrystals extracted from *Syngonanthus nitens* (Capim Dourado). *Cellulose* 17, 289–298.
- Sun, X.F., Xu, F., Sun, R.C., Fowler, P., Baird, M.S., 2005. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. *Carbohydr. Res.* 340, 97–106.
- Teixeira, E.M., Bondancia, T.J., Teodoro, K.B.R., Corrêa, A.C., Marconcini, J.M., Mattoso, L.H.C., 2011. Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations. *Ind. Crops Prod.* 33, 63–66.
- Wang, B., Sain, M., 2007. Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. *Compos. Sci. Technol.* 67, 2521–2527.
- Wang, N., Ding, E., Cheng, R., 2007. Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups. *Polymer* 48, 3486–3493.
- Xiang, Q., Lee, Y.Y., Pettersson, P.O., Torget, R.W., 2003. Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of α -cellulose. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 107, 505–514.
- Zambom, M.A., Santos, G.T., Modesto, E.C., Alcalde, C.R., Gonçalves, G.D., Silva, D.C., Silva, K.T., Faustino, J.O., 2001. Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. *Acta Sci.* 23, 937–943.

Anexo b)



**Preparation and characterization of nanocomposites of
carboxymethyl cellulose reinforced with cellulose
nanocrystals**

Journal:	<i>Macromolecular Symposia</i>
Manuscript ID:	masy.201100194.R1
Wiley - Manuscript type:	Full Paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	flauzino neto, wilson; Federal University of Uberlândia, Institute of Chemistry Alves Silvério, Hudson; Federal University of Uberlândia, Institute of Chemistry Graciele Vieira, Julia; Federal University of Uberlândia, Institute of Chemistry da Costa e Silva Alves, Heden; Federal University of Uberlândia, Institute of Chemistry Pasquini, Daniel; Federal University of Uberlândia, Institute of Chemistry Maria Nascimento de Assunção, Rosana; Federal University of Uberlândia, Institute of Chemistry
Keywords:	nanocomposites, nanoparticles, cellulose nanocrystals, Eucalyptus urograndis, carboxymethyl cellulose

SCHOLARONE™
Manuscripts

Preparation and characterization of nanocomposites of carboxymethyl cellulose reinforced with cellulose nanocrystals

Wilson Pires Flauzino Neto^{1*}, Hudson Alves Silvério¹, Júlia Graciele Vieira¹, Héden da Costa e Silva Alves¹, Daniel Pasquini¹, Rosana Maria Nascimento de Assunção², Noélio Oliveira Dantas³

¹ Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Santa Mônica, Av. João Naves de Ávila, 2121, Uberlândia - Minas Gerais, Brazil. Fax: +55 (34) 3239-4208; E-mail: wilsonpfneto@yahoo.com.br

² Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Pontal, Rua 20, 1600 CEP 38.304-402, Ituiutaba - Minas Gerais, Brazil

³ Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia, Av. João Naves de Ávila, nº2121, Uberlândia - Minas Gerais, Brazil

Summary: Cellulose nanocrystals (CNC) were extracted from Kraft pulp of *Eucalyptus urograndis*. The CNC were isolated by acid hydrolysis with H₂SO₄ 64% (w/w) solution, for 20 minutes at 45 °C. The morphology and crystallinity of the CNC were investigated by atomic force microscopy (AFM) and X-ray diffraction (XRD), respectively. The AFM image supports the evidence for the development of crystals of cellulose in nanometric scale. These nanoparticles were used as reinforcement material in carboxymethyl cellulose (CMC) matrix. Nanocomposites films were prepared by casting. The nanocomposites were characterized by thermal (TGA) and mechanical (DMA) analyses. A large reinforcing effect of the filler was observed. The tensile strength of nanocomposites was significantly improved by 107%, the elongation at break decreased by 48% and the thermal resistance increased slightly. The improvements in thermo-mechanical properties suggest a close association between filler and matrix.

Keywords: nanocomposites, nanoparticles, cellulose nanocrystals, *Eucalyptus urograndis*, carboxymethyl cellulose.

