

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

RAFAEL BELASQUE CANEDO DA SILVA

**Sistemas híbridos compostos por nanocristais de celulose e partículas de
quitosana: produção, caracterização e aplicação em filmes biodegradáveis**

Pirassununga

2023

RAFAEL BELASQUE CANEDO DA SILVA

Sistemas híbridos compostos por nanocristais de celulose e partículas de quitosana: produção, caracterização e aplicação em filmes biodegradáveis

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre programa de pós-graduação em Engenharia e Ciência de Materiais.

Área de Concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais voltados à Agroindústria

Orientadora: Profa. Dra. Milena Martelli Tosi

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S136s Silva, Rafael Belasque Canedo
Sistemas híbridos compostos por nanocristais de
celulose e partículas de quitosana: produção,
caracterização e aplicação em filmes biodegradáveis /
Rafael Belasque Canedo Silva ; orientador Milena
Martelli-Tosi. -- Pirassununga, 2023.
52 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia e Ciência de Materiais) -- Faculdade
de Zootecnia e Engenharia de Alimentos,
Universidade de São Paulo.

1. nanopartículas de quitosana. 2. gelificação
iônica. 3. nanofibras. 4. reforço. I. Martelli-Tosi,
Milena, orient. II. Título.

RESUMO

RAFAEL, B. C. S. **Sistemas híbridos compostos por nanocristais de celulose e partículas de quitosana: produção, caracterização e aplicação em filmes biodegradáveis.** 2023. 52 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

Filmes biodegradáveis a base de quitosana são amplamente estudados devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. No entanto, sua aplicação é limitada devido à alta permeabilidade a vapores e baixa resistência mecânica. Agentes de reforço como nanocristais de celulose (NCs) e nanopartículas de quitosana (NQs) podem ser utilizados para melhorar tais propriedades. Recentemente, sistemas híbridos compostos por NCs e NQs foram estudados em nosso grupo de pesquisa com agente encapsulação, evidenciando o potencial deste sistema comparado com as partículas isoladas. Os estudos envolvendo a produção de sistemas híbridos a base de biopolímeros têm aumentado devido às propriedades multifuncionais proporcionadas pelos complexos formados. Na literatura, não foram encontrados relatos da aplicação desse sistema como reforço de filmes biodegradáveis. Nesse contexto, o objetivo geral do presente trabalho foi produzir, caracterizar e aplicar os sistemas híbridos a base de NQs e NCs como material de reforço em filmes de quitosana. Este trabalho foi dividido em três etapas: i) produção e caracterização de nanocristais de celulose a partir da vagem da soja; ii) produção e caracterização de sistemas híbridos a base de nanopartículas de quitosana e nanocristais de celulose e iii) produção e caracterização de filmes de quitosana contendo ou não diferentes concentrações de partículas híbridas. Inicialmente, a vagem da soja foi lavada, seca, moída e pré-tratada (NaOH 17,5%, m/v, e H₂O₂ 4 %, m/v). Os NCs foram obtidos por hidrólise ácida (1 g de vagem pré-tratada seca/30 mL ácido sulfúrico 64 % (v/v)). Os sistemas híbridos foram obtidos de acordo com a incorporação de NCs em suspensões de NQs, sendo as NQs obtidas por gelificação iônica com tripolifosfato de sódio (TPP). Os filmes a base de quitosana foram produzidos pelo método *casting*, sendo que a concentração final de quitosana foi de 1% para todas as suspensões filmogênicas. Foram adicionadas diferentes concentrações de partículas e avaliadas as propriedades de barreira a luz UV/Vis, propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor d'água (PVA). A incorporação de NCs aumentou as interações intermoleculares da quitosana e os filmes compósitos foram mais resistentes ($62,0 \pm 16,6$ MPa) do que o controle ($26,7 \pm 12,6$ MPa) e 2 vezes menos alongáveis. A incorporação de sistemas híbridos mostrou as melhores propriedades mecânicas ($81,7 \pm 13,9$ MPa e $9,8 \pm$

5,2%). Além disso, os NCs e NC-NQs melhoraram as propriedades de barreira à luz UV/Vis dos filmes de quitosana. Portanto, as partículas híbridas são interessantes e poderiam ser utilizadas para encapsular outros compostos activos antes da aplicação da película, a fim de melhorar as propriedades activas e mecânicas/barreiras. A relevância deste estudo baseia-se na importância de compreender melhor as interações dos materiais estudados para melhorar as aplicações tecnológicas.

Palavras-chave: nanopartículas de quitosana; gelificação iônica; nanofibras; reforço

ABSTRACT

RAFAEL, B. C. S. **Hybrid systems composed by nanocellulose crystals and chitosan nanoparticles: obtention, characterization and application in biodegradable films.** 2023. 52 f. Dissertation (Master Degree) – Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2023.

Chitosan biodegradable films are widely studied due to their antioxidant and antimicrobial activities. However, their application is limited due to high permeability to gases and low mechanical properties. Reinforcement fillers such as nanocellulose crystals (NCs) and chitosan nanoparticles (NQs) can be used to enhance these properties. Recently, hybrid systems composed by NCs and NQs have been studied by our research group as encapsulation agents, and the results showed the advantage of using hybrid systems when compared to the isolated particles. Studies regarding the production of biopolymers-based hybrid systems have increased due to the multifunctional properties provided by the complexes that are formed. There are no reports in the literature of the use of these hybrid systems as reinforcement fillers in biodegradable films. In this context, the main objective of the present work will be to produce, characterize and apply NQ-NCs hybrid systems as reinforcement filler in chitosan films. This work will be divided in three phases: i) production and characterization of cellulose nanocrystals from soybean pods; ii) production and characterization of NQ/NCs hybrid systems and iii) production and characterization of chitosan films with different concentrations of hybrid particles. Soybean pods were washed, dried, milled and pre-treated (NaOH 17,5%, w/v and H₂O₂ 4 %, w/v). NCs were obtained by acid hydrolysis (1 g of dried pre-treated pods/30 mL sulfuric acid 64% (v/v)). The hybrid systems were obtained by incorporating NCs in NQs suspensions that were previously produced by ionic gelation using sodium tripolyphosphate (TPP). The chitosan-based films were produced by the casting method, and the final chitosan concentration was 1% for all filmogenic suspensions. Different particle concentrations were added and the UV/Vis light barrier, mechanical properties and water vapor permeability (PVA) were evaluated. The incorporation of CNCs increased the intermolecular interactions of chitosan and the enhanced films were more resistant (62.0 ± 16.6 MPa) than the control (26.7 ± 12.6 MPa) and 2-times less stretchable. The incorporation of hybrid systems showed the best mechanical properties (81.7 ± 13.9 MPa and $9.8 \pm 5.2\%$). Moreover, CNCs and ChNp-CNC improved the UV/Vis light barrier properties of the chitosan films. Therefore, hybrid particles are interesting and could be used to encapsulate other active compounds before film application

in order to enhance active and mechanical/barrier properties. The relevance of this study is based on the importance of a better understanding of the interaction of the materials studied to improve technological applications.

Keywords: chitosan nanoparticles, ionic gelation, nanofibers, reinforcement

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha professora Dra. Milena Martelli Tosi, ela foi fundamental em todas as etapas do meu mestrado.

Agradeço também as minhas colegas de laboratório, Nádia Okamoto, que me ajudou muito nas produções das minhas amostras e a Larissa Tessaro, que me ajudou com as caracterizações e análises dos filmes poliméricos.

A Universidade Virtual do Estado de São Paulo (UNIVESP) pela oportunidade de fazer uma especialização em Formação didático-pedagógica para cursos na modalidade a distância e pela bolsa cedida durante o curso.

Agradeço a todos os professores que fizeram parte da minha jornada até aqui, aos funcionários do laboratório por manterem sempre um ambiente de trabalho limpo e organizado, a Universidade de São Paulo como um todo por me proporcionar essa oportunidade de evolução tanto profissional quanto pessoal.

Agradeço em especial aos meus amigos que sempre me apoiaram, me ajudaram em tudo que precisei e a minha família por todo o suporte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de produção de Nanocristais de Cellulose (NCs) por hidrólise ácida com ácido sulfúrico concentrado associada a tratamentos mecânicos para desfibrilação.	17
Figura 2. Micrografias eletrônicas obtidas com FEG-SEM de nanopartículas de quitosana (NQs), nanocristais de cellulose (NCs) e sistemas híbridos.....	24
Figura 3. Fluxograma da produção de nanocristais de celulose.....	27
Figura 4. Produção de sistemas híbridos de nanopartículas de quitosana e nanocristais de celulose (NQ-NC).....	31
Figura 5. (A) Micrografia representativa da estrutura dos Nanocristais de Celulose (NCs) e (B) perfil de altura (nm) obtidos por microscopia de força atômica (AFM).....	36
Figura 6. Distribuição de tamanho das partículas dos sistemas híbridos: A) NQs, B) NQ-NC 4:1, C) NQ-NC 8:1, D) NQ-NC 16:1.....	38
Figura 7 - Aspecto visual dos filmes a base de(A) quitosana, (B) contendo nanocristais de celulose ou (C) sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana.....	41
Figura 8 - Espectros UV/Vis dos filmes a base de quitosana sem adição de partículas (Controle), ou com adição de nanoceluloses (NC) ou sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana (NQ-NC).....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fonte dos materiais lignocelulósicos, etapas de produção, e dimensões de NCs e NFs.....	18
Tabela 2. Associação das nanoceluloses com outras matrizes para a produção de novos materiais híbridos.....	21
Tabela 3. Concentrações de NCs e quitosana para preparo dos sistemas híbridos.....	28
Tabela 4. Diâmetro de partículas (em % de intensidade) das composições: NQs, NQ-NC 4:1, NQ-NC 8:1, NQ-NC 16:1.....	39
Tabela 5. Diâmetro de partículas (em % de número) das composições: NQs, NQ-NC 4:1, NQ-NC 8:1, NQ-NC 16:1.	39
Tabela 6. Valores de potencial zeta para as suspensões: NQs, NQ-NC 4:1 e NQ-NC 8:1.....	40
Tabela 7 - Umidade e solubilidade dos filmes a base de quitosana sem adição de partículas (Ch), ou com adição de nanoceluloses (NC) ou sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana (ChNC).....	41
Tabela 8 - Tensão na ruptura (TR), alongação na ruptura (ER) e módulo elástico (ME) dos filmes à base de quitosana sem adição de partículas (Control), ou com adição de nanoceluloses (NC) ou sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana (ChNC).....	43

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
2.OBJETIVOS	15
2.1.OBJETIVO GERAL	15
2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3.REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1.OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE	16
3.PRODUÇÃO DE SISTEMAS HÍBRIDOS CONTENDOS NANOFIBRILAS OU NANOCRISTAIS DE CELULOSE	20
3.2.REFORÇO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE QUITOSANA	24
4.MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1.MATERIAL	26
4.2.PRÉ-TRATAMENTO QUÍMICO DA VAGEM DE SOJA E CARACTERIZAÇÃO.....	26
4.3.PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NCs.....	27
4.4.PREPARO DOS SISTEMAS HÍBRIDOS DE NQ-NCs	28
4.5.CARACTERIZAÇÃO DAS NCs E DOS SISTEMAS HÍBRIDOS DE NQS E NCs.....	29
4.5.1. <i>Tamanho de Partículas e Potencial Zeta</i>	29
4.5.2. <i>Concentração (Matéria Seca)</i>	29
4.5.3. <i>Morfologia das partículas</i>	29
4.5.4. <i>Propriedades Térmicas</i>	29
4.5.5. <i>Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i> .	30
4.5.6. <i>Difração de Raios X (DRX)</i>	30
4.6.PRODUÇÃO DOS FILMES	30
4.7.CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	32
4.7.1. <i>Umidade e solubilidade em água</i>	32
4.7.2. <i>Microscopia de força atômica (AFM)</i>	32
4.7.3. <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	32
4.7.4. <i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA)</i>	33
4.7.5. <i>Espessura e propriedades mecânicas</i>	33
4.7.6. <i>Propriedades de barreira à luz UV/Visível</i>	34

4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NCs	35
5.2. DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULAS E POTENCIAL ZETA	36
5.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE QUITOSANA.....	40
5.3.1. <i>Aspecto visual, umidade, solubilidade e PVA</i>	40
5.3.2. <i>Barreira à luz UV-Vis</i>	41
5.3.3. <i>Propriedades mecânicas</i>	42
6. CONCLUSÕES.....	44
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	45
8. REFERÊNCIAS	46

1. INTRODUÇÃO

Filmes a base de quitosana já são amplamente estudados devido às suas propriedades antimicrobianas. No entanto, seu uso pode ser limitado devido às propriedades de barreira ao vapor d'água e mecânicas, se comparado aos filmes sintéticos (CHANG et al., 2019; KAYA et al., 2018; NATARAJ et al., 2018). Na literatura, são encontrados estudos sobre o uso de carga de reforços na tentativa de melhorar estas propriedades, tais como: materiais com meso, micro e nanoscópicos.

