

## UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS INSTITUTO DE QUÍMICA

Camilla Henriques Maia de Camargos

Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina aplicados como revestimento protetivo em substratos celulósicos

> CAMPINAS 2021

Camilla Henriques Maia de Camargos

## Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina aplicados como revestimento protetivo em substratos celulósicos

Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

#### Orientadora: Profa. Dra. Camila Alves de Rezende

O arquivo digital corresponde à versão final da Tese defendida pela aluna Camilla Henriques Maia de Camargos e orientada pela Profa. Dra. Camila Alves de Rezende.

> CAMPINAS 2021

Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas Biblioteca do Instituto de Química Camila Barleta Fullin - CRB 8462

C14n Camargos, Camilla Henriques Maia de, 1992-Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina aplicados como revestimento protetivo em substratos celulósicos / Camilla Henriques Maia de Camargos. – Campinas, SP : [s.n.], 2021. Orientador: Camila Alves de Rezende. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 1. Nanocristais de celulose. 2. Nanofibras de celulose. 3. Nanopartículas de lignina. 4. Nanotecnologia. 5. Patrimônio cultural - Conservação e restauração. I. Rezende, Camila Alves de, 1980-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

#### Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Nanocellulose and nanolignin nanocomposites applied as protective coating on cellulosic substrates Palavras-chave em inglês: Cellulose nanocrystals Cellulose nanofibers Lignin nanoparticles Nanotechnology Cultural property - Conservation and restoration Área de concentração: Físico-Química Titulação: Doutora em Ciências Banca examinadora: Camila Alves de Rezende [Orientador] Caio Gomide Otoni Edvaldo Sabadini Denise Freitas Sigueira Petri Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo Data de defesa: 21-09-2021 Programa de Pós-Graduação: Química Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0002-5240-036X

<sup>-</sup> Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/5479936611031403

## **BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Camila Alves de Rezende (Orientadora)

Prof. Dr. Caio Gomide Otoni (Universidade Federal de São Carlos)

Prof. Dr. Edvaldo Sabadini (Universidade Estadual de Campinas)

Profa. Dra. Denise Freitas Siqueira Petri (Universidade de São Paulo)

Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo (Embrapa – Instrumentação)

A Ata da defesa assinada pela Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Este exemplar corresponde à redação final da Tese de Doutorado defendida pela aluna Camilla Henriques Maia de Camargos aprovada pela Comissão Julgadora em 21 de setembro de 2021.

Dedico esta tese a todos os que se foram e a todos os que permanecem. A crueldade da pandemia de COVID-19 tirou muito de nós, mas não nos tirou tudo. Persiste o amor à ciência, ao conhecimento e à vida.

> Aos meus pais, Geraldo e Aleixa. Às minhas irmãs, Sandra, Ju e Carol. Aos meus sobrinhos, João, Clarinha, Arthur e Mel. Por todos os ensinamentos e por todo o amor. Por toda a fé. Por tudo.

"[...] e cada um é filho das suas obras [...]"

SAAVEDRA, Miguel de Cervantes. *O engenhoso fidalgo D. Quixote de La Mancha, Primeiro Livro*. São Paulo: Ed. 34, 2002. p. 664.

"Não me desintegro na natureza porque ela me toma e me devolve na íntegra: não há competição mas identificação dos elementos."

TELLES, Lygia Fagundes. As meninas. São Paulo: Companhia das Letras, 2009. p. 191.

"E há que se cuidar do broto Pra que a vida nos dê Flor, flor e fruto"

NASCIMENTO, Milton. "Coração de estudante". Por Milton Nascimento e Wagner Tiso. Álbum: *Ao Vivo*. Selo: Barclay/Ariola, 1983. Faixa nº1, Lado A.

> "Em um grão, vêm cem colheitas Em um coração, um mundo inteiro está contido."

BROOKS, Geraldine. *As memórias do livro: romance sobre o manuscrito de Sarajevo.* São Paulo: Ediouro, 2008. p. 289.

"Alla pandemia del virus vogliamo rispondere con l'universalità della preghiera, della compassione, della tenerezza. Rimaniamo uniti. [...]"

Papa Francesco, postagem do Twitter (@Pontifex\_it), 22 de março de 2020.

## **Agradecimentos**

A Unicamp e todos com os quais tive a oportunidade e alegria de conviver pelos últimos quatro anos contribuíram de modo inegável e indispensável para a execução do trabalho de doutorado aqui apresentado. Minha formação humana, acadêmica e científica se pautou em relações humanas e profissionais com pessoas incríveis e admiráveis. Mais do que gratidão, suscitam-me afeição e respeito.

Agradeço à minha orientadora, Professora Camila Rezende, tão cientificamente diligente e divertida. A sua orientação presente, participativa, elucidativa e acolhedora foi fundamental para que eu sentisse o suporte e a motivação que me trouxeram até aqui. Muito obrigada pela paciência e meticulosidade em todas as correções e por ser para mim o tipo de professora e orientadora que almejo me tornar um dia!

Agradeço aos amigos do LaQuiMoBio, sempre tão carinhosos, proativos e dispostos a ajudar e a escutar. Rendo especial reconhecimento aos queridos Bruna, Eupídio, Lidiane, Elisa, Sandra e Henrique, que sempre ajudaram a criar um ambiente de cooperação e entusiasmo no laboratório e fora dele.

Agradeço ao corpo docente do IQ, especialmente os professores Maria do Carmo Gonçalves, Edvaldo Sabadini, Gildo Girotto e Watson Loh, os quais também contribuíram de modo essencial para minha formação humana e acadêmica através de disciplinas, experiências em estágios docentes e conversas engrandecedoras.

Agradeço a todos os técnicos e servidores técnico-administrativos do IQ, indispensáveis e sempre tão prestativos. Em especial, digo muito obrigada aos técnicos Douglas Soares, Andreza Camilotti e Cláudia Martelli, assim como à equipe da CPG.

Agradeço a todos os funcionários das esquipes de limpeza, de segurança e dos restaurantes universitários, que contribuem de modo crucial para o funcionamento da Unicamp.

Agradeço ao CNPEM, em especial ao LNNano, por eventos, cursos e sessões de SEM no LME. Agradeço ao Laboratório de Biomateriais da PUC-SP, especialmente à Professora Eliana Duek e à técnica Priscila Breda por toda a ajuda e disponibilidade para a realização de medidas de GPC e análises por microscopia óptica da lignina.

Vorrei anche ringraziare l'Università degli Studi di Firenze, il CSGI, il Prof. Piero Baglioni, la ricercatrice Giovanna Poggi e tutti i colleghi che hanno contribuito così tanto al successo del mio periodo di ricerca presso il Dipartimento di Chimica. È stata un'esperienza meravigliosa e molto fruttuosa. Inoltre, Teresa, Rox, Diéssica, Lucilla e Lorena sono state particolarmente amichevole e speciale durante il mio soggiorno in Italia – e anche dopo questo.

Agradeço aos meus pais, por serem sempre meu porto-seguro, exemplos vivos do trabalho, do amor e da dedicação. Meus maiores incentivadores e companheiros. O orgulho que sentem por mim é proporcional ao imenso orgulho que sinto por eles. Reitero ainda à toda minha família, pais, irmãs e sobrinhos: amo-vos muitíssimo e sou muito grata por tê-los junto a mim. Obrigada pela compreensão e por tornarem minha vida mais feliz.

Agradeço aos meus grandes e mais próximos amigos: Sweet, Bru, Kikis, Bianca, Laris, Clé-Clé, Dié, Rachel, Hannitcha, Dani, Pídio, Elisinha, Mumu, Vi, Thi, Igão, Lau. Obrigada por estarem sempre ao alcance, dando-me conforto, ajudando-me a rir e a amadurecer!

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), que forneceu recursos para o financiamento deste trabalho de doutorado – Bolsa: 140558/2017-9 e Projeto: 420031/2018-9.

Agradeço ao FAEPEX – Unicamp, pela concessão de auxílio-ponte durante a etapa de finalização da redação desta tese.

O desenvolvimento deste projeto contou com aporte financeiro proveniente da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Projeto: 2018/23769-1.

O estágio científico na Universidade de Florença foi financiado, em parte, pelo Ministério de Relações Exteriores da Itália (MAECI).

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

### Resumo

Substratos celulósicos, como a madeira, o papel e o tecido, são importantes suportes do patrimônio cultural tangível, incluindo obras de arte, artefatos arqueológicos e documentos, os quais estão suscetíveis à deterioração por agentes físicos, químicos e mecânicos. Uma estratégia para mitigar danos nesses materiais consiste em aplicar revestimentos protetivos, os quais são geralmente baseados em polímeros sintéticos cuja aplicação pode demandar o uso de solventes orgânicos de elevada toxicidade. Neste trabalho, propôs-se o desenvolvimento de revestimentos sustentáveis à base de água e constituídos por nanoceluloses e nanolignina como uma alternativa promissora para a proteção de bens culturais móveis.

Estudou-se sistematicamente a obtenção de nanofibrilas de celulose (CNFs), nanocristais de celulose (CNCs) e nanopartículas de lignina (LNPs), seguida por sua aplicação em filmes nanocompósitos ternários. Devido à sua capacidade antioxidante, a incorporação de LNPs incrementou a estabilidade físico-química, térmica e colorimétrica das instáveis CNFs oxidadas por TEMPO. Paralelamente, constatou-se que, durante o envelhecimento, a baixa estabilidade colorimétrica e térmica dessa nanocelulose se relaciona à presença de unidades anidroglucuronato de sódio e grupos carboxilato de sódio, os quais puderam ser eficientemente removidos com um pós-tratamento alcalino-ácido.