Introduction

Facing the problems of plastic recycling and fossil resources exhaustion, there is a great interest to develop sustainable and environmentally friendly materials with enhanced performances. Several biodegradable biopolymers need to be modified to be competitive to petroleum based polymers in question of performance and cost. One way to improve the

properties of biopolymers and greatly enhance their commercial potential is to incorporate nanosized reinforcement into the polymer.^[1] In this context, cellulose nanocrystals (CNC), also known as “whiskers” have received from the materials community a high level of attention, since nanocomposites of CNC/ biopolymers may have similar or superior properties compared to polymers of non-renewable sources and composites of inorganic fibers/polymers.^[2]

The main features that stimulate the use of cellulose nanoparticles as reinforcement in polymer matrices are the large interfacial area and high modulus of elasticity.^[3] These properties associated with a homogeneous distribution within a matrix, the strong interactions and adherence with the same, generally results in clear improvements in thermal, mechanical, and barrier properties of the nanocomposites.^[4,5,6] Among other points relevant to the use of CNC can still quote its biodegradable character, low density, transparency, low cost and the fact that they are derived from renewable natural sources highly abundant.^[6]

Carboxymethyl cellulose (CMC) is a biopolymer with several application areas in the industrial, food and medical fields. Biodegradable films made of this material do not pose a threat to the environment, has relatively low cost and are non-toxic. However, the disadvantages of these films include poor thermomechanical properties and a strongly hydrophilic nature.^[7,8]

Considering the limitations of films made of CMC, the effect of CNC as nano-sized fillers on the properties of CMC-based composites is of interest in the development of novel or improved applications for this polymer, e.g. packaging films and food coatings. The objective of the present research was to evaluate the effect of incorporation of CNC on the thermomechanical properties of CMC-based cast biodegradable films. The nanocrystals were isolated by sulfuric acid hydrolysis from wood pulp Kraft of *Eucalyptus urograndis*. The morphology and crystallinity of the CNC were investigated by Atomic Force Microscopy (AFM) and X-ray Diffraction (XRD), respectively. Thermogravimetric and Dynamic Mechanical Analyses (TGA and DMA) were performed for evaluated the effect of CNC content on mechanical strength, thermal stability and elongation of nanocomposites.

Experimental Part

Extraction of Cellulose Nanocrystals (CNC): The bleached Kraft pulp of *Eucalyptus urograndis*, provided by the Compacel Company, was crushed using an industrial blender, and then used for the extraction of nanocrystals by acid hydrolysis. The hydrolysis was performed at 45 °C for 20 min under vigorous and constant stirring, using 20 mL of H₂SO₄ 64% for each gram of cellulose. Immediately after hydrolysis, the suspension was diluted 10 times to stop the hydrolysis reaction, and centrifuged for 3 min at 11,000 rpm to remove the excess acid. Subsequently the precipitate was dialyzed against tap water until neutral pH. The resulting suspension of dialysis process was treated using a disperser type Turrax for 10 min at 14,000 rpm, then was treated by ultrasonic for 10 min and stored under refrigeration.

Atomic Force Microscopy (AFM): The AFM measurements were performed using a Shimadzu SPM-9600. AFM images were obtained at room temperature (~ 21 °C) in the dynamic mode with scan rate of 1 Hz and using Si tips with curvature radius of less than 10 nm and spring constant of 42 N m⁻¹. A drop of diluted nanoparticles aqueous suspension was deposited onto freshly cleaved mica surface and air-dried. The dimensions of CNC were calculated using the VectorScan software (software for Shimadzu's SPM-9600).

Gravimetric Analysis: The hydrolysis yield and the cellulose concentration in the final suspension were 29.58% and 2.368 g L⁻¹, respectively. These were calculated taking an aliquot of known volume of the suspension at 105 °C for 12 hours. The material resulting from drying of the suspension was used as a sample for XRD analysis.