Há uma diversidade de possibilidades de reforço para filmes poliméricos, como por exemplo, nanotubos de carbono (LI et al., 2022), laponitas (HAYES; SMITH, 2022), entre uma das diversas opções se encontram também as nanopartículas e as micro/nanofibras de celulose (HUANG; XIE; XIONG, 2018), nanopartículas de prata (MOHAMED; MADIAN, 2020), nanopartículas de dióxido de titânio (LAN et al., 2021), dentre outros materiais. Assim, nanocristais de celulose (NCs) e nanopartículas de quitosana (NQs) podem atuar como agentes de reforço isoladamente, ou de forma associada.

A celulose é o polissacarídeo mais abundante do planeta, sendo o principal constituinte das paredes celulares das plantas (FENNEMA; DAMODARAN, 2008). As boas propriedades mecânicas, térmicas e estruturais das nanofibras de celulose lhes dão um enorme potencial para atuar como um agente de reforço. Além disso, quando a interface é forte, a adesão com a matriz é alcançada, portanto a transferência de tensão da matriz para a fase de reforço é esperada. Devido à natureza hidrofílica do polímero de celulose, a região interfacial é crucial para permitir boa dispersão e distribuição das nanoceluloses na matriz polimérica, além de promover uma boa adesão dos dois componentes. (ALCÁNTARA et al., 2020).

Nanocristais de celulose (NCs) são obtidos através de tratamentos químicos fortes a partir de material lignocelulósico também podendo ser utilizados como elementos de reforço com diferentes propriedades e matrizes de polímeros para diferentes aplicações, como por exemplo, arroz moído (HASSAN et al., 2012), palhada de soja (MARTELLI-TOSI et al., 2018). Além disso, sistemas coloidais oferecem possibilidades únicas para se estudar a nucleação e crescimento de cristais em escala microscópica, já que os 'átomos' do sistema são de tamanho coloidal e, portanto, são mais fáceis de observar do que átomos ou moléculas. Os colóides são polidispersos até certo ponto e as distribuições de tamanho que são maiores do que 5% podem ter um forte efeito sobre cristalização e comportamento de fase (GASSER, 2009).

As características de suspensões coloidais de NCs variam de acordo com a fonte de celulose e o método de isolamento, mas, no geral, tem caráter aniônico e oferecem muitas

vantagens, pois são mecanicamente fortes e altamente cristalinos, podendo ter grandes aplicações nas áreas biomédicas (CHERIAN et al., 2008), farmacêuticas (VILLANOVA et al., 2011) e de alimentos e materiais, funcionando como agentes de reforço em matrizes poliméricas (MARTELLI-TOSI et al., 2018; JENSEN et al., 2015; CHAN et al., 2014).

A quitosana pode ser uma matéria-prima para produção de nanopartículas, por sua vez, é um polissacarídeo catiônico altamente organizado, composto por unidades de glucosamina (β - (1-4) - 2-amino-2-desoxi-D-glicose e β - (1-4) -2-acetamida-2-desoxi-D- glicose) e obtidas pela desacetilação da quitina em meio alcalino. Este polímero tem como características principais a insolubilidade em meio aquoso e solventes orgânicos, propriedades antibacterianas, biodegradabilidade e baixa toxicidade (DEVI; DUTTA, 2017). Nanopartículas de quitosana (NQs) podem ser obtidas por gelificação iônica usando tripolifosfato de sódio (TPP) como agente de reticulação (JANES; ALONSO, 2003). Também podem ser produzidas por polimerização em molde pela adição de ácido metacrílico, onde ocorre a protonação dos grupos quitosana (NH_2) (DE MOURA; AOUADA; MATTOSO, 2008).

Na literatura, trabalhos anteriores já demonstraram a boa interação entre solução de quitosana e NCs. Através da associação destes dois materiais, diversas propriedades de filmes a base de quitosana foram melhoradas, tais como: redução da higroscopicidade (BRANDELERO; SANTOS; MARTIM, 2018), aumento da flexibilidade e estabilidade térmica (FERNANDES et al., 2010), melhoria nas propriedades de barreiras (AZEREDO et al., 2010), aumento da tração e módulo de Young (WU et al., 2014). Assim, a obtenção de uma matriz coesa e densa pela adição de NCs em matrizes de quitosana resulta em filmes que apresentam um alto potencial para serem utilizados como embalagens ou recobrimentos. Entretanto, não há relatos na literatura sobre a adição dos sistemas híbridos obtidos a partir da associação destas partículas (NQs e NCs) em matrizes biopoliméricas a base de quitosana.

Os estudos envolvendo a produção de sistemas híbridos a base de biopolímeros têm aumentado devido às propriedades multifuncionais proporcionadas pelos complexos formados. Melhoria na estabilidade, resistência, dureza, biodegradabilidade, condutividade elétrica e baixa tendência à aglomeração são as características esperadas dessas associações (ALMASI; JAFARZADEH; MEHRYAR, 2018; OKAMOTO-SCHALCH et al., 2020; SALAMA; EL-SAKHAWY; KAMEL, 2016; SINGH; AHMAD, 2014).

Recentemente, foram produzidos sistemas híbridos a base de NCs para estabilização dos compostos ativos encapsulados NQs (OKAMOTO-SCHALSH et al., 2020). Esse estudo teve como principal objetivo apresentar uma nova abordagem sobre o preparo de sistemas nano/micropoliméricos (quitosana e celulose) como veiculadores ácido fólico (AF) e avaliar

sua estabilidade (tempo, temperatura e luz) e liberação em pHs ácido e básico. Na microscopia, foi possível observar a rede tridimensional formada pelas NCs envolvendo as NQs. Em geral, os sistemas híbridos NQ-NCs foram capazes de proteger o AF contra a degradação em pH 3,0 e à luz ultravioleta, provavelmente devido às NCs possuírem maior capacidade para dispersar luz. Resultados de espectroscopia de infravermelho mostraram que os picos de características de AF foram mais pronunciados nas partículas compostas, embora não tenham ocorrido interações químicas fortes entre NQs e NCs. Atualmente, não foram encontrados estudos na literatura sobre o efeito da adição destas partículas em filmes biodegradáveis.

Neste contexto, este projeto tem como principal objetivo a produção e caracterização de sistemas híbridos NQ-NCs e aplicação destas partículas em filmes a base de quitosana. A hipótese deste estudo é que os sistemas híbridos possam atuar em sinergismo nas matrizes biopoliméricas a base de quitosana e melhorar as propriedades de barreira e mecânicas dos filmes, em comparação com a adição destas partículas separadamente. A relevância deste estudo baseia-se na importância de compreender melhor as interações dos materiais estudados para melhorar as aplicações tecnológicas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho foi produzir e caracterizar sistemas híbridos a base de nanocristais de celulose e nanopartículas de quitosana, bem como aplicar as partículas em filmes a base de quitosana.

2.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste projeto de mestrado estão discriminados a seguir:

- Produzir e caracterizar nanocristais de celulose a partir da vagem da soja;
- Produzir e caracterizar sistemas híbridos a base de nanopartículas de quitosana e nanocristais de celulose (NQ-NC);
- Avaliar o efeito da incorporação de nanocristais de celulose ou sistemas híbridos NQ-NC nas propriedades de filmes de quitosana.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Obtenção e caracterização de nanocristais de celulose

A celulose é o polissacarídeo mais abundante do planeta, sendo o principal constituinte das paredes celulares das plantas (FENNEMA; DAMODARAN, 2008). Na parede celular dos vegetais, as microfibrilas de celulose são reticuladas às hemiceluloses e à lignina por meio de interações físicas e ligações covalentes. A partir dessas interações, estruturas sucessivas são formadas, dando origem à parede celular das fibras. As moléculas de celulose agregam-se na forma de microfibrilas em que regiões altamente ordenadas (cristalinas) alternam com regiões menos ordenadas (amorfas). Como consequência dessa estrutura fibrosa, a celulose tem alta resistência à tração e é insolúvel na maioria dos solventes.

As suspensões de nanocelulose podem ser obtidas a partir de várias fontes lignocelulósicas, incluindo palha da soja mercerizada (MARTELLI-TOSI et al., 2016, 2018) (Tabela 1). A produção de soja atingiu 349 milhões de toneladas em 2018 (FAOSTAT, 2020), com a palha correspondendo a 1,2 a 1,5 vezes a quantidade de grãos e costuma ser descartada no campo durante a colheita. A palha da soja é uma fonte importante de material lignocelulósico (biomassa) com 35% de celulose, 21% de lignina insolúvel em ácido, 17% de hemiceluloses, 11% de cinzas, 1% de lignina solúvel e outros constituintes, como proteínas, pectina e substitutos do ácido glucurônico (CABRERA et al., 2015, MARTELLI-TOSI et al., 2017; WAN; ZHOU; LI, 2011), que variam de acordo com o genótipo da planta (ALEMDAR; SAIN, 2008).

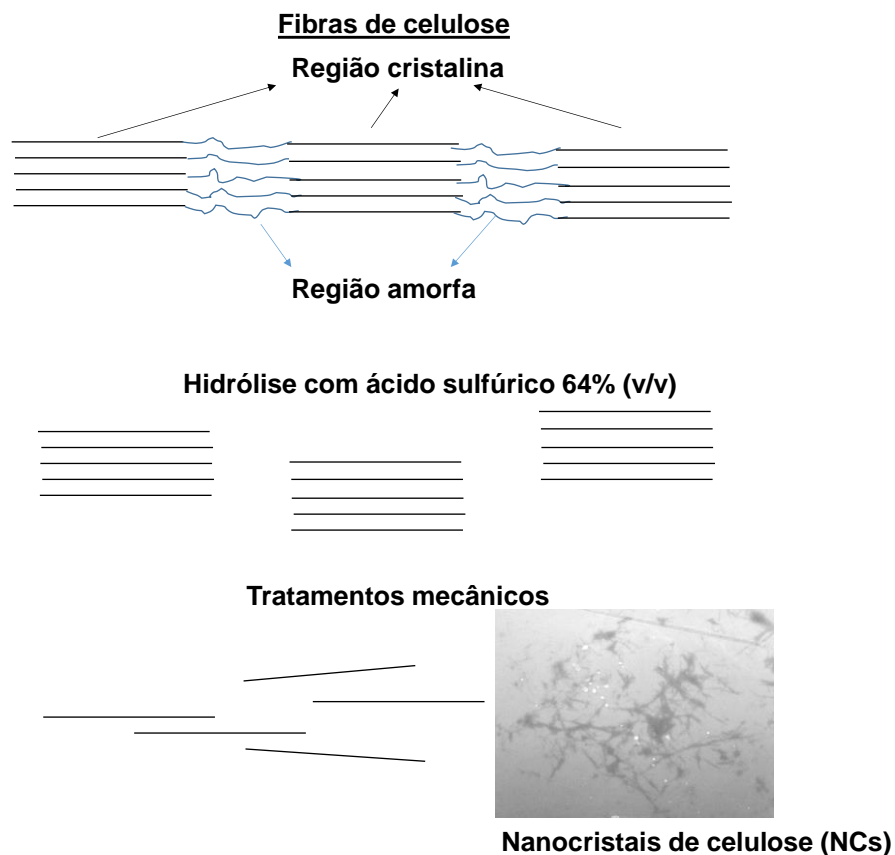
A obtenção destas fibras em nanoescala envolve normalmente três passos: (1) o pré-tratamento dos materiais (hidrólise de hemiceluloses e lignina), (2) a hidrólise parcial da celulose e (3) a desintegração mecânica (SUN et al., 2004).