Ao serem aplicados como revestimentos em substratos de madeira, papel e tecido, os nanocompósitos transparentes constituíram eficientes barreiras protetivas frente ao envelhecimento hidrotérmico e à foto-oxidação. Não acarretaram mudanças visuais significativas, preservaram a textura micrométrica e a morfologia superficial, além de atenuarem as mudanças colorimétricas que advêm do envelhecimento artificial severo de suportes celulósicos. A molhabilidade dos revestimentos hidrofílicos foi modulada e minimizada com a aplicação de camadas adicionais de partículas de cera de carnaúba. Ademais, atestou-se que, apesar de compatíveis, os tratamentos são reversíveis, isto é, podem ser removidos com água se necessário. Portanto, os revestimentos protetivos desenvolvidos são adequados a aplicações diversas, incluindo a conservação de obras de arte, artefatos arqueológicos e documentos. Finalmente, investigou-se também o impacto concomitante de distintos métodos de preparo e origens anatômicas sobre as propriedades de CNFs, CNCs e LNPs. Celulose e lignina foram isoladas de folhas e colmos de capim elefante (*Pennisetum purpureum*). A seguir, nanoceluloses foram preparadas por hidrólise com ácido sulfúrico ou por oxidação mediada por TEMPO. Simultaneamente, a origem da celulose (folhas ou colmos) e o método de produção influenciaram os rendimentos, comprimentos médios e grau de polimerização de CNFs e CNCs. Em particular, os métodos de obtenção determinaram a concentração de lignina residual e grupos ionizáveis, além da cor e estabilidade de dispersões de nanocelulose. Por sua vez, a origem anatômica influenciou a massa molar e a cor da lignina extraída. LNPs obtidas pela adição de água como anti-solvente ou por ultrassonicação apresentaram diferentes morfologias e dimensões, além de diferentes características de estabilidade coloidal, de ação antioxidante e de proteção UV, a depender do grau de oxidação da lignina de partida.

Em conclusão, o trabalho desenvolvido evidenciou que a elaboração de revestimentos nanocompósitos baseados unicamente em nanoestruturas de origem renovável é uma estratégia vantajosa para a utilização de nanoceluloses e nanoligninas. Adicionalmente, o estudo sistemático das relações estrutura-propriedades nessas nanopartículas descortinou oportunidades para uma miríade de aplicações estratégicas em materiais e nanocompósitos diversos, incluindo os produzidos aqui.

## Abstract

Cellulosic substrates, such as wood, paper, and fabric, are important supports of tangible cultural heritage, including works of art, archaeological artifacts, and documents, which are susceptible to deterioration processes by physical, chemical, and mechanical agents. A strategy to mitigate the damaging of these materials is to apply protective coatings, which are commonly based on synthetic polymers whose application may require the use of toxic organic solvents. In this study, we proposed the development of sustainable water-based coatings composed of nanocellulose and nanolignin as a promising alternative for the protection of cultural heritage objects.

We systematically investigated the production of cellulose nanofibrils (CNFs), cellulose nanocrystals (CNCs) and lignin nanoparticles (LNPs), followed by their application in ternary nanocomposite films. Due to their antioxidant capacity, the incorporation of LNPs increased the physicochemical, thermal, and colorimetric stability of the unstable TEMPO-oxidized CNFs. In parallel, we found that the low colorimetric and thermal stability of this nanocellulose upon aging is related to the presence of sodium anhydroglucuronate units and sodium carboxylate groups, which were efficiently removed with an alkali-acid post-treatment.

When applied as coatings on wood, paper, and fabric substrates, the transparent nanocomposites constituted efficient protective barriers against hydrothermal aging and photo-oxidation. They did not cause significant visual changes, preserved the micrometric texture and the surface morphology, besides attenuating the colorimetric changes that come from the severe artificial aging of cellulosic materials. The wettability of these hydrophilic coatings was modulated and minimized by the application of additional layers of carnauba wax particles. Furthermore, we showed that, although compatible, such treatments are reversible, i.e., they can be removed using water if necessary. Therefore, the developed protective coatings are suitable for several applications, including the conservation of works of art, archaeological artifacts, and documents.

Finally, we also investigated the simultaneous impact of different preparation methods and anatomical origins on the properties of CNFs, CNCs, and LNPs. Cellulose and lignin were isolated from leaves and stems of elephant grass (*Pennisetum purpureum*), then nanocelluloses were prepared by sulfuric acid hydrolysis or by TEMPO-mediated oxidation.

Concurrently, cellulose origins and production methods influenced the yields, average lengths, and degree of polymerization of CNFs and CNCs. In particular, production methods defined the content of residual lignin and ionizable groups, in addition to the color and stability of nanocellulose dispersions. On the other hand, the anatomical origin affected the molar mass and color of extracted lignins. LNPs obtained by the addition of water as antisolvent or by ultrasonication showed different morphologies and dimensions, besides different characteristics of colloidal stability and antioxidant and UV-shielding capacity, depending on the degree of oxidation of the starting lignin.

In conclusion, this study evidenced that the manufacture of nanocomposite coatings 100% based on nanostructures from renewable origin is an advantageous strategy for the use of nanocelluloses and nanolignins. Additionally, the systematic study of structure-property relationships in these nanoparticles opens opportunities for a myriad of strategic applications in various materials and nanocomposites, including those produced here.

## Lista de abreviaturas e siglas

- ABSL Lignina solúvel em brometo de acetila (do inglês *acetyl bromide soluble lignin*)
- **AFM** Microscopia de força atômica (do inglês *atomic force microscopy*)
- ATR-FTIR Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada (do inglês attenuated total reflectance infrared spectroscopy)
  - a.u. Unidade arbitrária (do inglês arbitrary unity)
  - BC Celulose bacteriana (do inglês bacterial cellulose)
- **CIEL\*a\*b\*** Espaço de cor L\*a\*b\* definido pela Comissão Internacional de Iluminação (do francês *Commission Internationale de l'Eclairage*)
  - L\* Iluminação, correspondendo a um valor numérico no sistema CIE (do francês *luminance*)
  - a\* Valor numérico no eixo vermelho-verde no sistema CIE
  - **b\*** Valor numérico no eixo azul-amarelo no sistema CIE
  - **CNCs** Nanocristais de celulose (do inglês *cellulose nanocrystals*)
  - AH-CNCs Nanocristais de celulose obtidos por hidrólise ácida (AH do inglês acid hydrolysis)
  - **TO-CNCs** Nanocristais obtidos por oxidação mediada por TEMPO (*TO* do inglês *TEMPO-mediated oxidation*)
    - **CNFs** Nanofibrilas de celulose (do inglês *cellulose nanofibrils*)
  - AH-CNFs Nanofibrilas de celulose obtidas por hidrólise ácida
  - TO-CNFs Nanofibrilas obtidas por oxidação mediada por TEMPO
    - Crl Índice de cristalinidade (do inglês *crystallinity index*)
    - **ΔE** Diferença de cor
    - **DLS** Espalhamento de luz dinâmico (do inglês *dynamic light scattering*)

- **DP** Grau de polimerização (do inglês *degree of polymerization*)
- DPv Grau de polimerização viscosimétrico
- **DPPH** 2,2-Difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazin-1-il
- **DRS** Espectroscopia de refletância difusa (do inglês *diffuse reflectance spectroscopy*)
- **DSC** Calorimetria exploratória diferencial (do inglês *differential scanning calorimetry*)
- **DTG** Termogravimetria derivada (do inglês *derivative thermogravimetry*)
- GLY Glicerol (do inglês glycerol)
- **GPC** Cromatografia de permeação em gel (do inglês *gel permeation chromatography*)
- LNPs Nanopartículas de lignina (do inglês *lignin nanoparticles*)
- SA-LNPs Nanopartículas de lignina auto-organizadas (SA do inglês self-assembled)
- o-SA-LNPs Nanopartículas de lignina oxidada auto-organizadas
  - US-LNPs Nanopartículas de lignina obtidas por ultrassonicação
- o-US-LNPs Nanopartículas de lignina oxidada obtidas por ultrassonicação
- Micro-FTIR Imageamento bidimensional (2D) por micro-espectroscopia no infravermelho
  - **OM** Microscopia óptica (do inglês *optical microscopy*)
  - PEG Poli(etileno glicol)
  - **PPG** Poli(propileno glicol)
  - PVA Poli(álcool vinílico) (do inglês *poly(vinyl alcohol)*)
  - **Ra** Rugosidade média (do inglês *arithmetical mean height*)
  - **Rq** Desvio médio quadrático da altura (do inglês root mean square height)
  - **RH** Umidade relativa (do inglês *relative humidity*)
  - T<sub>d</sub> Temperatura de decomposição térmica

- **SEM** Microscopia eletrônica de varredura (do inglês *scanning electron microscopy*)
- **SDS** Dodecil sulfato de sódio (do inglês *sodium dodecyl sulfate*)
  - T<sub>d</sub> Temperatura de decomposição térmica
- **TEM** Microscopia eletrônica de transmissão (do inglês *transmission electron microscopy*)
- TEMPO (2,2,6,6-Tetrametilpiperidin-1-il)oxil
  - TGA Análise termogravimétrica (do inglês thermogravimetric analysis)
  - UV Ultravioleta
- UV-Vis Espectroscopia ultravioleta-visível
  - WCA Ângulo de contato com a água (do inglês *water contact angle*)
  - WVP Permeabilidade ao vapor de água (do inglês *water vapor permeability*)
- WVTR Taxa de transmissão de vapor de água (do inglês *water vapor transmission rate*)
  - **XRD** Difração de raios-X (do inglês *X-ray diffraction*)