X-Ray Diffraction (XRD): The X-ray diffractograms of the Kraft pulp fiber and CNC were obtained at room temperature with 2θ range from 5 to 40 ° and a scan rate of 1 °C min⁻¹. The equipment used was a diffractometer Shimadzu LabX XRD-6000, operating at a power of 40 kV with current of 30 mA and Cu Kα radiation (1.5406 Å). The crystallinity index (CI) of the material was determined by the ratio of the peak heights of the X-ray spectrum of the crystalline peak at 2θ = 22-23 ° and the amorphous region 2θ = 18-19 °, using the method of Segal.^[9]

Preparation of Nanocomposites: Different aliquots of the aqueous suspension of CNC, with known concentrations were added to 10 mL of a solution of CMC 3% (w/v), in order to obtain the final concentrations of CNC, 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 15% by weight, relative to the CMC matrix. The resulting mixture was homogenized by ultrasonication and deposited on Petri dishes and left at rest to the total evaporation of water, forming the films. The CMC used in the preparation of films, was the carboxymethyl cellulose sodium of food grade, with molecular weight 70,000 to 90,000 and degree of substitution 0.8 (Denvercel Company).

Thermogravimetric Analysis (TGA): Thermal stability of the films were evaluated using a Shimadzu DTG-60H. The analysis conditions were: a nitrogen atmosphere with flow 30 mL min⁻¹, heating rate of 10 °C min⁻¹, temperature range of 25 to 600 °C, sample mass between 5 and 7 mg and aluminum pans.

Dynamic Mechanical Analysis (DMA): The tensile strength and elongation at break of the films were measured in a Dynamic Mechanical Analyzer 2980 (TA Instruments) at 25 °C. Sample sizes were 40 mm x 6.2 mm x 0.05 mm (length x width x thickness). A force of 0.01 N was used as preload and a ramp-force of 8 N min⁻¹, until the fracture of the sample. The device was previously calibrated and was made a total of five measurements for each sample to ensure reproducibility of results.

Results and Discussion

Cellulose nanocrystals, also known as whiskers, are crystalline domains of cellulose fibers isolated mainly by acid hydrolysis, and are so called because of their physical rigidity, thickness and length. Hydrolysis with sulfuric acid involves the introduction of sulfate groups on the surface of the CNC, and these groups carry the surface of CNC negatively, provoking anionic stabilization by repulsive forces, thus leading to the achievement of stable aqueous dispersions.^[2] As can be seen in Figure 1a, the hydrolysis conditions used led to obtaining a homogeneous and stable aqueous suspension.

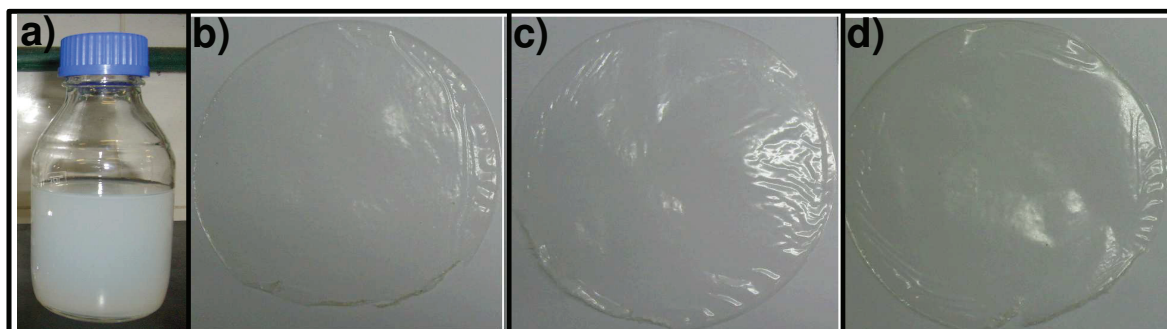


Figure 1. a) Aqueous suspension obtained after isolation of the CNC; b) Picture of pure CMC film; c) Picture of CMC film with 6% CNC; d) Picture of CMC film with 15% of CNC.