Nos pré-tratamentos, podem ser utilizados vapor ou soluções a base de hidróxidos de sódio (NaOH) ou potássio (KOH) em altas temperaturas para hidrolisar as hemiceluloses, enquanto soluções a base de clorito de sódio (NaClO₂) ou peróxido de hidrogênio (H₂O₂) hidrolisam parcial/totalmente as ligninas (DUTTA; KARAK, 2019; MARTELLI-TOSI et al., 2017, PRADO; SPINACE, 2019; TIBOLLA et al., 2019). Na hidrólise da cellulose, ácido sulfúrico (H₂SO₄) ou coquetéis enzimáticos a base de celulases são os mais utilizados (MARTELLI-TOSI et al., 2018), embora ácidos menos nocivos ao meio ambiente também têm sido testados, como por exemplo, o ácido acético (CH₃COOH) (DUTTA; KARAK, 2019). De forma geral, NCs ou nanowhiskers são obtidos por hidrólise com ácido sulfúrico e possuem grupos OSO³⁻ que caracterizam o caráter aniônico dessas partículas (MARTELLI-TOSI et al.,

2018; SIQUEIRA et al., 2013; DE JESUS SILVA; D'ALMEIDA, 2009). Os outros processos que podem ser usados para desfibrilar a celulose, como tratamentos enzimáticos (coquetéis de xilanases e celulosas) e mecânicos (ultra homogeneização e sonificação), produzem as nanofibrilas de celulose (NFs) (MARTELLI-TOSI et al., 2018, TIBOLLA; PELISSARI; MENEGALLI, 2014). Os processos mecânicos podem também ser utilizados após a hidrólise ácida com a finalidade de garantir a separação dos cristais de celulose (PERZON et al., 2020), como pode ser observado o esquema da Figura 1.

Em geral, as hidrólises ácidas são capazes de produzir NCs com comprimentos (L) e, conseqüentemente, razão de aspecto (L/D, D: diâmetro), menores que os tratamentos enzimáticos e mecânicos. Os diâmetros das fibras podem mudar de acordo com a fonte lignocelulósica e o processo de produção (tipos de reagentes e/ou número de etapas de processamento), como pode ser observado na Tabela 1. Estas fibras tem sido muito estudadas como agentes de reforço de filmes/materiais compósitos devido às suas excelentes propriedades mecânicas e biodegradabilidade (PERZON et al., 2020).

Figura 1. Esquema de produção de Nanocristais de Cellulose (NCs) por hidrólise ácida com ácido sulfúrico concentrado associada a tratamentos mecânicos para desfibrilação.



Fonte: Própria autoria.

Tabela 1. Fonte dos materiais lignocelulósicos, etapas de produção, e dimensões de NCs e NFs.

Fonte	Etapas de produção	Dimensões	Referências
Chá verde fermentado	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento (NaClO ₂) e hidrólise com CH ₃ COOH	L: 200 nm D: 20 nm	DUTTA; KARAK, 2019
Capim-limão	Pré-tratamento químico (NaOH) e hidrólise enzimática (Viscozyme L)	L: 105 nm	KUMARI et al., 2019
Folhas da coroa do abacaxi	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento (H ₂ O ₂) e hidrólise com H ₂ SO ₄	L: 100-400 nm D: 20-60 nm	PRADO; SPINACE, 2019
Casca de banana	Pré-tratamento químico (NaOH and KOH) e hidrólise enzimática (xylanase)	L: 1490-1544 nm D: 3.7-8.8 nm	TIBOLLA et al., 2019
Palhada de Soja	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento (H ₂ O ₂) e hidrólise com H ₂ SO ₄	L: 100-600 nm D: 9 nm	MARTELLI-TOSI et al., 2018
Palhada de Soja	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento (H ₂ O ₂) e hidrólise enzimática (Optimash VR)	L: > 1 µm D: 9 nm	MARTELLI-TOSI et al., 2018
Polpa de beterraba	Branqueamento (NaClO ₂) e hidrólise enzimática (Viscozyme L, Pectinex Ultra Clear, Pulpzyme HC, Fibercare R and Aquazym 240 L)	L: 5 nm D: 1 µm	PERZON et al., 2020
Casca de pistache	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento (ethanol/toluene) e hidrólise com H ₂ SO ₄	L: 187 nm D: 12 nm	MARETT et al., 2017
Casca de banana	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento	L: 335-454 nm	PELLISSARI et al., 2017

	(NaClO ₂) e hidrólise com H ₂ SO ₄	D: 10-22 nm	
Algodão	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento (H ₂ O ₂) e hidrólise com H ₂ SO ₄	L: 17-230 nm D: 2-25 nm	WANG et al., 2017
Bagaço de cana-de-açúcar	Pré-tratamento com água líquida e quente, hidrólise enzimática (Cellic) e hidrólise com H ₂ SO ₄	L: 195-250 nm D: 16-17 nm	CAMARGO et al., 2016
Palha de cevada	Pré-tratamento enzimático (<i>Apergillus niger</i>), branqueamento (H ₂ O ₂) e hidrólise com H ₂ SO ₄	L: 270 nm D: 15 nm	FORTUNATI et al., 2016
Casca de mandioca	Pré-tratamento químico (NaOH), branqueamento (H ₂ O ₂) e hidrólise com H ₂ SO ₄	L: 280 nm D: 30 nm	FORTUNATI et al., 2016

3. Produção de sistemas híbridos contendo nanofibrilas ou nanocristais de celulose

Materiais híbridos funcionais baseados em nanoceluloses podem ser preparados partir de dispersões aquosas de NFs ou NCs associadas à outras matrizes. O objetivo desta interação consiste em melhorar as características do material pela associação das propriedades individuais de cada componente e criar uma nova possibilidade de funcionalização (CAMPO et al., 2018; DU et al., 2019). As nanoceluloses são, portanto, dispersas em uma suspensão polimérica, oferecendo vantagens como bioatividade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (CAMPO et al., 2018; ZHANG et al., 2019a). Nos últimos anos, os sistemas híbridos baseados em nanocelulose são o foco de estudos em vários campos de aplicação, tais como: biomedicina (DOENCH et al., 2018), filmes e revestimentos (MARTELLI-TOSI et al., 2018; TIBOLLA et al., 2019) ou partículas transportadoras de metal ou outros nutrientes (LI et al., 2019).

Para a produção de filmes e misturas, as nanoceluloses são geralmente associadas a polímeros, como amido (TIBOLLA et al., 2019), proteína (MARTELLI-TOSI et al., 2018), poliéster (DUTTA; KARAK, 2019) entre outros. A incorporação de NFs ou NCs nessas matrizes resulta em materiais com maior módulo de Young (MY), resistência à tração, resistência à fratura e deformação de ruptura (Tabela 2). Para os géis, como aerogéis ou hidrogéis, a integração de polímeros com NFs ou NCs resulta em materiais com poros maiores. Isso é viável para diversas aplicações, pois afeta positivamente os efeitos de absorção de líquidos (OLIVEIRA et al., 2019), liberação controlada (PAULRAJ et al., 2018) e capacidade de condução elétrica (CHEN et al., 2019). Outras associações também são possíveis entre nanoceluloses e diferentes matrizes, resultando em diferentes materiais.

Tabela 2. Associação das nanoceluloses com outras matrizes para a produção de novos materiais híbridos.

	Matriz Associada	Produção	Produto Final	Propriedades/efeitos	Referências
NFs/	Poliacrilamida	Polimerização por radical livre	Hidrogel	Resistência à tração, resistência à fratura e tensão de ruptura	CHEN et al., 2019
	Amido	Fusão	Filme	MY e resistência à tração	TIBOLLA et al., 2019
	Óleo essencial	Liofilização	Emulsão	Liberação controlada de óleos	ZHANG et al., 2020
	Quitosana	Homogenização	Hidrogel	Viscosidade e taxa de cisalhamento	DOENCH et al., 2018
	Proteína	Fusão	Filme	Permeabilidade ao vapor de água, MY e resistência à tração	MARTELLI-TOSI et al., 2018
	Xiloglucano/pectina	Homogenização	Hidrogel	Liberação controlada de drogas	PAULRAJ et al., 2018
	Alginato	Reticulação de cátions metálicos	Hidrogel	Liberação controlada de drogas	ZHANG et al., 2020
	Sepiolita	Fusão por dispersor de alto cisalhamento	Nanopapel	Caráter hidrofílico e degradação térmica	CAMPO et al., 2018
	Queracetina	Liofilização	Nanoparticula	Encapsulação de queracetina	LI et al., 2019a
			Liofilização	Aerogel	Tamanho de poro e modulo elástico
NCs/	Xiloglucano				
	Poliéster	Polimerização <i>in situ</i>	Filme	Resistência à tração, alongamento e dureza	DUTTA; KARAK, 2019
	Acetato de polivinil	Liofilização	Aerogel	Tamanho de poro e absorção de solvents não polares	GONG et al., 2019
	Acetato de polivinil	Liofilização	Aerogel	Tamanho de poro, capacidade de absorção de água e estabilidade	OLIVEIRA et al., 2019
	Proteína	Fusão	Filme	MY e resistência à tração	MARTELLI-TOSI et al., 2018
	Alginato	Extrusão	Hidrogel	Liberação controlada de drogas	SUPRAMANIAM et al., 2018
		Fusão	Filme	MY, resistência à tração e	PELISSARI et al., 2017

Amido			enlongamento	
Gelatina	Radical livre Polimerização	Hidrogel	Liberção controlada de drogas	OOI et al., 2016
Polilático quitosana/ácido	Fusão	Filme	MY, resistência à tração e enlongamento	FORTUNATI et al., 2016

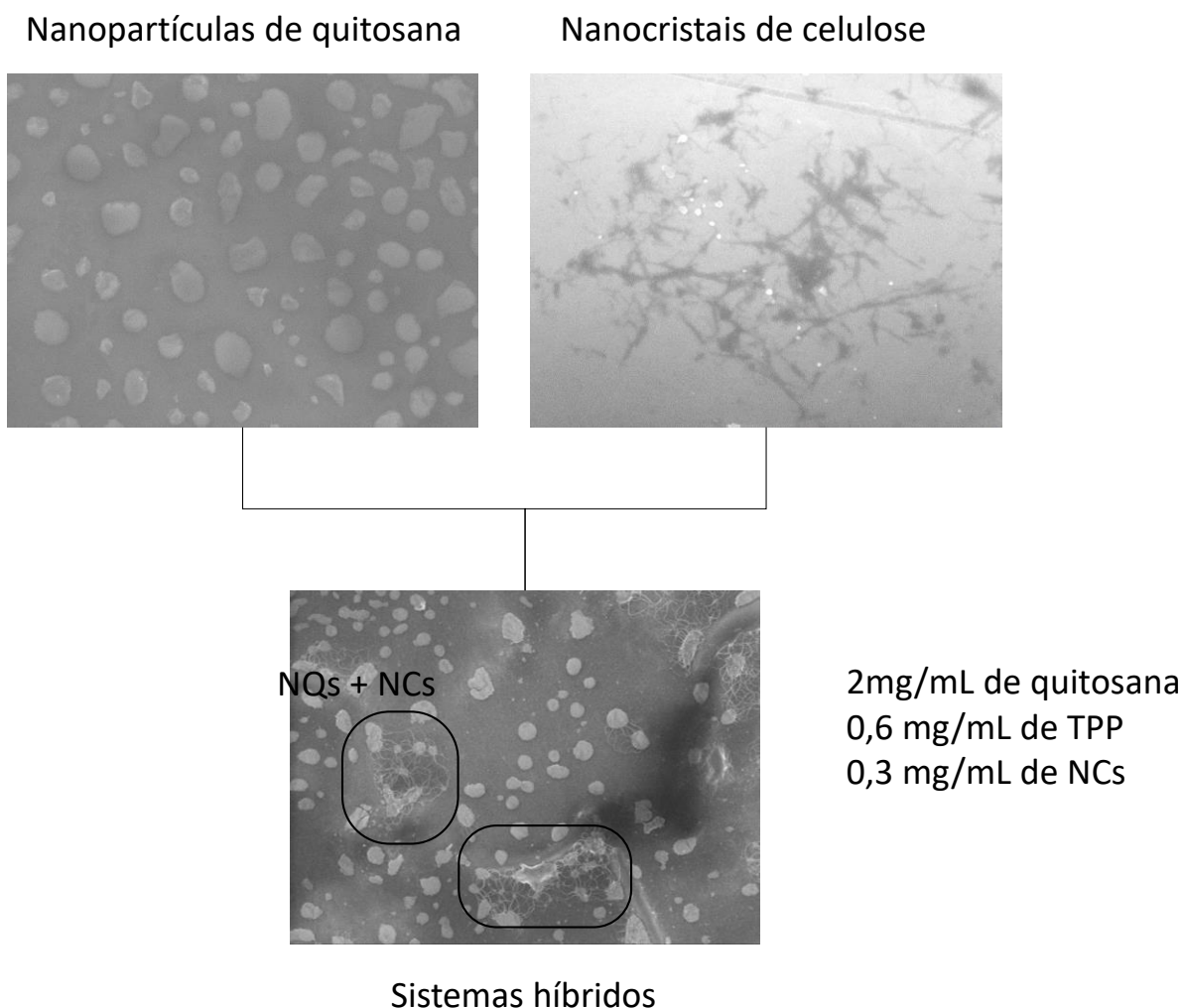
As propriedades do produto final dependem da boa dissociação das nanoceluloses na matriz. Recentemente, nosso grupo de pesquisa produziu sistemas híbridos com a associação de NQs e NCs para encapsulação de ácido fólico (OKAMOTO-SCHALCH et al., 2020). A quitosana, em meio aquoso ácido, apresenta suas aminas protonadas (NH_3^+) e as NCs possuem grupos hidroxilas e OSO^{3-} quando obtidas a partir da hidrólise com ácido sulfúrico (KOLAKOVIC et al., 2012). Neste estudo, as NQs foram produzidas por gelificação iônica utilizando tripolifosfato de sódio (TPP) (BUGNICOURT; LADAVIÈRE, 2016). Este procedimento foi realizado em dispersões contendo NCs.