Apresentação	19
Parte I - Nanocompósitos	21
1. Introdução à (nano)celulose e à (nano)lignina	22
2. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina	30
2.1 Estado da arte	31
2.1.1 Nanocelulose em filmes nanocompósitos	31
2.1.2 Nanolignina em filmes nanocompósitos	35
2.1.3 Combinações de nanocelulose e nanolignina	38
2.1.4 Envelhecimento de materiais celulósicos	41
2.2 Experimental	46
2.2.1 Materiais	46
2.2.2 Pós-tratamento de celulose oxidada por TEMPO	46
2.2.3 Preparo dos nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina	47
2.2.4 Envelhecimento artificial acelerado dos nanocompósitos	48
2.2.5 Caracterização dos filmes nanocompósitos	49
2.3 Resultados e discussão	53
2.3.1 Transparência, fotoabsorção UV e características colorimétricas dos filmes	53
2.3.2 Efeito sinérgico da temperatura e da umidade relativa na deterioração colorimétric filmes	a dos
mines	57
2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes	57 60
<ul><li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li><li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li></ul>	57 60 66
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> </ul>	57 60 66 70
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> </ul>	57 60 66 70 75
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> </ul>	57 60 66 70 75 <b>77</b>
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> <li>3.1 Estado da arte</li> </ul>	57 60 66 70 75 78
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> <li>3.1 Estado da arte</li> <li>3.1.1 Revestimentos protetivos para substratos celulósicos</li> </ul>	57 60 76 70 75 78 78
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> <li>3.1 Estado da arte</li> <li>3.1.1 Revestimentos protetivos para substratos celulósicos</li> <li>3.1.2 Nanotecnologias e revestimentos protetivos para obras de arte em suporte celulósicos</li> </ul>	57 60 66 70 75 75 78 78 co. 81
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> <li>3.1 Estado da arte</li></ul>	57 60 70 75 75 78 78 78 85
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> <li>3.1 Estado da arte</li> <li>3.1.1 Revestimentos protetivos para substratos celulósicos</li> <li>3.1.2 Nanotecnologias e revestimentos protetivos para obras de arte em suporte celulósi</li> <li>3.2 Experimental.</li> <li>3.2.1 Preparo e aplicação dos revestimentos protetivos.</li> </ul>	57 60 66 70 75 75 78 78 co. 81 85
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> <li>3.1 Estado da arte</li> <li>3.1.1 Revestimentos protetivos para substratos celulósicos</li> <li>3.1.2 Nanotecnologias e revestimentos protetivos para obras de arte em suporte celulósi</li> <li>3.2 Experimental</li> <li>3.2.1 Preparo e aplicação dos revestimentos protetivos</li> </ul>	57 60 66 70 75 75 78 78 co. 81 85 85 86
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li> <li>3.1 Estado da arte</li></ul>	57 60 66 70 75 75 78 78 co . 81 85 85 86
<ul> <li>2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes</li> <li>2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes.</li> <li>2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não</li> <li>2.4 Conclusões</li> <li>3. Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos</li></ul>	57 60 66 70 75 75 78 78 co. 81 85 86 86

## Sumário

3.2.6 Teste de remoção e reversibilidade	89
3.2.7 Caracterização dos revestimentos e substratos revestidos	89
3.3 Resultados e discussão	92
3.3.1 Aspecto visual dos substratos celulósicos revestidos	92
3.3.2 Efeitos dos revestimentos na proteção contra o envelhecimento hidrotérmico	95
3.3.3 Efeitos dos revestimentos na proteção contra a radiação UV	96
3.3.4 Efeitos dos revestimentos na morfologia da superfície e rugosidade dos substratos celulósicos	98
3.3.5 Efeitos dos revestimentos nas propriedades de barreira e molhabilidade dos substr celulósicos	atos 104
3.3.6 Reversibilidade e remoção de revestimentos nanocompósitos aplicados em substra celulósicos	tos 108
3.4 Conclusões	112
Parte II - Nanoestruturas	114
4. Obtenção de nanofibrilas e nanocristais de celulose por diferentes rotas	115
4.1 Contextualização	116
4.1.1 Métodos consolidados para a produção de CNFs e CNCs	116
4.1.2 Biossíntese da celulose	118
4.2 Experimental	120
4.2.1 Pré-tratamentos para o isolamento de celulose e caracterização das amostras pré- tratadas	120
4.2.2 Produção de nanoceluloses	121
4.2.3 Caracterização das nanoceluloses	124
4.2.4 Propriedades mecânicas de tração de filmes autossustentados de TO-CNFs	126
4.3 Resultados e discussão	127
4.3.1 Influência da origem anatômica da celulose e do método de produção no teor de lig residual, na cristalinidade e nos rendimentos de conversão de nanoceluloses	nina 129
4.3.2 Influência da origem anatômica da celulose e do método de produção na morfologia nanoceluloses	a de 132
4.3.3 Influência da origem anatômica da celulose e método de produção nas propriedade químicas e na estabilidade coloidal de nanoceluloses	<b>s</b> 138
4.3.4 Aperfeiçoamento das propriedades mecânicas de tração de filmes autossustentados contendo TO-CNFs de folhas e colmos	s 141
4.4 Panorama de resultados e conclusões	144
5. Obtenção de nanopartículas de lignina por diferentes rotas	146
5.1 Contextualização	147
5.1.1 Métodos de produção de LNPs	147
5.2 Experimental	150

5.2.1 Isolamento de lignina a partir do licor da etapa alcalina do pré-tratamento	150
5.2.2 Oxidação da lignina	151
5.2.3 Caracterização da lignina e da lignina oxidada	151
5.2.4 Produção de nanopartículas de lignina	153
5.2.5 Caracterização das nanopartículas de lignina	154
5.2.6 Preparo e avaliação de filmes compósitos PVA/LNP	155
5.3 Resultados e discussão	.157
5.3.1 Propriedades das ligninas extraídas de folhas e colmos	157
5.3.2 Abordagens <i>bottom-up</i> e <i>top-down</i> para produzir LNPs	160
5.3.3 Morfologia das LNPs	162
5.3.4 Estabilidade coloidal das LNPs	169
5.3.5 Atividade antioxidante das LNPs	172
5.3.6 Capacidade fotoabsorvedora no UV das LNPs incorporadas em uma matriz de PVA	173
5.4 Panorama de resultados e conclusões	.175
6. Perspectivas	.177
7. Conclusões gerais	.178
Referências	.179
Apêndices	.202
Apêndice A	.203
Apêndice B	.215
Apêndice C	.224
Apêndice D	.229

## Apresentação

Esta tese versa sobre a aplicação combinada de nanofibrilas de celulose (CNFs), nanocristais de celulose (CNCs) e nanopartículas de lignina (LNPs) em revestimentos protetivos para madeira, papel e tecido. O texto, organizado em cinco capítulos, foi estruturado em duas partes. Os conteúdos e resultados centrais do trabalho foram enfatizados na *Parte I – Nanocompósitos*, a qual inclui os capítulos 1 ao 3. Na *Parte II – Nanoestruturas*, a qual compreende os capítulos 4 e 5, foram apresentadas discussões relevantes sobre a obtenção das nanoestruturas utilizadas na preparação dos nanocompósitos.

No primeiro capítulo, **Introdução à (nano)celulose e à (nano)lignina**, algumas das principais características das nanoestruturas de celulose e lignina são apresentadas de modo preambular. Tais discussões pautam as justificativas e os objetivos centrais deste trabalho.

No segundo capítulo, intitulado **Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina**, é descrito o estado da arte acerca dessa tipologia de sistemas. Além disso, são abarcadas a elaboração, caracterização e avaliação de nanocompósitos baseados em CNFs/CNCs/LNPs produzidos a partir de capim elefante (*Pennisetum purpureum*). Consideram-se os resultados relativos à formação dos filmes nanocompósitos, às suas propriedades ópticas, colorimétricas e estabilidade frente ao envelhecimento artificial acelerado.

No capítulo subsequente, intitulado Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos, discorre-se acerca das principais funções e propriedades de recobrimentos para substratos celulósicos. Confere-se especial destaque ao âmbito das nanotecnologias destinadas à conservação de bens culturais baseados em celulose. Então, são apresentados o estudo extensivo e os principais resultados referentes à aplicação do novo revestimento nanocompósito para a proteção de protótipos de madeira, papel e tecido.

O quarto e o quinto capítulos são compostos por investigações concernentes às nanoestruturas de celulose e lignina, incluindo aquelas utilizadas para compor nanocompósitos na parte central desta tese e descritas nas seções anteriores. O capítulo 4 trata da **Obtenção de nanofibrilas e nanocristais de celulose por diferentes rotas**. Ele faz parte da digressão através da qual são abordadas as metodologias sequenciais empregadas para o isolamento de substratos ricos em celulose a partir do capim elefante e sua posterior conversão a nanoceluloses. Dois diferentes métodos de produção e duas regiões anatômicas da biomassa lignocelulósica (folhas e colmos) foram investigados. Por sua vez, no capítulo 5, cujo título é **Obtenção de nanopartículas de lignina por diferentes rotas**, discute-se o isolamento de lignina a partir de folhas e colmos de capim elefante. Analogamente às nanoestruturas de celulose, LNPs também foram preparadas através de duas metodologias distintas.

Conclui-se com uma seção de perspectivas, à qual se seguem as conclusões gerais do trabalho abarcado por esta tese, delimitando os desafios superados, os objetivos e avanços alcançados.



## Parte I Nanocompósitos

## Capítulo 1

## Introdução à (nano)celulose e à (nano)lignina

A parede celular secundária de biomassas lignocelulósicas, como o capim elefante, é majoritariamente constituída de celulose, hemicelulose e lignina (**Figura 1.1**). Feixes de microfibrilas de celulose, as quais são bastante ordenadas e empacotadas, encontram-se circundados pelas hemiceluloses e conferem estruturação mecânica ao envoltório extracelular. Esses carboidratos, por sua vez, acham-se embebidos e incorporados em uma matriz tridimensional formada pela lignina (Sarkar et al., 2009). Os biopolímeros que compõem a parede celular vegetal se associam por ligações covalentes, interações intermoleculares de van der Waals e ligações de hidrogênio (Mičič et al., 2000; X. Zhang et al., 2011).