The incorporation of CNC in the matrix of CMC did not affect the transparency or homogeneity of the polymer, as can be seen in the pictures in Figures 1b, 1c and 1d. There are not aggregates in the films produced, and it was concluded that there was an uniform dispersion of CNC in the polymer matrix.

The characterization by AFM supports the evidence for the development of cellulose in nanometric scale. The AFM image (Figure 2) also shows that the nanoparticles have the shape of needles. The size determination was challenging due to agglomeration, but from several images the length and the diameter could be measured. The length and diameter values of the CNC produced ranged from 100 to 300 nm and 5 to 10 nm, respectively. This agrees with earlier AFM analyses on cellulose whiskers from wood sources.^[10] As the AFM analysis overestimates the diameter of the nanocellulose due to the tip-broadening effects, the diameter of nanoparticles was measured from the height of the nanowhiskers.^[11]

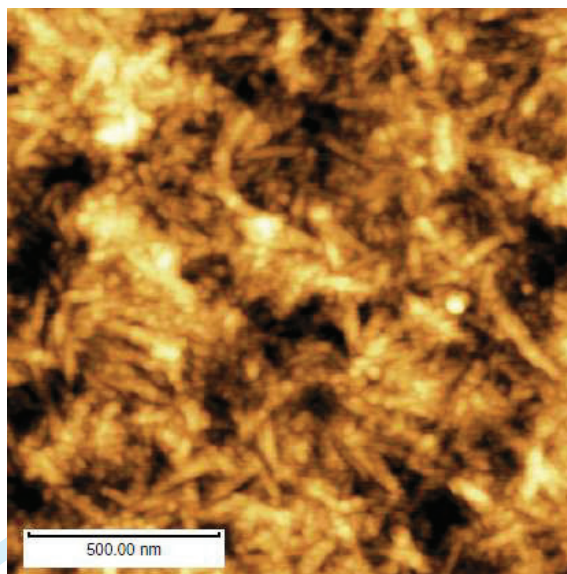


Figure 2. AFM image of cellulose whiskers extracted from Kraft pulp of *Eucalyptus urograndis*.

By X-ray diffractograms of the Kraft pulp and CNC (Figure 3), there is a predominance of type I cellulose, verified by the presence of peaks at $2\theta = 15^\circ$ (plane 101), 17° (plane 10i), 21° (plane 021) and 23° (plane 002), though there are traces of cellulose type II in the diffraction patterns of CNC, observed by peaks at $2\theta = 12^\circ$ (plane 101), 20° (plane 10i) and 22° (plane 002).^[12] Possibly the presence of traces of cellulose type II is associated to recrystallization of cellulose after hydrolysis, since 64% sulfuric acid solution can be a solvent for cellulose.^[13] The crystallinity index (CI) of the CNC and the original Kraft pulp were estimated and found that there was a significant decrease in the original Kraft pulp CI (CI = 86%) compared to CNC obtained (CI = 71%), and this behavior can be attributed to partial dissolution of the cellulose sample during hydrolysis and may have been re-precipitated.^[13]

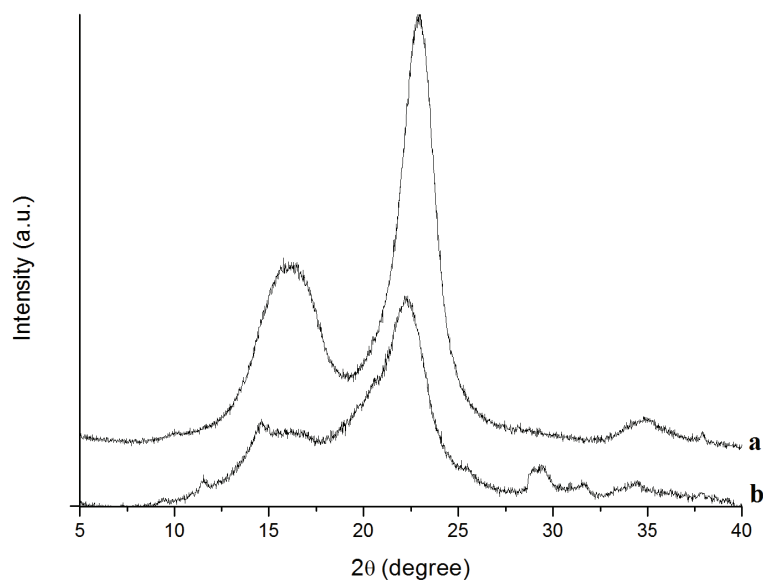


Figure 3. X-ray diffraction patterns of a) Kraft pulp of *Eucalyptus urograndis*; b) cellulose nanocrystals.