As micrografias obtidas com FEG-MEV podem ser observadas na Figura 2 (OKAMOTO-SCHALCH et al., 2020). Nos sistemas híbridos, foi possível observar NQs envolvidas pela estrutura fibrosa dos NCs, conforme indicado na imagem. Entretanto, ainda foram observadas muitas NQs isoladas. Portanto, este método de produção de sistemas híbridos deve ser melhor estudado, variando concentrações de ambas as partículas.

Como matrizes de encapsulação, os sistemas híbridos NQ-NCs foram capazes de proteger o AF contra a degradação em pH 3,0 e à luz ultravioleta, provavelmente devido às NCs possuírem maior capacidade para dispersar luz. Resultados de espectroscopia de infravermelho mostraram que os picos característicos de AF foram mais pronunciados nas partículas compostas, embora não tenham ocorrido interações químicas fortes entre NQs e NCs. Alguns outros trabalhos também estudaram a estabilização de componentes ativos utilizando sistemas híbridos. Akhlaghi et al. (2014) usou NCs e o polímero de quitosana para encapsular vitamina C e obteve 91% de eficiência na encapsulação (EE) em pH 5 e 72% em pH 3. Xu et al. (2019) produziu um hidrogel com nanocompósitos baseado em NCs e quitosana por meio de uma reação Schiff de base, entre grupos aldeídos e grupos amino livres como transportador de teofilina, e o EE variou de 85 a 92%.

Atualmente, não foram encontrados estudos na literatura sobre o efeito da adição dos sistemas híbridos (NQ-NCs) em filmes biodegradáveis.

Figura 2. Micrografias eletrônicas obtidas com FEG-SEM de nanopartículas de quitosana (NQs), nanocristais de cellulose (NCs) e sistemas híbridos.



Fonte: Adaptado de Okamoto-Schalch et al. (2020).

3.2.Reforço de filmes biodegradáveis a base de quitosana

Filmes a base de quitosana já são amplamente estudados devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. No entanto, seu uso pode ser limitado devido às propriedades de barreira ao vapor d'água e mecânicas, se comparados aos sintéticos (CHANG et al., 2019; KAYA et al., 2018; NATARAJ et al., 2018). Na literatura, são encontrados estudos sobre o uso de reforços na tentativa de melhorar estas propriedades, tais como: micro/nanofibras de cellulose (HUANG; XIE; XIONG, 2018), nanopartículas de prata (MOHAMED; MADIAN, 2020), nanopartículas de dióxido de titânio (LAN et al., 2021), dentre outros materiais.

Em filmes de quitosana, foi observado que a adição de microfibrilas de cellulose,

modificadas em superfície com solução de uréia, melhorou as propriedades mecânicas em concentrações até 7% (wt) (tensão na ruptura = 59,1 MPa), comparado com o controle (filme de quitosana 2%: 29,9 Mpa). A incorporação de nanopartículas de prata também melhora as propriedades mecânicas (tensão na ruptura ~80 Mpa), comparado com o controle (50 Mpa), além de aumentar a atividade antimicrobiana dos filmes, principalmente contra *Staphylococcus aureus* (MOHAMED; MADIAN, 2020)

Dehnad et al. (2014) prepararam nanocelulose com o comprimento de 20-50 nm. Em seguida, biocompósitos de quitosana e nanocelulose foram feitos com as proporções de 30%, 60% e 90% de quitosana. Os nanocompósitos apresentaram um aumento na temperatura de transição vítrea (T_g), de 115°C, para 124°C, e temperatura de fusão (T_m) de 97°C para 99°C, assim podendo ser observado uma melhora nas propriedades térmicas dos filmes biopoliméricos. Foi também observado que estes filmes apresentaram efeitos inibitórios contra bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* e gram-negativas (*Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*).

Devido ao seu tamanho, a adição de fibras em escala nanométrica, sejam NCs ou NFs, são mais utilizadas pois a maior área superficial possui mais sítios de interação e, portanto, menores quantidades de material são necessárias para melhorar as propriedades da matriz polimérica em comparação com suas contrapartes de tamanho micro (LUZ YOLANDA TORO SUAREZ, 2015). Os agentes de reforço baseados em micro/nanofibras de cellulose são incorporados para servir como reticuladores nas matrizes de filmes compósitos. Entretanto, dependendo da concentração, as partículas tendem a se agregar e desestruturar a matriz, tendo efeito inverso. Desta forma, diferentes concentrações de partículas devem ser testadas com a finalidade de obter uma concentração ótima para reforço da matriz polimérica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

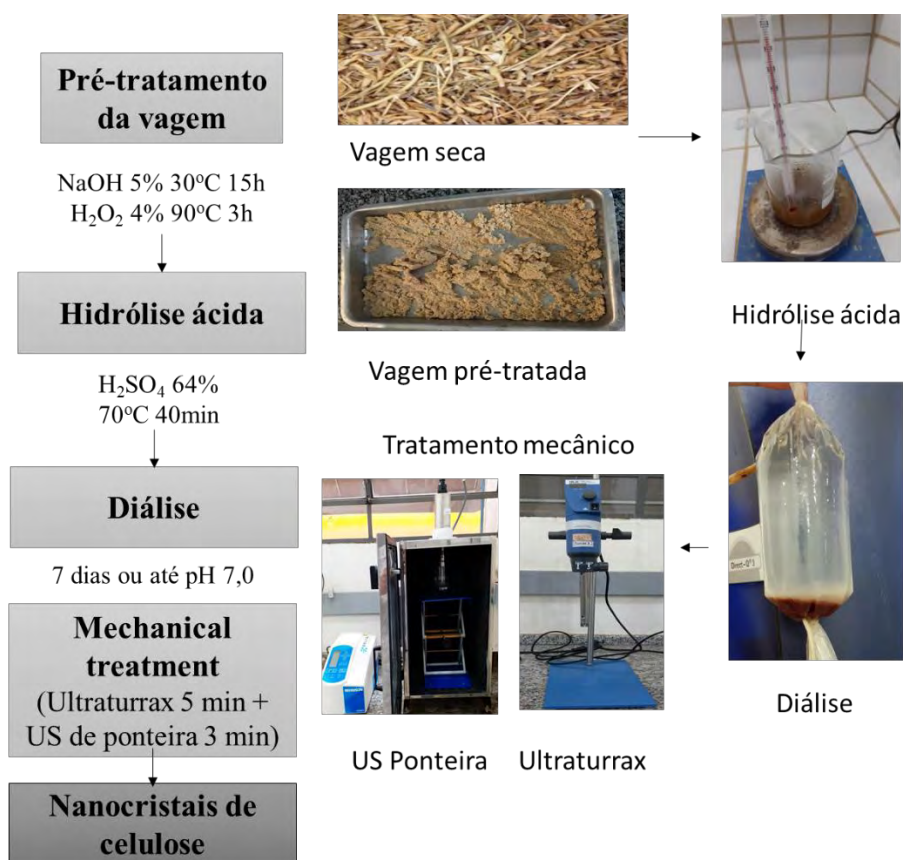
A quitosana de média massa molar com grau de desacetilação de 80% foi adquirida da Sigma-Aldrich (Missouri, EUA). Os outros reagentes utilizados neste trabalho, tais como ácido acético PA, ácido sulfúrico, clorito de sódio PA, peróxido de hidrogênio, hidróxido de sódio e sulfato de magnésio heptahidratado, foram adquiridos de outras empresas.

A água ultrapura foi utilizada do sistema de purificação Direct Q3 (Millipore, Estados Unidos, Billerica). Na produção da nanocelulose foram usadas vagens de soja, gentilemnte cedidos pela Embrapa Soja (Londrina, Brazil).

4.2. Pré-tratamento químico da vagem de soja e caracterização

A vagem de soja foi submetida a um pré-tratamento químico de deslignificação/branqueamento, seguindo a metodologia descrita por Martelli-Tosi et al. (2017) (Figura 3). 100 g de resíduo foram suspensos em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 17,5% (m/v), em um agitador magnético (*Color Squid*, IKA, Guangzhou, China) à aproximadamente 1100 RPM em temperatura ambiente (25 °C) durante 15 h. Após esse período, o material foi filtrado e lavado com água corrente até neutralizar o pH utilizando peneiras de 100 e 200 mesh. A última lavagem foi realizada com água destilada. As fibras resultantes foram branqueadas com uma mistura de 4% de peróxido de hidrogênio (m/v), 2% de hidróxido de sódio (m/v) e 0,3% de sulfato de magnésio heptahidratado, em um agitador magnético a aproximadamente 75°C por 3 h. A suspensão foi deixada em repouso por 15h, depois lavada com água até atingir o pH neutro. Em seguida, foram realizadas uma lavagem com álcool etílico e uma com acetona para facilitar a secagem das fibras. Estas foram colocadas em placas de petri e secas em estufa à 50 °C por 3 dias. Depois de retiradas da estufa, as amostras foram trituradas em um liquidificador e classificadas utilizando peneiras de 28 mesh (Tyler) para seguir para a hidrólise ácida.

Figura 3. Fluxograma da produção de nanocristais de celulose.



A umidade e cinzas das amostras foram determinadas pela metodologia AOAC (1997) e a determinação de proteínas foi obtida pelo método Kjeldahl segundo a técnica descrita por descritas por Silva e Queiroz (2009). O conteúdo de lipídeos foi determinado através da obtenção de extrato etéreo, também segundo a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2009). O teor de fibra bruta foi obtido através da digestão ácida e básica da amostra. A determinação de holocelulose foi feita de acordo com o método descrito na norma TAPPI T19 om-54 (1991) e o teor de celulose foi determinado através da adaptação de metodologia descrita por Sun (2011).

4.3. Produção e caracterização de NCs

A produção de NCs foi realizada por via ácida seguindo a metodologia de Martelli-Tosi et al. (2018) (Figura 3). 2,0 g de resíduo pré-tratado para cada 60 mL de ácido sulfúrico 64% (m/m) adicionado. O preparo da solução ácido sulfúrico 64% foi feito 1 dia antes de ser utilizado no processo para completo resfriamento da mesma.

A mistura foi mantida sob agitação à 65 °C por 40 minutos, em aproximadamente 1100 rpm. Após a hidrólise, a suspensão foi diluída em aproximadamente 10 vezes e deixada em repouso de um dia para o outro. O excesso de ácido foi removido e o precipitado foi dialisado

em uma membrana semipermeável de celulose até pH neutro (cerca de sete dias). Posteriormente, a suspensão foi tratada mecanicamente com ultraturrax (T25, IKA, Brasil) por 5 minutos (14000 rpm) e sonificador de ponteira por 3 minutos (550W, amplitude de 70%) (SFX 250, Branson Ultrasonics, EUA).

4.4. Preparo dos sistemas híbridos de NQ-NCs

O preparo dos sistemas híbridos foi realizado de acordo com Okamoto-Schalch et al. (2020). A quitosana foi inicialmente solubilizada em solução de ácido acético 1% na concentração de 0,4% (m/v) para atingir na suspensão final 0,2% (m/v). A solubilização foi realizada sob agitação (agitador magnético, 1000 rpm) por 16h. A solução de tripolifostato de sódio foi feita na concentração de 0,12% para atingir concentração final de 0,06% (m/v). O sistema híbrido foi feito em um béquer, colocou-se água destilada, ácido acético (1% m/v), suspensão de NCs e por último a solução de quitosana e deixou-se sob agitação (800 rpm), as proporções utilizadas estão apresentadas na Tabela 3. Com o auxílio de uma bureta, pelo método gota-gota, 25 mL da solução de TPP foi adicionado, com uma distância de 10 cm entre a ponta da bureta e o béquer, em 25 mL da suspensão híbrida em um béquer em agitação (800 rpm). Em seguida as amostras foram transferidas para tubos Falcon e armazenadas na geladeira (4°C).