Como mencionado previamente, a celulose nativa é o principal componente estrutural responsável pela resistência mecânica e integridade da parede celular vegetal. Conforme a representação na **Figura 1.2**, a celulose é um polissacarídeo linear formado por unidades repetitivas de glicose conectadas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1→4) (French, 2017). Este biopolímero se estrutura hierarquicamente em microfibrilas, as quais apresentam diâmetros de aproximadamente 2–4 nm e comprimentos maiores do que 2 µm (A. Isogai et al., 2011; Song et al., 2020).

Um modelo consistente prevê que cada microfibrila é formada pelo arranjo de 18 cadeias de celulose empacotadas em 6 camadas com uma conformação 234432 (Kubicki et al., 2018; Song et al., 2020). Isto é, existiriam folhas sobrepostas contendo, respectivamente, 2, 3, 4, 4, 3 e 2 cadeias macromoleculares de celulose, conforme a representação na **Figura 1.2**, que se manteriam coesas por interações intra e intermoleculares. Ademais, as microfibrilas de celulose são semicristalinas, ou seja, há alternância entre domínios cristalinos, nos quais as cadeias são altamente ordenadas, e zonas de maior desordem (regiões amorfas). A estruturação em fases cristalinas, *para*-cristalinas e amorfas (Bregado et al., 2019) confere elevado módulo elástico e resistência mecânica às microfibrilas de celulose. Desse modo, esses

materiais são promissores agentes de reforço em matrizes poliméricas, seja na forma de fibras macroscópicas, seja na forma de nanofibrilas e nanocristais de celulose (Tingaut et al., 2012).



**Figura 1.1** Esquema ilustrativo da arquitetura e composição da parede celular de biomassas lignocelulósicas. O conteúdo intracelular das células vegetais se encontra confinado, sucessivamente, pela membrana plasmática, pela parede vegetal secundária e pela parede vegetal primária. A região de interface entre paredes vegetais de células adjacentes é designada lamela média. A parede celular secundária é um sistema compósito formado majoritariamente por celulose, lignina e hemicelulose associadas entre si de modo contíguo. As escalas inseridas no esquema são representativas para indicar as dimensões estimadas de cada estrutura ilustrada, de acordo com informações da literatura (Alberts et al., 2002; A. Isogai et al., 2011).



**Figura 1.2** Esquema ilustrativo da arquitetura hierárquica da celulose a partir de um feixe de fibrilas. Cada microfibrila é possivelmente composta por 18 cadeias lineares de celulose, organizadas na forma de folhas empilhadas (Song et al., 2020). Nas microfibrilas, as cadeias se estruturam em domínios cristalinos e amorfos. Finalmente, a celulose é um homopolissacarídeo cuja unidade repetitiva é a glicose, também denominada unidade D-glicopiranose.

Outro importante carboidrato presente na parede vegetal é a hemicelulose, uma classe de biopolímeros heterogêneos ramificados e amorfos, como mostrado na **Figura 1.3**. Eles possuem menor grau de polimerização do que a celulose e são compostos por pentoses e hexoses (Himmel et al., 2007). Em gramíneas, os polissacarídeos hemicelulósicos mais preponderantes são as xilanas. Nesse caso, a cadeia principal de  $\beta$ -(1,4)-xilose pode ser decorada com substituintes arabinosila e glucuronosila, formando glucuronoarabinoxilanos (Hatfield et al., 2017). Atribui-se à presença de substituições por grupos hidrofóbicos, incluindo grupos acetila e metila, bem como ácido ferúlico em unidades  $\beta$ -D-arabinofuranose, o aumento da coesão e compatibilização entre celulose, hemicelulose e lignina (Brandt et al., 2013).

A lignina é uma macromolécula natural aromática (polifenólico) e heterogênea, a qual apresenta estrutura nativa complexa e bastante hidrofóbica. Tal caráter hidrofóbico presente ainda na planta pode ou não se conservar após a extração e fragmentação da lignina técnica, com a existência de uma estrutura anfifílica, especialmente devido à incorporação de grupos funcionais hidrofílicos na lignina extraída. Sendo amorfa e altamente reticulada (**Figura 1.4**), a lignina nativa atua na imobilização de células em tecidos juvenis e encarrega-se do enrijecimento da parede celular vegetal em tecidos maduros (Glasser, 2019). Além de conferir reforço mecânico, este polímero também é importante para a integridade das estruturas celulares lignificadas frente a ataques biológicos e físicos (Brandt et al., 2013).



**Figura 1.3** Esquema ilustrativo da arquitetura da hemicelulose ramificada. Nas gramíneas, as xilanas são prevalecentes. Esse biopolímero é composto por cadeias principais de xilose, uma pentose. Homoxilanos são polímeros lineares, enquanto heteroxilanos apresentam ramificações curtas baseadas em outras pentoses, como a arabinose, ou em hexoses, como a glucose e a manose.

Esta biomacromolécula é formada pela polimerização enzimática *in situ* de monolignóis, os álcoois *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico. Os precursores monoméricos se associam principalmente por ligações éter alquil-aril ( $\beta$ -O-4',  $\alpha$ -O-4'), originando as unidades estruturais fundamentais da lignina: *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) (Glasser, 2019; Österberg et al., 2020; Ralph et al., 2019). Essas unidades se distinguem pelas

substituições que possuem no anel aromático e conferem heterogeneidade ao polímero (Sarkar et al., 2009). Durante a lignificação, as unidades G e H são mais passíveis de se reticular devido à formação de ligações C–C na posição C5 do anel (**Figura 1.4**). Portanto, a estruturação do polímero varia de acordo com a sua composição. As coníferas são compostas quase que exclusivamente por unidades G, por isso a sua deslignificação é dificultada. Folhosas (madeira dura) também contêm grande contribuição de unidades S, enquanto as gramíneas são constituídas pelas três unidades formadoras, especificamente, unidades G, S e pequena proporção de unidades H (Brandt et al., 2013). A presença de unidades H conjugadas favorece a formação de uma estruturação tridimensional da lignina. Ainda, a presença de grupos fenólicos terminais oriundos do álcool *p*-cumarílico aumenta a solubilidade da lignina de gramíneas, favorecendo a deslignificação alcalina e oxidativa (Hatfield et al., 2017).



Estrutura química geral da molécula de lignina

**Figura 1.4** Esquema ilustrativo da arquitetura da lignina reticulada. Nas gramíneas, a lignina é heterogênea e constitui-se por unidades G, S e pequena quantidade de unidades H (Brandt et al., 2013) ligadas covalentemente. Os precursores dessas unidades monoméricas são, respectivamente, o álcool coniferílico, o álcool sinapílico e o álcool *p*-cumarílico. Alguns carbonos estão numerados na estrutura das unidades formadoras para facilitar a interpretação.

Como componentes estruturais majoritários do capim elefante, a lignina corresponde a cerca de 20–30% e a celulose a cerca de 30–40% da massa total dessa biomassa *in natura* (Scopel & Rezende, 2021). Esses dois compostos são também os polímeros naturais mais abundantes na Terra e podem ser convertidos a nanoestruturas (Nascimento & Rezende, 2018; Trevisan & Rezende, 2020), como exemplificado na **Figura 1.5**.





LNPs, CNFs e CNCs são nanomateriais potencialmente estratégicos para a produção de nanocompósitos, filmes, espumas, fármacos, cosméticos e dispositivos ópticos (Abitbol et al., 2016; Schneider et al., 2021). Portanto, são explorados em uma ampla gama de aplicações como hidrogéis (Du et al., 2019), consolidantes (Antonelli et al., 2020; Camargos et al., 2017), agentes antimicrobianos (V. T. Noronha et al., 2021), aditivos antioxidantes (Trevisan & Rezende, 2020) e recobrimentos para madeira (Kluge et al., 2017), papel (Puceković et al., 2015) e têxteis (Zimniewska et al., 2008).

A versatilidade de aplicações possíveis advém de propriedades intrínsecas à celulose, como anisotropia, biocompatibilidade e elevada resistência mecânica à tração, e à lignina, como ação antimicrobiana, capacidade antioxidante e fotoabsorvedora. Tais características são geralmente potencializadas na escala nanométrica, sobretudo em virtude do incremento da área superficial específica. Ademais, o aspecto visual das nanoestruturas se distingue bastante da aparência dos materiais de partida. Por suas dimensões nanométricas, CNFs e CNCs são geralmente transparentes, diferentemente das fibras de celulose, que são opacas. A coloração das LNPs também é, usualmente, menos intensa do que a da escura lignina bruta. Além disso, em geral, após o preparo todas essas nanoestruturas se encontram originalmente dispersas em água. Ainda que sejam macromoléculas anfifílicas, a celulose e a lignina extraídas de plantas, em geral, apresentam baixa solubilidade em sistemas aquosos em pH neutro. Isso ocorre devido à existência de intensas redes de ligações de hidrogênio inter e intramoleculares, bem como em virtude da marcante contribuição de interações hidrofóbicas na celulose (Medronho et al., 2012) e na lignina (Melro et al., 2018).

Portanto, neste estudo, utilizando-se dispersões coloidais estáveis de CNFs, CNCs e LNPs, pretendeu-se desenvolver materiais nanocompósitos nos quais as propriedades supramencionadas fossem favoravelmente combinadas. Apesar de sua potencialidade, combinações de nanoceluloses e nanolignina ainda não foram satisfatoriamente reportadas na literatura. Aqui, os nanocompósitos elaborados foram aplicados como revestimentos transparentes destinados à proteção de substratos celulósicos, os quais são suscetíveis à deterioração por fatores como temperatura e umidade elevadas ou incidência de radiação ultravioleta. Lançou-se mão da compatibilidade inerente entre a celulose e a lignina (Glasser, 2019), que também são componentes importantes da madeira, do papel e do tecido a serem revestidos.

## 1.1 Objetivos

Os objetivos prioritários deste projeto de doutorado consistiram em desenvolver, aplicar e caracterizar filmes e revestimentos nanocompósitos sustentáveis baseados em combinações de nanoestruturas de celulose e lignina. Dessa forma, foi proposta uma nova abordagem para a aplicação integrada de nanoceluloses e nanoligninas, visando à implementação de tratamentos efetivos para a proteção de substratos celulósicos.