Figure 4 shows TGA curves and shows the mass loss of composites when they are heated. The mass loss profiles are similar and feature two main events: the evaporation of water in the range 70-100 °C and thermal degradation of carboxymethyl cellulose at approximately 280-300 °C. There was a subtle improvement in thermal stability of nanocomposites compared to pure CMC film, and this improvement can be attributed to the presence of cellulose nanocrystals.

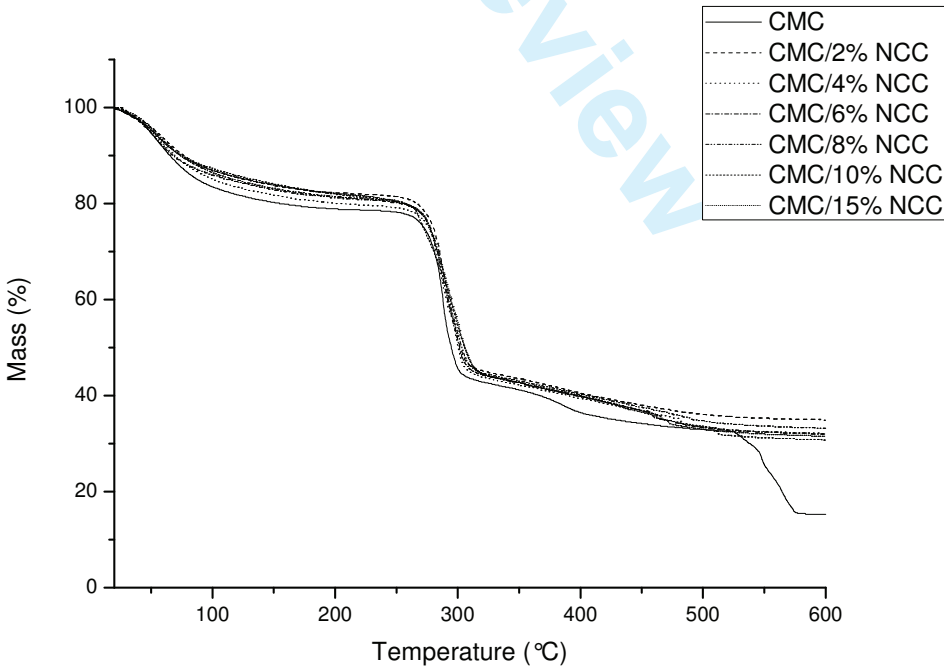


Figure 4. TGA curves for the nanocomposites.