Tabela 3. Concentrações de NCs e quitosana para preparo dos sistemas híbridos.

Amostras	CONCENTRAÇÃO DE NCS (MG/100G DE SUSPENSÃO)*	CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA (MG/100G SUSPENSÃO)
NQS	0	400
NCS	390	0
NQ-NC 4:1	97,5	400
NQ-NC 8:1	48,75	400
NQ-NC 16:1	24,4	400

*Resultado obtido após determinar a matéria seca.

4.5. Caracterização das NCs e dos sistemas híbridos de NQs e NCs

4.5.1. Tamanho de Partículas e Potencial Zeta

O tamanho de partícula dos compostos híbridos foi determinado por espalhamento de luz dinâmico (DLS), utilizando o equipamento ZetaPlus (Brookhaven Instruments Corp., 24 Holtsville, EUA) em temperatura ambiente (25 °C). Para isso, as amostras foram diluídas até 0,01% e analisadas a pH 7,0.

O potencial zeta das partículas em suspensão foi determinado por medidas de mobilidade eletroforética pela técnica de espalhamento de luz eletroforético, usando-se o equipamento ZetaPlus (Brookhaven Instruments, EUA), a 25 °C.

4.5.2. Concentração (Matéria Seca)

A concentração das amostras foi feita pela matéria seca da suspensão de NCs, em triplicata. As placas de petri foram colocadas na estufa à 105°C por 24 horas. Com auxílio de pinça e luvas, as placas foram retiradas e transferidas para um dessecador até seu resfriamento. Em seguida placas foram pesadas e uma alíquota de 5 mL de amostra foi inserida e pesada. As placas foram colocadas na estufa novamente a 105°C durante 2 dias. Então as placas foram retiradas e transportadas para um dissecador novamente até seu resfriamento. Por último fez-se a pesagem das placas e foi calculado utilizando a equação x abaixo.

$$C = \frac{(AS - P)}{(A - P)} \cdot 100$$

Sendo que C representa a concentração (%), AS o peso da amostra seca, A o peso inicial da amostra e P o peso da placa de petri.

4.5.3. Morfologia das partículas

A morfologia das nanopartículas foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (FEG-SEM), utilizando um microscópio FEI Magellan 400 L, e por microscopia eletrônica de transmissão, utilizando um microscópio FEI TECNAI G² F20 HRTEM. Esta análises foram realizadas no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

4.5.4. Propriedades Térmicas

A análise termogravimétrica foi realizada em um analisador termogravimétrico (STA 449F3, NETZSCH, Alemanha). Amostras de ~10 mg foram colocadas no porta-amostra e

aquecidas de 20 a 700 °C, a 10 °C/min., sob atmosfera de nitrogênio (20 mL/min). As curvas termogravimétricas e a temperatura de início de decomposição foram reportadas.

4.5.5. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR das partículas (suspensões liofilizadas) foram obtidos usando-se um espectrofotômetro (Spectrum-One, Perkin-Elmer, EUA) com acessório UATR (“Universal Attenuator Total Reflectance”). As amostras liofilizadas foram colocadas no suporte de cristal sob pressão. As análises foram realizadas na faixa espectral de 600 a 4000 cm⁻¹ com resolução de 2 cm⁻¹, realizando um total de 40 varreduras para cada amostra.

4.5.6. Difração de Raios X (DRX)

Os padrões cristalográficos das partículas, previamente liofilizadas, foram obtidos utilizando-se um difratômetro de Raios-X (Miniflex600, Rigaku, Japão) com radiação CuK α ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$), operando a 40 kV e corrente de 15 mA. As amostras foram analisadas no intervalo de $2\Theta = 5^\circ$ a 40° , com velocidade de varredura de 1°/minuto (Martelli-Tosi et al., 2017). O índice de cristalinidade (IC) das amostras foi calculado de acordo com a Equação 1 (SEGAL et al., 1959).

$$IC = (I_{002} - I_{(am)}) / I_{002} \times 100 \quad (1)$$

Onde, I_{002} é a intensidade da difração do plano (002) em $2\Theta = 22,8^\circ$ (Contribuição cristalina), e I_{am} é a intensidade da difração em $2\Theta = 18^\circ$ (Contribuição amorfa).

4.6. Produção dos filmes

Os filmes a base de quitosana foram produzidos a partir da solubilização da quitosana (2 g quitosana/100 g de solução de ácido acético 1% (v/v)), sob agitação magnética por, no mínimo 16 horas, até completa solubilização, à temperatura ambiente. Esta solução foi misturada (agitação magnética, 15 min, 150 rpm) com as suspensões contendo NQs ou NCs ou sistemas híbridos NQ-NCs, em diferentes concentrações, determinadas a partir de testes preliminares. A concentração final de quitosana foi fixada em 1% para todas as suspensões filmogênicas (SF). Os filmes foram produzidos pelo método *casting* (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992), em que as SF foram colocadas em placas de petri (12 cm x 12 cm) (1,25 g de biopolímero/placa) e desidratadas em estufa com circulação de ar (Marconi MA-037, São Paulo, Brasil) à 30°C por 24 horas. Após secagem, os filmes foram armazenados em ambiente com umidade controlada

(58% UR) durante 7 dias (ASTM, 2002). Para as análises de microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica, e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, as amostras foram condicionadas sobre sílica gel por 7 dias.

Primeiramente, foram produzidas partículas híbridas (NQ-NC) através da reticulação da quitosana com o TPP. Para isso, foi feito o gotejamento lento (1 gota/s) de TPP (0,6 mg/mL), sob agitação mecânica, em uma suspensão de nanofibras (0,4 mg/mL) com quitosana (2 mg/mL) solubilizada utilizando ácido acético 1% (v/v suspensão) (Figura 2). Este gotejamento foi realizado com a relação de 1:1, volume de TPP: volume de suspensão de NC com quitosana.

Figura 4. Produção de sistemas híbridos de nanopartículas de quitosana e nanocristais de celulose (NQ-NC).



A produção de filmes foi realizada com uma mistura de solução de quitosana (20 mg/mL) e suspensão de partículas (NQ-NP). Essa mistura foi adicionada na proporção de 1:1 (m:m). Também foram produzidas amostras controle somente com quitosana (Ch), e outra contendo suspensão de Nc (Ch-Nc). Os filmes foram produzidos por *casting* em estufa a 40 °C. Até o presente, não foram realizadas as caracterizações.

4.7. Caracterização dos filmes

4.7.1. Umidade e solubilidade em água

A umidade dos filmes foi determinada gravimetricamente, por secagem dos filmes à 105°C, durante 24 horas (SOBRAL et al., 2001).

Para a solubilidade em água, os filmes foram cortados em círculos de diâmetro de 2 cm, adicionados em 50 mL de água destilada e colocados para agitação (25 rpm) em mesa agitadora orbital (MA-141, Marconi), a 25 °C, durante 24 horas. Após o tempo de agitação, a parte dos filmes não solubilizada foi submetida a secagem em estufa a 105 °C, durante 24 horas (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992). A solubilidade dos filmes em água foi calculada de acordo com a Equação 2:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{m_{si} - m_{sf}}{m_{si}} * 100 \quad (2)$$

Sendo m_{si} e m_{sf} , o peso inicial e final dos filmes (em matéria seca), respectivamente.

4.7.2. Microscopia de força atômica (AFM)

Os filmes foram observados no modo semi-contato, utilizando-se um microscópio de força atômica (NT-MDT, Rússia), com uma frequência de ressonância de 240 kHz, força de contato de 11,8 N/m, e velocidade de varredura de 0,3 Hz. Os filmes foram analisados em posições aleatórias com áreas de 20 µm x 20 µm. A rugosidade média (R_a , em nm) foi calculada com o software do equipamento (Nova Px 3.2.5 Rev 1266 software).

4.7.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da superfície de secagem dos filmes foi estudada utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (TM-3000, HITACHI, Japão). A amostra do filme foi aplicada sobre fita de carbono e analisada sem nenhum preparo (FLAKER et al., 2015). As amostras também foram criofaturadas após congelamento em nitrogênio líquido, para observação da seção transversal. As micrografias foram realizadas em posições aleatórias, empregando uma voltagem de 5 a 15 kV.

4.7.4. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi determinada de acordo com GONTARD; GUILBERT; CUQ (1992). Amostras circulares foram fixadas em células de permeação de alumínio, contendo sílica gel (UR = 0%; pressão de vapor de 0 Pa). As células de permeação foram colocadas em dessecadores contendo água destilada (UR = 100%; pressão de vapor de 3,1691 kPa), mantidas a 25 °C. O ganho de massa nas células de permeação foi registrado por intervalos de 24 horas por 7 dias. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) nos filmes foi calculada com a Equação 3:

$$PVA = \frac{\Delta G}{\Delta T} \left(\frac{d}{A\Delta P} \right) \quad (3)$$

Sendo $\Delta G/\Delta T$, a taxa de ganho de água na célula de permeação, no tempo (g/h), A , a área de permeação (32,17 cm²), d , a espessura do filme ativo (mm), e ΔP , diferença de pressão de vapor entre as superfícies dos filmes (3,1691 kPa).

4.7.5. Espessura e propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas por ensaios de tração utilizando-se um texturômetro TA.XT2i (TA Instruments, NC, EUA), de acordo com ASTM D882-02. Os filmes foram cortados com um comprimento útil de 5 cm, e largura de 1,5 cm. Esses testes foram realizados com uma velocidade de separação de 1 mm/s. A tensão na ruptura (TR, em MPa), e a elongação na ruptura (ER, em %) foram obtidas diretamente das curvas de tensão em função da deformação, utilizando o software do equipamento (Exponent Lite Express, v4,0,13,0). O módulo elástico (ME, em MPa) foi obtido pelo cálculo do coeficiente linear na fase elástica.

O teste de perfuração dos filmes foi realizado de acordo com a norma ASTM F1306, utilizando o mesmo equipamento. As amostras de filmes foram cortadas em círculos, fixadas em uma célula de 15 mm de raio e perfuradas por uma probe de 3 mm de diâmetro, com uma velocidade de 1 mm/s (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992). A força máxima de perfuração (FP, em N) foi obtida da curva de força em função do deslocamento da probe, utilizando o software do equipamento (Exponent Lite Express, v4,0,13,0). A deformação na perfuração (DP, em %) foi calculada com a Equação 4, sendo l_0 o comprimento inicial do filme (raio da célula de 15 mm) e D o deslocamento da probe na perfuração (mm).

$$DP (\%) = \frac{\sqrt{(D^2 + l_0^2) - l_0}}{l_0} \times 100 \quad (4)$$

4.7.6. Propriedades de barreira à luz UV/Visível

As propriedades de barreira à luz UV/visível dos filmes foram determinadas de acordo com Fang et al. (2002), utilizando-se um espectrofotômetro UV/Visível (Lambda 35, Perkin Elmer) com comprimento de onda variando de 200 a 800 nm. Para essa análise, os filmes foram cortados em tiras de 10 cm de comprimento e 1,0 cm de largura e colocados no lugar da cubeta, de forma que o feixe de luz atravessasse o filme. O local da cubeta do branco foi mantido vazio. A barreira ao UV/luz visível foi analisada qualitativamente interpretando-se o espectro de transmitância dos filmes.

4.8. Análise estatística dos resultados

Todos dados experimentais foram submetidos à análise de variância. Os resultados das caracterizações das partículas, bem como os resultados de caracterização dos filmes, foram analisados com o teste de Tukey, com nível de probabilidade de 5%, com auxílio do software Statistica 7.