As atividades realizadas compreenderam:

- Preparar dispersões aquosas de CNFs, CNCs e LNPs;
- Combinar CNFs, CNCs e LNPs em misturas com diferentes concentrações de cada componente;
- Preparar filmes nanocompósitos via casting, ou seja, a partir da evaporação do solvente (água) de tais misturas;
- Estudar e aprimorar os filmes nanocompósitos, especialmente quanto à sua estabilidade frente ao envelhecimento hidrotérmico;
- Aplicar os nanocompósitos otimizados como revestimentos protetivos em substratos celulósicos, principalmente considerando a conservação de bens culturais;
- Investigar a contribuição dos revestimentos para o aspecto visual, para a cor, bem como para a resistência à radiação UV e ao envelhecimento dos substratos revestidos;
- Avaliar a compatibilidade entre revestimentos e substratos, assim como as alterações na topografia superficial, na permeabilidade e na molhabilidade de protótipos revestidos.

O estudo sistemático das nanoestruturas de celulose e lignina preparadas será apresentado na Parte II desta tese.

# Capítulo 2

## Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina

Nanofibras, como as CNFs e os CNCs (Trache et al., 2020), assim como outras nanopartículas de origem natural e renovável, como as LNPs, são candidatas promissoras para o desenvolvimento de materiais avançados, incluindo nanocompósitos (A. Isogai et al., 2011; Kai et al., 2016; Siqueira, Bras, et al., 2010). Aplicações potenciais, de durabilidade média a longa, incluem o desenvolvimento de revestimentos à base de água (Kluge et al., 2017; Puceković et al., 2015; Tarrés et al., 2016), embalagens com propriedades de barreira (Fukuzumi et al., 2009; Lavoine et al., 2012; F. Li et al., 2013), membranas e adsorventes para remediação ambiental (Jackson et al., 2021; V. T. Noronha et al., 2021; Voisin et al., 2017), dispositivos eletrônicos (Zhu et al., 2014) e *scaffolds* baseados em ou incorporados com CNFs e CNCs para a engenharia de tecidos (Du et al., 2019).

A seguir, será apresentado o estado da arte relativo à aplicação individualizada de nanoceluloses e nanoligninas em nanocompósitos, acompanhado por referências que corroboram com a favorável e nascente aplicação combinada dessas nanoestruturas. Ademais, o envelhecimento de materiais celulósicos e lignocelulósicos será abordado de maneira a introduzir o arcabouço teórico que norteará parte das discussões realizadas neste capítulo. A estabilidade e a resistência frente ao envelhecimento hidrotérmico são importantes para aplicações duradouras, como no caso dos revestimentos protetivos desenvolvidos aqui. Na sequência, serão reportados a parte experimental, os resultados e discussões, bem como as conclusões desta vertente do trabalho.

## 2.1 Estado da arte

Compósitos são definidos como materiais sólidos multicomponentes que compreendem múltiplos domínios de fase, dentre os quais ao menos um é uma fase contínua. Nanocompósitos, por sua vez, são compósitos nos quais pelo menos um dos domínios de fase é constituído por materiais que possuem no mínimo uma dimensão na ordem de nanômetros (IUPAC, 2019).

#### 2.1.1 Nanocelulose em filmes nanocompósitos

Quando as nanoceluloses são empregadas para a obtenção de nanocompósitos, as excelentes propriedades dessas nanoestruturas podem se traduzir em aperfeiçoadas características no compósito. Dentre os atributos exploráveis estão baixa densidade, elevada resistência mecânica e módulo de elasticidade, além de propriedades ópticas e de barreira moduláveis (Mariano et al., 2014). Adicionalmente, a grande área interfacial devido à nanoescala pode conferir propriedades ainda mais ímpares aos nanocompósitos, comparativamente a compósitos convencionais (Moon et al., 2011).

Mesmo em baixas concentrações (abaixo de 30% m/m), CNCs e CNFs atuam como eficientes agentes de reforço em nanocompósitos poliméricos (**Figura 2.1**). De modo geral, essas nanoestruturas naturalmente hidrofílicas são dispersas e incorporadas a matrizes poliméricas polares. Alguns exemplos incluem derivados de celulose (Bilbao-Sainz et al., 2011; Okahashi et al., 2021; Weisheng Yang et al., 2019), celulose regenerada (Q. Yang et al., 2015), pectina (Zambuzi et al., 2021), poli(álcool vinílico) (PVA) (Fortunati, Puglia, Luzi, et al., 2013; Kvien & Oksman, 2007), poli(ácido lático) (PLA) (Oksman et al., 2006) e sulfopoliéster (Jin et al., 2021). No entanto, a compatibilização com polímeros hidrofóbicos, como as poliolefinas, também é possibilitada por estratégias tais quais a utilização de surfactantes ou a funcionalização das nanoceluloses com grupos apolares (Natterodt et al., 2017).

Independentemente da matriz polimérica considerada, o alinhamento das partículas exerce papel relevante nas propriedades dos nanocompósitos. Partículas com elevada razão de aspecto alinhadas de modo contínuo, como mostrado na **Figura 2.1A**, contribuem para o incremento do módulo elástico e da resistência mecânica à tração na direção longitudinal ao alinhamento (Callister & Rethwisch, 2007; Kvien & Oksman, 2007).



**Figura 2.1** Esquema ilustrativo de nanocompósitos formados por uma matriz (fase contínua) genérica reforçada com nanocelulose (A) alinhada de modo a compor uma fase dispersa anisotrópica e (B) aleatoriamente orientada de modo a compor uma fase dispersa isotrópica. O uso de nanocelulose como reforço em concentrações menores do que 30% (m/m) propicia incrementos extraordinários no módulo elástico de polímeros. Esse efeito é especialmente atribuído à percolação, isto é, à formação de redes de nanoestruturas conectadas dentro da matriz, em sistemas multifásicos (Habibi et al., 2010; Moon et al., 2011).

A ausência de alinhamento de CNCs e CNFs incorporados a matrizes poliméricas (Figura 2.1B) ou compondo outros tipos de nanomateriais (Figura 2.2), por sua vez, também pode ser benéfica. Isto é, a configuração isotrópica das nanopartículas pode contribuir para as propriedades ópticas, de rigidez mecânica e de barreira de nanocompósitos e filmes de nanocelulose pura (Moon et al., 2011). Nesse contexto, a adequada dispersão das nanoestruturas evita que aglomerações se formem, o que pode causar falhas/defeitos e minimizar a área de interface entre nanopartículas e matriz. Ademais, a formação de uma estrutura de rede percolada rígida, especialmente estruturada por ligações de hidrogênio, favorece a atuação dessas nanopartículas como reforço mecânico (Habibi et al., 2010).

Além de nanocompósitos tradicionais, obtidos pela incorporação de nanoceluloses a vários tipos de matrizes poliméricas, há também grande interesse em outros nanomateriais como filmes baseados em CNCs e CNFs puros (**Figura 2.2A**), bem como em CNCs e CNFs combinados com polímeros e plastificantes solúveis em água (**Figura 2.2B**) ou partículas inorgânicas (**Figura 2.2C**). Nesses casos, as nanoceluloses são os componentes preponderantes dos sistemas mono ou multifásicos elaborados (Moon et al., 2011).



**Figura 2.2** Esquema ilustrativo de (A) filme formado pela rede interconectada de nanocelulose pura (100% m/m) e nanocompósitos formados por uma rede de nanocelulose (filme/matriz) incorporada com (B) compostos solúveis em água e (C) nanopartículas inorgânicas. Nos nanocompósitos, a concentração de nanocelulose é geralmente superior a 70% (m/m) (Moon et al., 2011).

Filmes transparentes compostos unicamente por nanocelulose (**Figura 2.2A**) com diversos graus de alinhamento formam redes interconectadas estruturadas, principalmente, por extensivas ligações de hidrogênio (Abitbol et al., 2016). A porosidade remanescente nesses nanomateriais advém dos espaços previamente existentes nas redes de nanopartículas em dispersão. De fato, o processamento para obtenção desses filmes consiste, usualmente, no *casting* de dispersões aquosas de CNCs ou CNFs em concentrações entre 0,05 e 5% (m/m). O excesso do meio dispersante é removido do sistema por evaporação, filtração a vácuo e/ou prensagem. Os filmes obtidos através desses procedimentos apresentam nanoceluloses orientadas de forma isotrópica no plano bidimensional dos filmes. A espessura típica desses filmes monocomponentes é de 25–100 μm (Moon et al., 2011).

Filmes 100% constituídos por CNCs podem ser empregados em revestimentos para aumentar o brilho superficial de papel (Puceković et al., 2015) ou para conferir propriedade de barreira ao oxigênio em embalagens de politereftalato de etileno, polipropileno e poliamida (F. Li et al., 2013). Filmes ultrafinos (~38 nm) de CNCs alinhados por um campo elétrico e depositados em substratos de mica apresentam também propriedades piezoelétricas (Csoka et al., 2012). Filmes preparados através da filtração de suspensões aquosas de CNFs, por sua vez, apresentam-se como estruturas bidimensionais de fibrilas entrelaçadas (Österberg et al., 2013). Os chamados "nanopapéis" apresentam espessura de 60–80 μm, além de elevada resistência à tração, tenacidade e tensão na ruptura. O aumento dessas propriedades mecânicas é diretamente proporcional à massa molar média das nanofibrilas. Além disso, a porosidade dos filmes pode ser modulada através da troca de solvente, isto é, a substituição da água por metanol, etanol e acetona nas dispersões de CNFs (Henriksson et al., 2008).

Finalmente, estudos acerca de filmes compósitos ou modificados geralmente consideram sistemas nos quais as concentrações de nanocelulose são maiores do que 70% (m/m). Essas investigações podem focar no aperfeiçoamento de propriedades intrínsecas aos filmes de CNCs e CNFs puros, os quais tendem a ser frágeis e apresentar baixa transmitância devido à presença de aglomerações (Moon et al., 2011). A modificação ou adição de polímeros/plastificantes, bem como nanopartículas também pode conferir propriedades adicionais a nanomateriais baseados em nanocelulose.