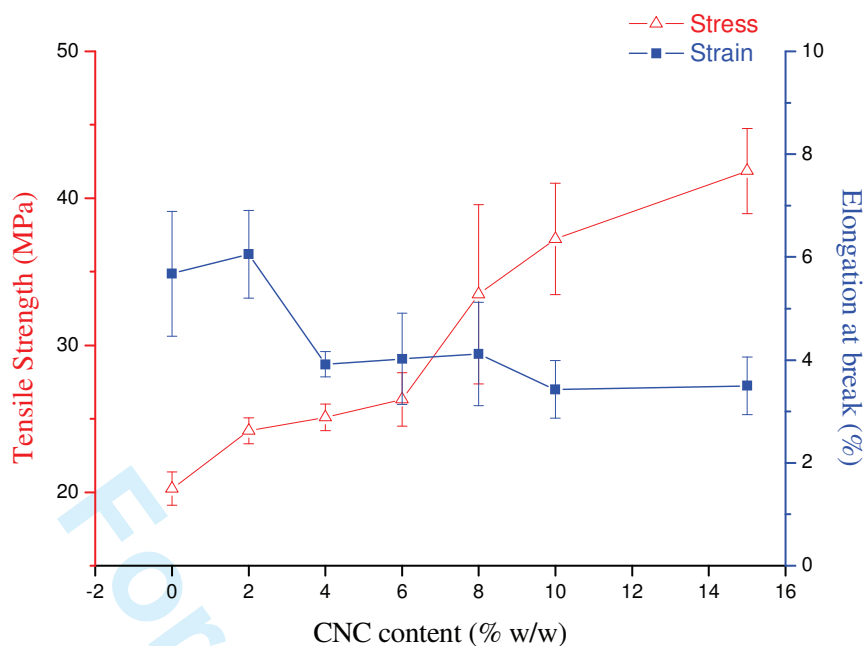


Figure 5. Tension and elongation at break of the films as a function of CNC content.

The Figure 5 presents the results of dynamic-mechanical tests, and shows the effect of CNC contents on the tensile strength and the elongation at break of the films produced. It can be seen that there was an increase in tensile strength of the polymer up to 107% and a decrease in the same stretch up to 48% as a result of incorporation of the CNC. Evidently the increased load increased the rigidity of the polymer due to the homogeneous distribution of the crystalline reinforcement within the matrix and the possibility strong interactions of the CNC with the polymer matrix, and therefore the mobility of polymer segments was reduced thus increasing the tensile strength and decreasing the elongation at break.

Conclusion

CMC composites were successfully prepared by casting with the reinforcement of cellulose nanocrystals manufactured from Kraft pulp of *Eucalyptus urograndis* using sulfuric acid hydrolysis. Even with high content of CNC the CMC/CNC nanocomposites were transparent. The CNC are satisfactory reinforcement agents for the CMC, since the data showed a marked increase in thermo-mechanical properties of CMC film. These improvements in thermo-mechanical properties suggest a close association between filler

and matrix. The utilization of CNC as reinforcing agent is an alternative that would expand the commercial use of CMC films.

Acknowledgements: The authors thank CAPES/PROAP, CNPq and FAPEMIG for financial support.

References

- [1] A.K. Mohanty, L.T. Drzal, M. Misra. *Polym. Mater Sci. Eng.* **2003**, 88, 60.
- [2] D. J. Silva, M. L. O. D'Almeida. *O Papel* **2009**, 70, 34.
- [3] A. Dufresne. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2006**, 3, 322.
- [4] H. M. C. Azeredo, L. H. C. Mattoso, D. Wood, T. G. Williams, R. J. Avena-Bustillos, T. H. McHugh. *Journal of food science* **2009**, 74, N31.
- [5] N. Wang, E. Ding, R. Cheng, *Polym.* **2007**, 48, 3486.
- [6] E. M. Teixeira, C. R. Oliveira, L. H. Mattoso, *Polímeros* **2010**, 20, 264.
- [7] T. Heinze, K. Pfeiffer. *Angew. Makromol. Chem.* **1999**, 37, 266.
- [8] R. A. Khan, S. Salmieri, D. Dussault, J. Uribe-Calderon, M. R. Kamal, A. Safrany, M. Lacroix. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 7878.
- [9] L. Segal. *Text. Res. J.* **1959**, 29, 786.
- [10] S. Beck-Candanedo, M. Roman, D. Gray. *Biomacromolecules* **2005**, 6, 1048.
- [11] R. Rusli, K. Shanmuganathan, S. J. Rowan, C. Weder, S. J. Eichhorn. *Biomacromolecules* **2011**, 12, 1363.
- [12] S. Borysiak; J. Garbarczyk. *Fibres Text East Eur.* **2003**, 11, 104.
- [13] G. Jayme, F. Lang in *Methods in Carbohydrate Chemistry*, R. L. Whistler, Ed.; Academic Press, New York, **1963**; Vol. 3, 75-83.