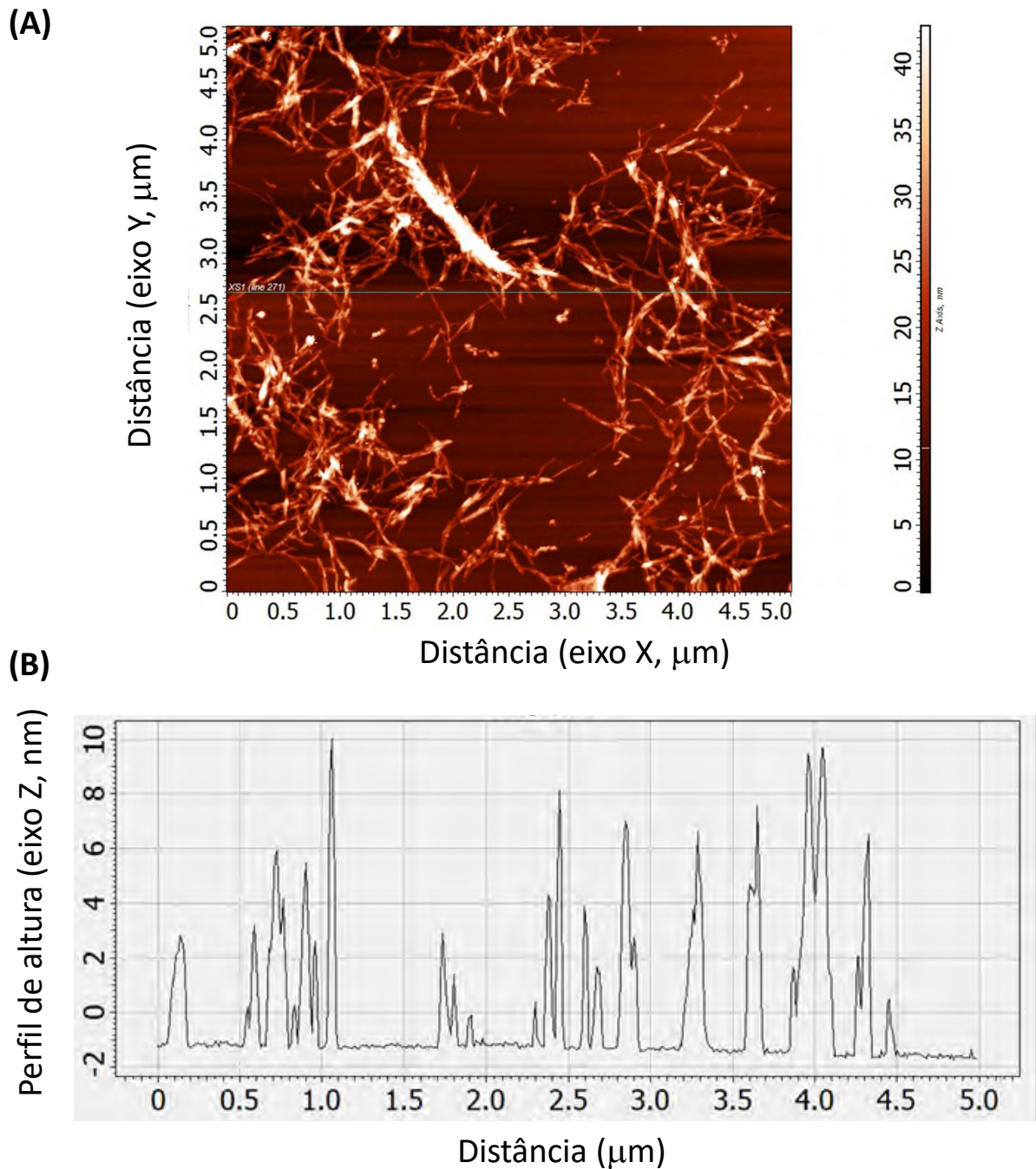
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Produção e caracterização de NCs

Até o presente, foi possível obter uma suspensão de NCs com matéria seca igual a 0,39% (g de NCs/100g de suspensão), o que significa um rendimento de 19,5% (g NCs/100 vagem mercerizada). Este valor corresponde principalmente à concentração de fibras em dispersão e é superior à concentração obtida em trabalhos anteriores utilizando palhada de soja (MARTELLI TOSI et al., 2018). A maior diferença entre estes dois estudos foi a recuperação das NCs após a diálise, fator de grande influência no rendimento, além de ser utilizada apenas vagem no presente trabalho.

A Figura 4-A apresenta a micrografia dos NCs obtida por AFM. Observa-se as fibras de celulose em nanoescala com diâmetro de até 12 nm, conforme o perfil de altura obtido a partir da micrografia (Figura 4-B). Martelli-Tosi et al. (2018), utilizando palhada de soja, com o mesmo pré-tratamento e mesmo processo de hidrólise ácida obtiveram diâmetros médios semelhantes ($9,4 \pm 3,3$ nm) embora com comprimentos diferentes. NCs obtidos a partir de palha de trigo e a casca de soja tiveram diâmetros maiores (30 - 40 nm e 20 - 120 nm, respectivamente) (ALEMDAR; SAIN, 2008) do que as nanoceluloses de vagem de soja obtidas neste estudo. Na escala nanométrica, a morfologia da celulose não depende apenas do método de extração, mas também da variedade/tipo de matéria-prima lignocelulósica.

Figura 5. (A) Micrografia representativa da estrutura dos Nanocristais de Celulose (NCs) e (B) perfil de altura (nm) obtidos por microscopia de força atômica (AFM).



5.2. Distribuição do tamanho de partículas e potencial Zeta

A Figura 5 apresenta as distribuições de tamanho das partículas obtidas pelo método de espalhamento de luz dinâmico (DLS), em relação à porcentagem de intensidade espalhada (coluna 1), ou em relação ao número de partículas (coluna 2). A linha (eixo à direita) corresponde aos valores acumulados (até 100%) dos respectivos resultados. As proporções dos

sistemas híbridos estão apresentadas na seguinte sequência: A) NQs, B) NQ-NC 4:1, C) NQ-NC 8:1, D) NQ-NC 16:1.

De modo geral, os histogramas apresentaram distribuição bimodal para a maioria dos sistemas híbridos, quando avaliamos os resultados em intensidade (Figura 4 - coluna 1). Assim, pode-se observar que há aglomerações de partículas (Tabela 5). Entretanto, ao avaliar a relação em número de partículas, pode-se observar que a maior parte das partículas apresentam diâmetros médios próximos (Tabela 6).

De acordo com os valores apresentados nas Tabelas 5 e 6, a suspensão que apresentou partículas com menor dimensão foi a que não continha NCs em sua composição, com o tamanho em número correspondente à 150 ± 70 nm e em intensidade 225 ± 80 nm respectivamente. A obtenção de nanopartículas de quitosana é bastante estudada na literatura e o diâmetro obtido está de acordo com a literatura, utilizando as mesmas proporções de quitosana/TPP (BARROS-ALEXANDRINO; TOSI; ASSIS, 2019). Já os sistemas híbridos apresentaram diâmetros micrométricos NQ-NC 4:1 (9891 ± 336 nm), NQ-NC 8:1 (1776 ± 274 nm), NQ-NC 16:1 (413 ± 44 nm). Pode-se observar que, quanto maior a quantidade de NCs incorporadas, maior o diâmetro das partículas. Estes valores evidenciam a formação de maior quantidade de partículas híbridas similares às obtidas e apresentadas na Figura 2, contendo partículas de quitosana envolvidas por NCs. Entretanto, as análises de microscopia destas partículas ainda não foram realizadas para confirmar qual foi a melhor proporção utilizada, visto que pode ter ocorrido aglomeração das NCs. É importante observar que a técnica de DLS possui correlações numéricas para avaliar diâmetro de partículas com alta esfericidade, o que não caracteriza aglomerados de NCs. Portanto, as análises de microscopias (FEG-SEM e AFM) são de fundamental importância para a caracterização destes sistemas.

Figura 6. Distribuição de tamanho das partículas dos sistemas híbridos: A) NQs, B) NQ-NC 4:1, C) NQ-NC 8:1, D) NQ-NC 16:1.

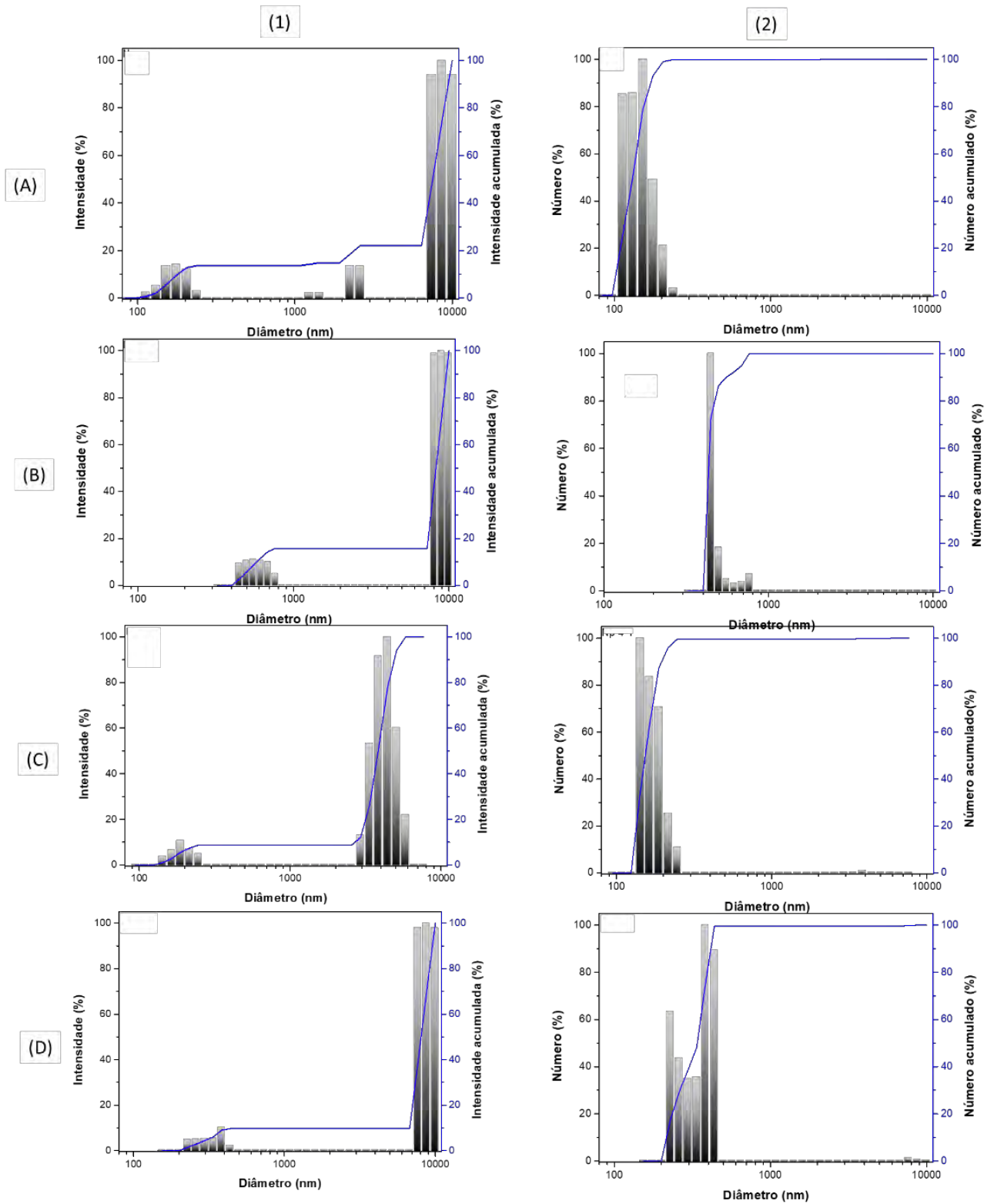


Tabela 4. Diâmetro de partículas (em % de intensidade) das composições: NQs, NQ-NC 4:1, NQ-NC 8:1, NQ-NC 16:1.

Amostras	% Intensidade					
	Diâmetro 1 (nm)	%(D1)	Diâmetro 2 (nm)	%(D2)	Diâmetro 3 (nm)	%(D3)
NQs	225 ± 80	14,9 ± 4,9	2783 ± 246	9,8 ± 5,2	8129 ± 862	98,3 ± 1,44
NQ-NC 4:1	9989 ± 557	100	-	-	-	-
NQ-NC 8:1	1953 ± 253	78,1 ± 2,9	4460 ± 244	99,7 ± 0,3	9670 ± 245	99,5 ± 0,2
NQ-NC 16:1	257 ± 60	4,9 ± 0,3	392 ± 3	11,3 ± 3,1	8811 ± 569	99,3 ± 4,5

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5. Diâmetro de partículas (em % de número) das composições: NQs, NQ-NC 4:1, NQ-NC 8:1, NQ-NC 16:1.