Quanto à incorporação de compostos solúveis (Figura 2.2B), alguns exemplos são elencados a seguir. A adição de amido (2% m/m) a redes de CNFs incrementou as propriedades mecânicas de deformação e flexão de filmes nanocompósitos (Yano & Nakahara, 2004). Similarmente, glicerol e amilopectina foram adicionados a CNFs (> 70% m/m) para produzir filmes com elevada tenacidade (Svagan et al., 2007). Nanocompósitos iridescentes contendo CNCs e glicerol (20% m/m) apresentaram mudança de cor estrutural em diferentes umidades relativas, funcionando como sensores ópticos de umidade (M. Xu et al., 2018). A combinação de suspensões aquosas de fibroína de seda e dispersões de CNCs resultou em filmes compósitos com alto teor de nanocelulose (70–80% m/m). A resistência à tração e tensão na ruptura dos nanocompósitos foi até cinco vezes superior à de filmes produzidos com os componentes separadamente (Noishiki et al., 2002). A incorporação de PVA melhorou as propriedades reológicas de formulações de revestimentos baseados em dispersões de CNCs. Os nanocompósitos transparentes, contendo de 90 a 70% (m/m) de CNCs, apresentaram

Quanto à incorporação de nanopartículas inorgânicas às redes de nanocelulose (Figura 2.2C), por sua vez, serão apresentadas referências relativas à produção de nanomateriais híbridos (Moon et al., 2011). CNFs incorporadas com nanotubos de carbono

apresentaram, na forma de filme, elevada condutividade, flexibilidade e resistência à tração (Salajkova et al., 2013). Filmes nanocompósitos de CNFs covalentemente ligadas a nanopartículas de prata exibiram alta atividade antibacteriana e eficiência catalítica para a redução/descoloração do corante rodamina B (Ramaraju et al., 2015). As nanoceluloses podem servir, também, como plataforma para a produção de nanopartículas diversas (Moon et al., 2011; Padalkar et al., 2011). Valencia et al. (2020) reportaram o crescimento *in situ* de nanopartículas de óxido de cobre (I) por meio da adsorção de íons Cu<sup>+2</sup> na superfície de filmes de CNFs. Os nanocompósitos formados apresentaram atividade antimicrobiana e capacidade de remover contaminantes (corante azul de metileno) de soluções aquosas. Analogamente, nanopartículas de prata se formaram por redução *in situ* na superfície de CNCs. Os nanocompósitos obtidos apresentaram elevada atividade antibacteriana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de evitarem a formação de biofilmes (Yu et al., 2014). C. Xu et al. (2020) incorporaram os nanomateriais preparados à camada ativa de membranas de nanofiltração.

Compósitos constituídos por matrizes poliméricas reforçadas com nanoceluloses, filmes de CNCs e CNFs puros ou filmes nanocompósitos compostos majoritariamente por essas nanopartículas compartilham avançadas propriedades. Esses nanomateriais podem apresentar propriedades mecânicas aperfeiçoadas, como elevada tenacidade, rigidez e resistência específica (Moon et al., 2011). Nanomateriais de celulose apresentam degradação térmica e redução das propriedades mecânicas em temperaturas usualmente entre 200–300 °C (Fukuzumi et al., 2010). Porém, a estabilidade térmica pode ser modulada através do controle da morfologia e das propriedades físico-químicas na superfície das nanoceluloses (Gan et al., 2020). Adicionalmente, propriedades de transmitância óptica, sorção de água, permeabilidade ao vapor de água e barreira ao oxigênio também podem ser moduladas com a utilização de CNCs e CNFs (Moon et al., 2011). A pluralidade de propriedades exploráveis culmina na ampla gama de aplicações possíveis para esses nanomateriais baseados em nanoceluloses.

### 2.1.2 Nanolignina em filmes nanocompósitos

LNPs também são exploradas como constituintes em nanocompósitos multifuncionais. Similarmente às nanoceluloses, a nanolignina pode ser utilizada como agente de reforço em matrizes poliméricas ou como constituinte da matriz polimérica em si (Chauhan, 2020; Feldman, 2016; Kai et al., 2016; Schneider et al., 2021), conforme ilustração esquemática na **Figura 2.3**.

Filmes nanocompósitos imbuídos de capacidade antioxidante e eficiente proteção UV podem ser preparados através da incorporação de LNPs a matrizes poliméricas convencionais (**Figura 2.3A**). Por exemplo, investigaram-se nanocompósitos produzidos pela incorporação de nanolignina a matrizes de poliuretano (PU) à base de água ou pela utilização dessas nanopartículas como polióis e reticulantes de origem natural. No primeiro caso, a carga nanométrica se dispersou adequadamente na fase contínua, conservando a estabilidade térmica e contribuindo para o aumento da rigidez do PU (Gonzalez et al., 2017). No segundo caso, a presença de LNPs aumentou a resistência térmica e mecânica (tração) dos nanocompósitos de PU, além de resultar em filmes com comportamento dielétrico (isolante elétrico a altas frequências), aperfeiçoada capacidade de bloqueio UV e baixa molhabilidade (G. Qi et al., 2020).

Em filmes transparentes de PVA contendo nanolignina, também foi observado incremento na performance mecânica e térmica dos nanocompósitos em comparação ao PVA puro. Tal comportamento foi atribuído à presença de grande concentração de hidroxilas fenólicas na superfície das LNPs, as quais podem favorecer a adesão interfacial com a matriz de PVA por meio da formação de redes baseadas em ligações de hidrogênio (Tian, Hu, Bao, et al., 2017). Ainda, LNPs modificadas com ácido cítrico incorporadas na mesma matriz garantiram maior estabilidade térmica, capacidade antioxidante e transparência aos nanocompósitos, além de aumentar a sua hidrofobicidade (X. He et al., 2019). Filmes compósitos flexíveis e retardantes de chamas foram obtidos com a associação de LNPs a PVA e nitreto de boro (X. Wang et al., 2019). Adicionalmente, Weijun Yang et al. (2021) reportaram que LNPs covalentemente ligadas ao PVA utilizando glutaraldeído originaram nanocompósitos com elevada resistência mecânica à tração e ductilidade, além de atividade antibacteriana. Os nanocompósitos produzidos foram considerados promissores para aplicações em embalagens de alimentos.

Aplicações em filmes para embalagens incluem ainda a adição de LNPs a matrizes de poli(metil metacrilato) (PMMA) (Weijun Yang et al., 2018) e PLA (Lintinen et al., 2018; Weijun Yang et al., 2015). Partículas coloidais de lignina também podem substituir satisfatoriamente o negro de fumo em compósitos de borracha natural, aumentando a resistência térmica, à tração
e ao cisalhamento desses materiais (Jiang et al., 2013). Assim, o emprego de LNPs como aditivos em nanocompósitos pode ser uma alternativa estratégica frente ao uso de plásticos e outros produtos derivados do petróleo (Z. Zhang et al., 2021).



**Figura 2.3** Esquema ilustrativo de (A) nanocompósito formado por uma matriz (fase contínua) genérica reforçada com nanolignina (1 a 20% m/m), (B) filme particulado formado unicamente por nanoesferas de lignina (100% m/m) e (C) nanocompósito formado por um alto conteúdo de nanolignina (mais de 50% m/m) incorporada com compostos sintéticos ou naturais. A lignina é usualmente utilizada em concentrações inferiores a 20% (m/m) nos nanocompósitos reforçados para evitar a rigidez e a fragilidade típicas dessa macromolécula condensada (Cusola et al., 2019). Esses tipos de sistemas constituem a parcela majoritária da literatura referente a nanocompósitos de lignina. Nos nanocompósitos em que a lignina é o componente preponderante, por sua vez, a concentração em massa de LNPs pode ultrapassar 90% (Feldman, 2016).

Cusola e colaboradores (2018) reportaram a obtenção de filmes particulados totalmente baseados em partículas esféricas de lignina (**Figura 2.3B**). A estratificação das partículas micrométricas e coloidais (nanopartículas) foi propiciada por um mecanismo de auto-organização induzido pela evaporação da água inicialmente presente no sistema. Os autores demonstraram que a estrutura desses filmes (espessura, empacotamento e segregação de partículas polidispersas) é modulável através da temperatura e taxa de secagem. Esses sistemas supramoleculares são potencialmente aplicáveis em filmes finos (Farooq et al., 2020), revestimentos particulados (Cusola et al., 2018; Zikeli et al., 2019), catalisadores, materiais de barreira, dispositivos eletrônicos flexíveis e plataformas para liberação controlada de fármacos (Ago et al., 2017; Österberg et al., 2020).

Finalmente, nanocompósitos também podem ser preparados com a adição de compostos sintéticos ou naturais a sistemas preponderantemente baseados em LNPs (**Figura 2.3C**). Por exemplo, produziu-se um nanocompósito de LNPs epóxi, modificadas e reticuladas com éter diglicidílico de bisfenol A, o qual foi aplicado como adesivo à base de água para madeira. Nesse nanomaterial, a concentração de LNPs variou de 50 a 90% em massa (T. Zou et al., 2021). Um complexo de gelatina, contendo até 62% (m/m) de LNPs foi desenvolvido como um promissor floculante para a captura de microrganismos patogênicos (Yin et al., 2018). Ademais, Cusola et al. (2019) adicionaram pequena quantidade de resina poliamidoamina-epicloridrina (3% m/m) às LNPs para preparar membranas resistentes à água. O mesmo grupo de pesquisa ainda reportou a combinação de grande teor de LNPs (até 92% m/m) com CNFs para preparar filmes nanocompósitos (membranas) resistentes e dúcteis (Cusola et al., 2019; Farooq et al., 2019). Sistemas nos quais LNPs são combinadas a CNFs ou CNCs serão discutidos detalhadamente na seção a seguir.

#### 2.1.3 Combinações de nanocelulose e nanolignina

Como mencionado anteriormente, revestimentos baseados unicamente em partículas micro<sup>1</sup> (maiores do que 800 nm) e nanométricas<sup>2</sup> de lignina (menores do que 300 nm) foram introduzidos em 2018 (Cusola et al., 2018). Para incrementar sua performance mecânica, isto é, coesão, flexibilidade, capacidade de dobra e módulo de armazenamento/elasticidade, Cusola et al. (2019) adicionaram pequenas concentrações de CNFs (4 a 17% m/m) aos filmes, conforme a **Figura 2.4A**. Com uma concentração ótima de CNFs igual a 8% (m/m), os nanocompósitos desenvolvidos constituíram membranas particuladas opacas, autossustentadas e homogêneas, com capacidade antioxidante e de bloqueio à radiação UV.

Em trabalho similar, Farooq et al. (2019) prepararam filmes compósitos de CNFs e lignina, na forma de lignina coloidal (LNPs e LNPs catiônicas) ou lignina kraft (bruta) em concentrações de 0 a 50% (m/m). Os compósitos foram preparados através de um método de filtração pressurizada e os melhores resultados foram obtidos para os sistemas contendo lignina coloidal (10% m/m). Esses compósitos exibiram baixa transmitância óptica na região do

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Micropartículas podem ser definidas como estruturas com dimensões de 0,5 μm a 0,5 mm (Vert et al., 2012).

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> O prefixo "nano" é usualmente aceitável para dimensões inferiores a 500 nm (Vert et al., 2012).

visível, mas grande absorbância no UV e capacidade antioxidante, levando os autores a sugerirem que seriam bons candidatos a aplicações em embalagens alimentícias e produtos biomédicos. Ademais, a grande tenacidade, resistência à tração e ductilidade desses nanocompósitos foram atribuídas à presença das nanoesferas de lignina, as quais atuaram como agentes lubrificantes e de transferência de tensão.



**Figura 2.4** Esquema ilustrativo de (A) nanocompósito particulado formado majoritariamente por nanoesferas de lignina e pequena quantidade de nanocelulose, (B) nanocompósito preponderantemente constituído de nanocelulose incorporada com lignina bruta solubilizada e (C) nanocompósito de nanocelulose incorporada com LNPs. Nos nanocompósitos particulados, a concentração de LNPs pode atingir 92% (m/m) e nanoceluloses (CNFs) são incorporadas em baixas concentrações apenas para melhorar a coesão do filme (Cusola et al., 2019). Nos nanocompósitos contendo majoritariamente nanoceluloses, por sua vez, a concentração de CNFs e CNCs ultrapassa 90% (m/m).

Restringindo o estudo à combinação de CNCs e lignina bruta (alcalina ou kraft) solubilizada em meio alcalino (**Figura 2.4B**), Parit et al. (2018) produziram filmes transparentes *via* casting (evaporação de solvente). A concentração de lignina variou de 1 a 10% (m/m), resultando em nanocompósitos amarronzados com capacidade de proteção UV, estabilidade térmica e superfície hidrofílica. Revestimentos nanocompósitos de CNCs e lignina produzidos na superfície de substratos de quartzo também apresentaram grande capacidade de proteção UV (Hambardzumyan et al., 2012). Em uma abordagem diferente, W Yang e colaboradores (2016) incorporaram baixas concentrações de CNCs e LNPs (1 a 3% m/m) para conferir efeitos sinérgicos de proteção UV, atividade antimicrobiana, elevada cristalinidade e transparência a

matrizes de PLA destinadas a embalagens alimentícias. Analogamente, a incorporação de CNCs (2% m/m) com alto teor de lignina residual melhorou as propriedades mecânicas (módulo de elasticidade, deformação na ruptura, tenacidade e módulo de armazenamento) de nanocompósitos de PLA (Wei et al., 2018). Verificou-se que a presença de lignina residual nos CNCs aumentou a sua compatibilização e adesão na matriz de PLA.

Tayeb et al. (2020), por sua vez, usaram CNFs com elevado teor de lignina residual para produzir revestimentos hidrofóbicos (menor molhabilidade) para papel destinado a aplicações em embalagens. Filmes finos foram formados na superfície do substrato por filtração e apresentaram propriedades de barreira à água, ao óleo, ao vapor de água e ao oxigênio. A existência de lignina residual em CNFs, por sua menor hidrofilicidade, também se mostrou favorável para aplicações na estabilização interfacial de emulsões de *Pickering* (S. Guo et al., 2021). Além disso, a manutenção da lignina em CNFs propicia, de modo fácil e direto, a incorporação de propriedades intrínsecas à macromolécula aromática, como capacidade antioxidante, antimicrobiana e de proteção UV.

Para promover a utilização integral de resíduos da produção de bioetanol, Rivière et al. (2021) propuseram a combinação de LNPs, CNFs e nanofibrilas de lignocelulose, isto é, CNFs com grande conteúdo de lignina residual. Produziram-se por filtração filmes nanocompósitos contendo até 10% (m/m) de LNPs e 15% (m/m) de CNFs puras. Os nanocompósitos apresentaram propriedades mecânicas, antioxidantes e de permeabilidade ao oxigênio moduláveis, sendo potencialmente empregáveis em embalagens. A avaliação do ciclo de vida (*life cycle assessment*) atestou o benefício de se produzir tais nanocompósitos funcionais e renováveis no contexto de biorrefinarias.

Finalmente, ainda considerando abordagens nas quais a lignina, na forma de nanopartículas, é combinada a redes majoritariamente constituídas de CNCs ou CNFs (**Figura 2.4C**), Mattinen et al. (2018) revestiram filmes finos de CNFs com lignina coloidal. Um tratamento térmico foi empregado para a formação de ligações covalentes entre os componentes por meio de reação de esterificação entre os grupos ácido carboxílico nas LNPs e as hidroxilas nas CNFs. Os nanomateriais obtidos apresentaram elevada adesão, hidrofobicidade, além de boas propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Aplicações potenciais incluem o desenvolvimento de adesivos e revestimentos para curativos, revestimentos comestíveis e modificação de fibras para têxteis.

Há um consolidado arcabouço de pesquisas concernentes ao desenvolvimento de nanocompósitos baseados majoritariamente em CNFs, CNCs ou LNPs, sendo as nanoceluloses as estruturas envolvidas na maior parte dos trabalhos. Porém, as pesquisas relativas ao uso concomitante de dois ou mais tipos dessas nanoestruturas são ainda bem menos numerosas do que as aplicações separadas dessas nanopartículas. Trabalhos recentes apontam para a potencialidade do uso de CNFs ou CNCs em conjunção às LNPs. A combinação simultânea das três nanoestruturas, reportada pela primeira vez no trabalho explorado nesta tese, será apresentada em breve.

#### 2.1.4 Envelhecimento de materiais celulósicos

O impacto do envelhecimento da celulose é crucial para nanocompósitos baseados nesse biopolímero, assim como para outros materiais celulósicos, como papel (Łojewski et al., 2010; Małachowska et al., 2020; Vitale & Erhardt, 1993) e madeira (Matsuo et al., 2011). A deterioração química está associada à hidrólise e à oxidação da celulose e ocorre prioritariamente nas regiões amorfas do polímero (Małachowska et al., 2020). A representação na **Figura 2.5** indica os produtos formados a partir de tais reações de deterioração.

As ligações glicosídicas  $\beta$ -(1→4) da celulose são degradadas hidroliticamente em meio ácido. Isso pode levar ao encurtamento das cadeias celulósicas (Figueiredo Junior, 2012), à redução do grau de polimerização (DP) (Zervos, 2010) e à consequente diminuição de propriedades mecânicas do material celulósico, como a resistência à tração (Małachowska et al., 2020). Mecanismos oxidativos, por sua vez, acarretam alterações às cores características desses materiais devido à formação de produtos de degradação ricos em carbonilas e ácidos carboxílicos (Małachowska et al., 2020). As carbonilas são os precursores de cromóforos na forma de aldeídos e cetonas conjugadas, cuja formação é catalisada pela presença simultânea de grupos carboxílicos e promove o amarelecimento durante o envelhecimento da celulose (Ahn et al., 2019).

Em meio ácido ou neutro, a oxidação por mecanismo radicalar pode se iniciar com a formação de hidroperóxidos (R–O–OH) (Strlič & Kolar, 2005) nos carbonos C2, C3 e C6 da glicose. A seguir, propaga-se com a formação de grupos carbonila, como cetonas no C2 e C3, originando dicetonas, ou como aldeídos no C6, na sequência originando ácidos carboxílicos (Łojewski et al., 2010). A introdução de tais grupos aumenta a labilidade das ligações acetal 1→4 e 1→5 em virtude de mudanças na distribuição de densidade eletrônica, diminuindo a estabilidade da ligação glicosídica (1→4) entre glicoses vizinhas na celulose (Ivanov et al., 1961).



**Figura 2.5** Representação da estrutura química da celulose, evidenciando a sua unidade repetitiva e as suas terminações não-redutora e redutora, seguida pela estrutura de alguns produtos de degradação oriundos de reações de hidrólise ácida (alaranjado) e oxidação (azul) da celulose. A terminação redutora da celulose é aquela com potencial para se transformar em um grupo aldeído se o anel glicopiranose se abrir. Várias reações bioquímicas e químicas, inclusive a pirólise, iniciam-se nessa terminação (Matsuoka et al., 2011). Alguns carbonos estão numerados na estrutura para a identificação das funcionalidades potencialmente formadas durante o envelhecimento.