Amostras	% Número	
	Diâmetro 1 (nm)	%(D1)
NQs	150 ± 70	99,4
NQ-NC 4:1	9891 ± 336	100
NQ-NC 8:1	1776 ± 274	99,3
NQ-NC 16:1	413 ± 44	99,6

Fonte: Própria autoria.

O potencial zeta medido nas suspensões produzidas está apresentado na Tabela 7. Este parâmetro indica carga superficial das partículas na dupla camada elétrica e pode inferir na estabilidade das amostras a partir da magnitude da repulsão ou da atração eletrostática entre partículas. Sistemas híbridos com potenciais zeta menores que -30 mV e maiores que 30 mV apresentam maior estabilidade devido à maior repulsão entre as partículas evitando aglomeração (OKAMOTO-SCHALCH et al., 2020). Os valores de potencial zeta obtidos para as NQs ($24,1 \pm 8,3$) estão de acordo com aqueles encontrados na literatura (BARROS-ALEXANDRINO; TOSI; ASSIS, 2019). O potencial zeta das partículas híbridas não diferiu significativamente.

Tabela 6. Valores de potencial zeta para as suspensões: NQs, NQ-NC 4:1 e NQ-NC 8:1.

Amostras	Potencial Zeta (mV)
NQs	24,1 ± 8,3
NQ-NC 4:1	34,5 ± 13,2
NQ-NC 8:1	20,5 ± 1,6

Fonte: Própria Autoria.

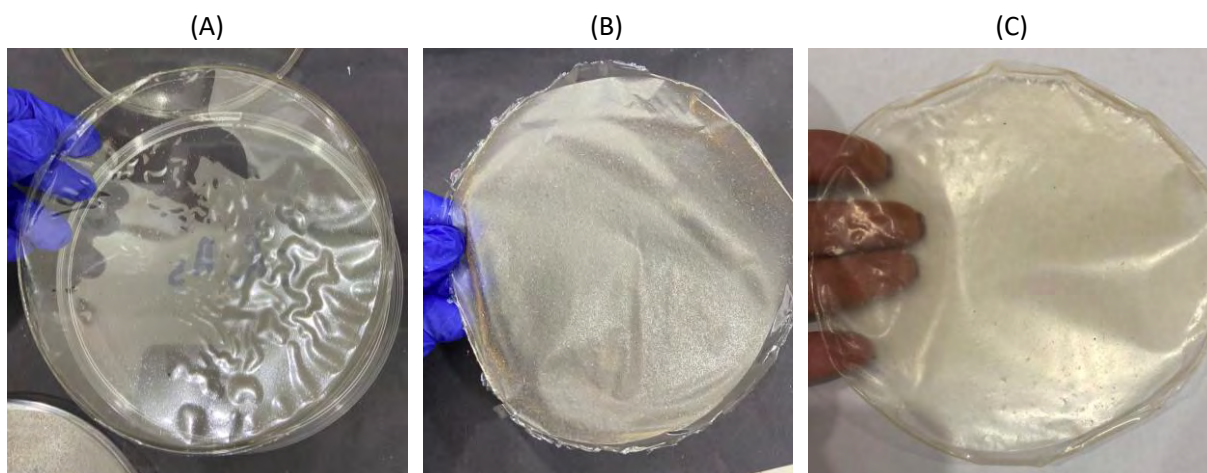
5.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE QUITOSANA

5.3.1. Aspecto visual, umidade, solubilidade e PVA

Os aspectos visuais dos filmes à base de quitosana sem partículas (Control) e com a adição de NC ou NQ-NC estão apresentados na Figura 7A, 7B e 7C, respectivamente. Os valores do conteúdo de umidade não foram diferentes entre Controlo e NQ-NCs, contudo os filmes NQ-NC adicionados tiveram valores mais elevados (Tabela 7), aumentando de 12 para 15%. Contudo, os resultados da solubilidade mostraram que a adição de CNCs e partículas híbridas resulta em filmes menos solúveis em água como consequência do menor número de sítios polares disponíveis. Os filmes contendo NQ-NCs formaram um biopolímero com menor solubilidade em água (54%) seguido pelos NCs (66%) e o Controle, que apresentou a maior solubilidade (98%). Em relação ao WVP, apenas a incorporação de NCs resultou em filmes menos permeáveis em comparação com o Controlo.

Assim, os filmes de adição de partículas apresentaram melhorias importantes no que diz respeito às propriedades funcionais, como a solubilidade e o PVA. As interações entre os NCs e a matriz de quitosana podem ser melhoradas quando as nanopartículas de quitosana são incorporadas no sistema híbrido. A rede formada aumenta as interações polares entre a água e a matriz (menor umidade), mas apenas os NCs são capazes de interferir na matriz para evitar a permeação da água.

Figura 7 - Aspecto visual dos filmes a base de (A) quitosana, (B) contendo nanocristais de celulose ou (C) sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana.



Fonte: autoria própria

Tabela 7 - Umidade e solubilidade dos filmes a base de quitosana sem adição de partículas (Ch), ou com adição de nanoceluloses (NC) ou sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana (ChNC).

Filme	U (%)	S (%)	PVA(g/m h Pa)
Ch	12,66	98,01	0,1437
NC	11,43	66,43	0,0310
Ch-NC	15,53	54,19	0,1630

*Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria

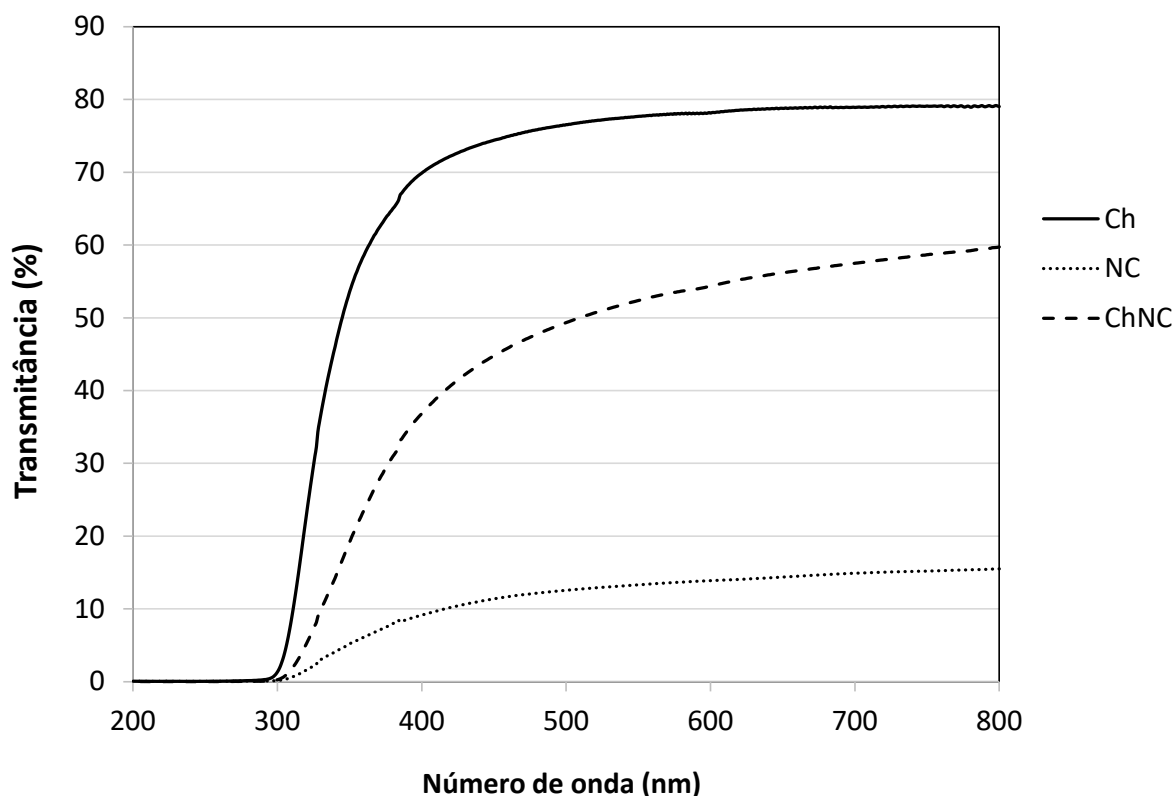
5.3.2. Barreira à luz UV-Vis

As propriedades de barreira à luz UV/Vis são extremamente importantes para aplicações em embalagens, pois quanto maior a barreira UV/Vis (baixa transmitância), melhor a proteção do produto embalado contra a degradação desencadeada pela presença de luz.

Os filmes a base de quitosana sem ou com adição de nanoceluloses ou sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana apresentaram alta barreira na região ultravioleta (100 a 300 nm) (Figura 8). Pode-se observar que as adições das partículas influenciaram significativamente na barreira à luz a partir de 300 nm, sendo que as NCs foram as que apresentaram maior efeito de

barreira, com transmitância variando de 78,6 % (controle) para 15,5%. Os filmes adicionados de sistemas híbridos ficaram com valores intermediários: 47,8%. Os NCs também têm atuado contra a degradação do ácido fólico ao utilizar NQ-NC para o encapsulamento do ácido fólico (OKAMOTO SCHALCH et al., 2020). Isto é explicado pela capacidade dos nanocristais de celulose em dispersar a luz. No caso de sistemas híbridos, esta diferença não foi tão pronunciada porque parte dos NCs podem estar na superfície dos sistemas híbridos NQ-NC. Outras partículas já evidenciaram a melhoria da barreira UV-Vis dos filmes de quitosana, por exemplo, emulsão rica em extrato de pitanga (TESSARO et al., 2021)

Figura 8 - Espectros UV/Vis dos filmes a base de quitosana sem adição de partículas (Ch), ou com adição de nanoceluloses (NC) ou sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana (ChNC).



Fonte: autoria própria

5.3.3. Propriedades mecânicas

A adição das partículas de NC e ChNC nos filmes provocou aumento ($p < 0,05$) da resistência (TR) e da rigidez (ME) dos filmes a base de quitosana (Tabela 8). A incorporação de NC aumentou a tensão na ruptura ($62,0 \pm 16,6$ MPa) em relação ao controle ($26,7 \pm 12,6$ MPa) e diminuiu a elongação significativamente (Controle: $7,7 \pm 4,1\%$, NC: $3,1 \pm 0,4\%$).

A incorporação de sistemas híbridos foi a que evidenciou melhores propriedades

mecânicas atingindo valores superiores tanto para tensão quanto para alongação na ruptura ($81,7 \pm 13,9$ MPa e $9,8 \pm 5,2\%$, respectivamente). Os sistemas híbridos podem atuar sinergicamente sobre a matriz polimérica pela interação entre as nanopartículas de quitosana com carga positiva (NH_3^+) e os nanocristais de celulose com carga negativa obtidos por hidrólise ácida (SO_3^{2-}).

Tabela 8 - Tensão na ruptura (TR), alongação na ruptura (ER) e módulo elástico (ME) dos filmes à base de quitosana sem adição de partículas (Control), ou com adição de nanoceluloses (NC) ou sistemas híbridos de nanocelulose e quitosana (ChNC).

Filme	TR (MPa)	ER (%)	ME (MPa)
Control	$26,7 \pm 12,6$	$7,7 \pm 4,1$	$10,0 \pm 4,5$
NC	$62,0 \pm 16,6$	$3,1 \pm 0,4$	$33,8 \pm 9,0$
Ch-NC	$81,7 \pm 13,9$	$9,8 \pm 5,2$	$32,2 \pm 6,5$

*Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

6. CONCLUSÕES

A incorporação de nanocristais de celulose e nanoestruturas de celulose quitosana em filmes de quitosana levou a filmes reforçados com alta barreira de luz UV/Vis quando comparados ao controle. A adição de partículas em filmes de quitosana afetou as propriedades físicas dos compostos como consequência da perturbação causada nas interações intermoleculares das moléculas de quitosana. Os filmes compósitos também apresentaram importantes melhorias quanto às propriedades funcionais, como solubilidade e WVP. As interações entre os NCs e a matriz de quitosana podem ser melhoradas quando as nanopartículas de quitosana são incorporadas no sistema híbrido. A rede formada tende a aumentar as interações polares entre a água e a matriz (menor teor de umidade), mas somente os NCs são capazes de interferir na matriz para evitar a permeação da água. Os filmes com adição de partículas apresentam características interessantes e podem ser usados para aplicação posterior na indústria alimentícia ou farmacêutica.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos neste trabalho. Inicialmente, um estudo mais aprofundado sobre os mecanismos de interação dos sistemas híbridos com diferentes matrizes poliméricas, como proteínas e amido.

Esses sistemas também podem carrear compostos ativos, como demonstrado em outros estudos. Portanto, poderiam ser estudados filmes ativos para aplicação alimentícia ou farmacêutica. A avaliação da toxicidade e estudos de viabilidade técnico-financeira também são temas importantes para complementar este estudo.

8. REFERÊNCIAS

AKHLAGHI, S.P., BERRY, R.M.; TAM, K.C. Modified Cellulose Nanocrystal for Vitamin C Delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, p.306–314, 2015.

ALEMDAR, A.; SAIN, M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues – Wheat straw and soy hulls. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 6, p.1664–1671, 2008.

ALMASI, H.; JAFARZADEH, P.; MEHRYAR, L. Fabrication of novel nanohybrids by impregnation of CuO nanoparticles into bacterial cellulose and chitosan nanofibers: characterization, antimicrobial and release properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 273–281, 2018.

AOAC. 16a Edition. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1997.

ASTM STANDARD D882-09. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In: **Annual book of ASTM Standards**. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2002.

AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p. 1–7, 2010.

BARROS-ALEXANDRINO, T.; MARTELLI-TOSI, M.; ASSIS, O.B.G. Comparison Between Chitosan Nanoparticles and Cellulose Nanofibers as Reinforcement Fillers in Papaya Puree Films: Effects on Mechanical, Water Vapor Barrier, and Thermal Properties. **Polymer Engineering and Science**, v. 59, n.S1, p. E287-E292, 2019.

BRANDELERO, R. P. H.; SANTOS, G. L.; MARTIM, E. Filmes de amido/quitosana adicionados de fibras, nanofibras e fibras mercerizadas obtidas da palha de trigo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 23, 2018, Foz do Iguaçu, Resumos..., p. 8406-8416, 2018.

BUGNICOURT, L.; LADAVIÈRE, C. Interests of chitosan nanoparticles ionically cross-linked with tripolyphosphate for biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 60, p. 1-17, 2016.

CABRERA, E. et al. Comparison of industrially viable pretreatments to enhance soybean straw biodegradability. **Bioresource Technology**, v. 194, p. 1–6, 2015.

CAMARGO, L. A. et al. Feasibility of Manufacturing Cellulose Nanocrystals from the

Solid Residues of Second-Generation Ethanol Production from Sugarcane Bagasse. **Bioenergy Research**, v. 9, n. 3, p. 894–906, 2016.

CAMPO, G. M. M. et al. Functional Hybrid Nanopaper by Assembling Nanofibers of Cellulose and Sepiolite. **Advanced Functional Materials**, v. 28, n. 27, p. 1–13, 2018.

CHAN, R. et al. Extrusion and characterization of soy protein film incorporated with soy cellulose microfibrils. **International Polymer Processing**, v. 29, n. 4, p. 467–476, 2014.

CHANG, W. et al. Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 50–61, 2019.

CHEN, C. et al. Electrically conductive polyacrylamide/carbon nanotube hydrogel: reinforcing effect from cellulose nanofibers. **Cellulose**, v. 26, n. 16, p. 8843–8851, 2019.

CHERIAN, B. M. et al. A novel method for the synthesis of cellulose nanofibril whiskers from banana fibers and characterization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5617–5627, 2008.

DE JESUS SILVA, D.; D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. **O Papel (Brazil)**, v. 70, n. 7, p. 34–52, 2009.

DE MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 321, n. 2, p. 477–483, 2008.

DEVI, N.; DUTTA, J. Preparation and characterization of chitosan-bentonite nanocomposite films for wound healing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1897–1904, 2017.

DOENCH, I. et al. Injectable and gellable chitosan formulations filled with cellulose nanofibers for intervertebral disc tissue engineering. **Polymers**, v. 10, n. 11, 2018.

DU, H. et al. Cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils based hydrogels for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 130–144, 2019.

DUTTA, G. K.; KARAK, N. Waste brewed tea leaf derived cellulose nanofiber reinforced fully bio-based waterborne polyester nanocomposite as an environmentally benign material. **RSC Advances**, v. 9, n. 36, p. 20829–20839, 2019.

FAOSTAT. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>. Acesso em: novembro de

2020.

FANG, Y.; TUNG, M. A.; BRITT, I. J.; YADA, S.; DALGLEISH, D. G.; Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1., p. 188-193, 2002.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. Química de Alimentos de Fennema – 4ª ed. - Editora Artmed, 2010.

FERNANDES, S. C. M. et al. Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 2, p. 394–401, 2010.

FLAKER, C. H. C.; LOURENÇO, R. V.; BITTANTE, A. M. Q. B.; SOBRAL, P. J. A. Gelatin-based nanocomposite films: a study on montmorillonite dispersion and concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 167, p. 65-70, 2015.

FORTUNATI, E. et al. Revalorization of barley straw and husk as precursors for cellulose nanocrystals extraction and their effect on PVA/CH nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 201–217, 2016.

GONG, X. et al. Highly Porous, Hydrophobic, and Compressible Cellulose Nanocrystals/Poly(vinyl alcohol) Aerogels as Recyclable Absorbents for Oil-Water Separation. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 7, n. 13, p. 11118–11128, 2019.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190–195, 1992.

HUANG, X.; XIE, F.; XIONG, X. Surface-modified microcrystalline cellulose for reinforcement of chitosan film. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, p. 367–373, 2018.

JAAFAR, Z. et al. Plant cell wall inspired xyloglucan/cellulose nanocrystals aerogels produced by freeze-casting. **Carbohydrate Polymers**, v. 247, p. 116642, 2020.

JANES, K. A.; ALONSO, M. J. Depolymerized chitosan nanoparticles for protein delivery: Preparation and characterization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 88, n. 12, p. 2769–2776, 2003.

JENSEN, A. et al. Development and characterization of soy protein films incorporated with cellulose fibers using a hot surface casting technique. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 162–170, 2015.

KAYA, M. et al. Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of *Pistacia terebinthus* for active food packaging. **RSC Advances**, v. 8, n. 8, p. 3941–3950, 2018.

KOLAKOVIC, R. et al. Nanofibrillar cellulose films for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 82, n. 2, p. 308–315, 2012.

KUMARI, P. et al. Cellulose nanofibers from lignocellulosic biomass of lemongrass using enzymatic hydrolysis: characterization and cytotoxicity assessment. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 2, p. 683–693, 2019.

LAN, W. et al. Development of red apple pomace extract/chitosan-based films reinforced by TiO₂ nanoparticles as a multifunctional packaging material. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 168, p. 105–115, 2021.

LI, X. et al. Nanoformulations of quercetin and cellulose nanofibers as healthcare supplements with sustained antioxidant activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 160–168, 2019.

LUZ YOLANDA TORO SUAREZ. Sustainable Nanocellulose and Nanohydrogels From Natural Sources. Amsterdam: Elsevier Ltd., 2015.

MARETT, J.; ANING, A.; FOSTER, E. J. The isolation of cellulose nanocrystals from pistachio shells via acid hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 869–874, 2017.

MARTELLI-TOSI, M. et al. Using Commercial Enzymes to Produce Cellulose Nanofibers from Soybean Straw. **Journal of Nanomaterials**, Article ID 8106814, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8106814>

MARTELLI-TOSI, M. et al. Chemical treatment and characterization of soybean straw and soybean protein isolate/straw composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 512–520, 2017.

MARTELLI-TOSI, M. et al. Soybean straw nanocellulose produced by enzymatic or acid treatment as a reinforcing filler in soy protein isolate films. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, p. 61–68, 2018.

MOHAMED, N.; MADIAN, N. G. Evaluation of the mechanical, physical and antimicrobial properties of chitosan thin films doped with greenly synthesized silver nanoparticles. **Materials Today Communications**, v. 25, 2020.

NATARAJ, D. et al. Crosslinked chitosan films with controllable properties for commercial applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1256–1264, 2018.

OKAMOTO-SCHALCH, N. O. et al. Production and characterization of chitosan-TPP/cellulose nanocrystal system for encapsulation: a case study using folic acid as active compound. **Cellulose**, v. 27, p.5855-5869, 2020.

OLIVEIRA, J. P. et al. Cellulose nanocrystals from rice and oat husks and their application in aerogels for food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 124, p. 175–184, 2019.

OOI, S. Y.; AHMAD, I.; AMIN, M. C. I. M. Cellulose nanocrystals extracted from rice husks as a reinforcing material in gelatin hydrogels for use in controlled drug delivery systems. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 227–234, 2016.

PAULRAJ, T.; RIAZANOVA, A. V.; SVAGAN, A. J. Bioinspired capsules based on nanocellulose, xyloglucan and pectin – The influence of capsule wall composition on permeability properties. **Acta Biomaterialia**, v. 69, p. 196–205, 2018.

PELISSARI, F. M. et al. Nanocomposites based on banana starch reinforced with cellulose nanofibers isolated from banana peels. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 505, p. 154–167, 2017.

PERZON, A.; JØRGENSEN, B.; ULVSKOV, P. Sustainable production of cellulose nanofiber gels and paper from sugar beet waste using enzymatic pre-treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115581, 2020.

PRADO, K. S.; SPINACÉ, M. A. S. Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from pineapple crown waste and their potential uses. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 410–416, 2019.

SALAMA, A.; EL-SAKHAWY, M.; KAMEL, S. Carboxymethyl cellulose based hybrid material for sustained release of protein drugs. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 1647–1652, 2016.

SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-Ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, p. 786–794, 1959.

Silva, D. J.; Queiroz, A. C. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3. ed.

Viçosa, Minas Gerais, 2009.

SINGH, V.; AHMAD, S. Carboxymethyl cellulose-gelatinsilica nanohybrid: an efficient carrier matrix for alpha amylase. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.67, p. 439–445, 2014.

SIQUEIRA, G. et al. Enhancement of cellulose hydrolysis in sugarcane bagasse by the selective removal of lignin with sodium chlorite. **Applied Energy**, v. 102, p. 399–402, 2013.

SOBRAL, P. J. A. ; MENEGALLI, F. C. ; HUBINGER, M. D. ; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

SUN, J. X. et al. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, v. 84, n. 2, p. 331–339, 2004.

SUN, X-F; JING, Z.; FOWLER, P.; WU, Y.; RAJARATNAM, M. Structural characterization and isolation of lignin and hemicelluloses from barley straw. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 558-598, 2011.

SUPRAMANIAM, J. et al. Magnetic nanocellulose alginate hydrogel beads as potential drug delivery system. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 640–648, 2018.

TIBOLLA, H. et al. Banana starch nanocomposite with cellulose nanofibers isolated from banana peel by enzymatic treatment: In vitro cytotoxicity assessment. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 169–179, 2019.

TIBOLLA, H.; PELISSARI, F. M.; MENEGALLI, F. C. Cellulose nanofibers produced from banana peel by chemical and enzymatic treatment. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P2, p. 1311–1318, 2014.

VALENCIA, G. A.; LOURENÇO, R. V.; BITTANTE, A. M. Q. B.; SOBRAL, P. J. A. Physical and morphological properties of nanocomposite films based on gelatin and Laponite. **Applied Clay Science**, v. 124–125, p. 260–266, 2016.

VILLALOBOS, R.; CHANONA, J.; HERNÁNDEZ, P.; GUTIÉRREZ, G.; CHIRALT, A. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 53-61, 2005.

VILLANOVA, J. C. O. et al. Pharmaceutical acrylic beads obtained by suspension

polymerization containing cellulose nanowhiskers as excipient for drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 4, p. 406–415, 2011.

XU, Q.; JI, Y.; SUN, Q.; FU, Y.; XU, Y.; JIN, L. Fabrication of cellulose nanocrystal/chitosan hydrogel for controlled drug release. **Nanomaterials**, v. 9, n. 2, p 1-13, 2019.

WAN, C.; ZHOU, Y.; LI, Y. Liquid hot water and alkaline pretreatment of soybean straw for improving cellulose digestibility. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 6254–6259, 2011.

WANG, Z. et al. Reuse of waste cotton cloth for the extraction of cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 945–952, 2017.

WU, T. et al. Mechanical behavior of transparent nanofibrillar cellulose-chitosan nanocomposite films in dry and wet conditions. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 32, p. 279–286, 2014.

ZHANG, Z. et al. Sustained release of an essential oil by a hybrid cellulose nanofiber foam system. **Cellulose**, v. 27, n. 5, p. 2709–2721, 2020.