Mesmo que a hidrólise e a oxidação possam ocorrer independentemente (Matsuo et al., 2011; Vitale & Erhardt, 1993), elas usualmente configuram mecanismos de deterioração retroalimentados, exercendo um efeito catalítico/retroalimentado entre si. Grupos ácido carboxílico formados na oxidação podem catalisar a hidrólise ácida enquanto a formação de água como coproduto na oxidação (Łojewski et al., 2010) coopera para a ocorrência da

hidrólise, funcionando como meio/substrato. Ademais, a despolimerização resultante da hidrólise leva à formação de novas terminações redutoras, muito reativas e adequadas à ocorrência da oxidação da celulose (Łojewski et al., 2010; Matsuoka et al., 2016). Estudos sistemáticos acerca do envelhecimento artificialmente acelerado da celulose confirmam que, em condições de temperatura e umidade relativa elevadas, a hidrólise e a oxidação estão simultaneamente ativas (Łojewski et al., 2010; Małachowska et al., 2020; Matsuo et al., 2011; Vitale & Erhardt, 1993).

Adicionalmente, atribuía-se uma importante contribuição à lignina para justificar a deterioração por oxidação e a formação de produtos de degradação ácidos em materiais celulósicos, como o papel (Dupont et al., 2007; Fellers et al., 1989; Strlič & Kolar, 2005). De fato, este é ainda um paradigma na comunidade dos restauradores de bens culturais baseados em celulose, como documentos e obras de arte: o elevado conteúdo de lignina é apontado como a principal causa do amarelecimento do papel de madeira (papel jornal, por exemplo) devido a mecanismos de oxidação e foto-oxidação (Bukovský, 2000; Figueiredo Junior, 2012).

A lignina, de fato, pode influenciar a deterioração da celulose, haja vista a vulnerabilidade dessa macromolécula aromática à oxidação e à foto-oxidação (Małachowska et al., 2020). Os grupos cromóforos na estrutura da lignina são capazes de absorver a luz, em especial na região do ultravioleta (Sadeghifar & Ragauskas, 2020). A fotodegradação dessas estruturas cromóforas nativas leva à formação de cromóforos secundários (C=C conjugados, *orto-* e *para-*benzoquinonas) (Łojewski et al., 2010), os quais promovem alterações na cor da madeira, por exemplo (Cogulet et al., 2016). Por outro lado, a presença concomitante de hidroxilas fenólicas confere à estrutura da lignina uma marcante capacidade antioxidante. Assim, a lignina também pode aumentar a estabilidade e inibir a oxidação em materiais celulósicos (Vänskä et al., 2016).

Bégin e colaboradores (1998), ao estudarem as propriedades mecânicas e químicas de papel artesanal e comercial envelhecido a 80 °C e 65% de umidade relativa, demonstraram que a lignina não tem impacto negativo na deterioração do material em pH neutro. Mais recentemente, Małachowska et al. (2020) confirmaram este comportamento ao investigarem o envelhecimento de papel com diferentes concentrações de lignina. A acidificação, sobretudo devido à utilização de sulfato de alumínio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>) na preparação da polpa de papel, foi considerada o fator preponderante para a deterioração da celulose. Os autores ainda

concluíram que a presença de alto teor de lignina inibiu a deterioração do papel, devido à presença de polifenóis capazes de consumir radicais. A habilidade antioxidante da lignina se torna ainda mais eficiente em escala nanométrica (Trevisan & Rezende, 2020) e pode ser também explorada para a preservação de materiais celulósicos.

Por fim, é conveniente discutir a estabilidade de materiais nanocelulósicos frente ao envelhecimento. A elevada cristalinidade das nanoceluloses, especialmente dos CNCs, coopera para que esses nanomateriais tenham uma alta resistência à deterioração oxidativa e/ou hidrolítica quando submetidos ao envelhecimento hidrotérmico (Camargos et al., 2016; Völkel et al., 2017). Porém, CNCs e CNFs apresentam estabilidade térmica relativamente baixa, dependendo do seu método de preparo. No caso dos CNCs obtidos por hidrólise com ácido sulfúrico, o início precoce da degradação térmica em aproximadamente 200 °C é atribuído à presença de grupos éster-sulfato (**Figura 2.6A**) (Moon et al., 2011).

Fato similar pode ser observado para CNFs obtidas por oxidação-mediada por TEMPO, em que a presença de grupos carboxilato de sódio acarreta a redução da temperatura de decomposição térmica (T<sub>d</sub>). Em temperaturas superiores a 200 °C, esses grupos de baixa massa molar sofrem descarbonação, isto é, se decompõem liberando CO<sub>2</sub>. Ademais, a oxidação mediada por TEMPO também leva à geração de unidades anidroglucuronato de sódio, termicamente mais instáveis do que as cadeias cristalinas da celulose (Fukuzumi et al., 2010). Essas duas estruturas químicas estão representadas na **Figura 2.6B, C**.



**Figura 2.6** Estrutura química de (A) glicose contendo grupo éster-sulfato, (B) glicose contendo grupo carboxilato de sódio no átomo C6 e (C) unidade anidroglucuronato de sódio. Esses compostos estão presentes em (A) celuloses hidrolisadas com ácido sulfúrico e (B, C) celuloses oxidadas por TEMPO.

Além disso, diversos autores já reportaram que a secagem em estufa, por exemplo, a 105 °C, pode acarretar alterações de cor em amostras de CNFs (A. Isogai & Saito, 2015; S. P. Mishra et al., 2012; Nechyporchuk et al., 2016; Otoni et al., 2019; Takaichi et al., 2014; Xia et al., 2018). Takaichi e colaboradores (2014) atribuíram o amarelecimento à formação de cetonas em C2 e C3, enquanto outros autores o atribuíram à presença de aldeídos não convertidos em C6 da celulose, como mostrado anteriormente na **Figura 2.5** (S. P. Mishra et al., 2012; Xia et al., 2018).

A longo prazo ou sob condições térmicas adversas, a falta de resistência ao envelhecimento e à deterioração pode ser prejudicial, uma vez que potencialmente impede a utilização satisfatória das CNFs oxidadas por TEMPO. Inúmeras aplicações exigem que produtos transparentes baseados em CNFs resistam a condições severas sem sofrer descoloração ou decompor-se termicamente (Zhu et al., 2014). Por exemplo, em aparatos eletrônicos que precisam passar por tratamento térmico sem se degradar ou mudar de cor (Xia et al., 2018) e em revestimentos protetivos para obras de arte, os quais devem ser estáveis, duráveis e manter sua cor com o passar do tempo. Estratégias para incrementar a estabilidade térmica e a resistência ao envelhecimento desse tipo de CNFs serão discutidas oportunamente neste capítulo, assim viabilizando a sua utilização em nanocompósitos e revestimentos,

### 2.2 Experimental

### 2.2.1 Materiais

Para preparar filmes monocomponentes ou nanocompósitos, utilizaram-se as seguintes nanoestruturas advindas do capim elefante:

TO-CNFs, isto é, CNFs produzidas através da oxidação mediada por TEMPO seguida pela sonicação de folhas e colmos pré-tratados (substratos ricos em celulose);

AH-CNCs, isto é, CNCs produzidas através da hidrólise ácida de folhas pré-tratadas;

SA-LNPs, isto é, LNPs produzidas através da adição de água como anti-solvente a uma solução de lignina previamente extraída de folhas.

Abaixo está elencado um guia para as descrições experimentais concernentes à produção desses nanomateriais, apresentadas nos capítulos 4, **Obtenção de nanofibrilas e nanocristais de celulose por diferentes rotas**, e 5, **Obtenção de nanopartículas de lignina por diferentes rotas**.

- Pré-tratamento para a obtenção de um sólido rico em celulose: seção 4.2.1, p. 120;
- Extração de lignina: *seção 5.2.1*, p. 150;
- Produção de AH-CNCs: seção 4.2.2, p. 121;
- Produção de TO-CNFs: seção 4.2.2, p. 122;
- Produção de SA-LNPs: *seção 5.2.4*, p. 153.

#### 2.2.2 Pós-tratamento de celulose oxidada por TEMPO

Quando necessário, o substrato rico em celulose oxidado por TEMPO foi póstratado sequencialmente com base e ácido, adaptando-se procedimentos reportados na literatura (Fukuzumi et al., 2010; Lavoine et al., 2016). Para remover pequenas unidades de glucuronato de sódio, a polpa aquosa de celulose oxidada (~1% m/v, 100 ml) reagiu com NaOH (1 mol l<sup>-1</sup>, 100 ml) a aproximadamente 100 °C, em um banho de silicone, sob agitação magnética constante (400 rpm) por 150 min. Depois, para converter grupos carboxilato de sódio em grupos carboxílicos livres, a polpa foi tratada com HCl (0,1 mol l<sup>-1</sup>, 100 ml) à temperatura ambiente, sob agitação magnética constante por 120 min. Após cada etapa a polpa foi lavada cinco vezes com água deionizada *via* centrifugação a 3500 rpm (3575 x g) por 10 min. Neste trabalho, as TO-CNFs obtidas por sonicação após esse pós-tratamento foram denominadas TO-CNFs pós-tratadas e os filmes obtidos com essas nanofibrilas, CNF pós-tratamento.

### 2.2.3 Preparo dos nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina

Filmes autossustentados contendo de 0 a 25% (m/m) de SA-LNPs e 75 a 100% (m/m) de nanocelulose, em massa seca, foram formulados de acordo com a **Tabela 2.1**. Nos nanocompósitos, a proporção em massa entre o conteúdo de TO-CNFs e AH-CNCs foi sempre de aproximadamente 2:1.

Tabela 2.1 Formulação de filmes monocomponentes e nanocompósitos.						
Filmo	TO-CNFs	AH-CNCs	SA-LNPs			
	%(m/m)	%(m/m)	%(m/m)			
CNF	100	0	0			
CNC	0	100	0			
CNF/CNC	66	34	0			
CNF/CNC/LNP1	65	34	1			
CNF/CNC/LNP5	60	35	5			
CNF/CNC/LNP10	60	30	10			
CNF/CNC/LNP25	50	25	25			

TO-CNFs em dispersões aquosas foram previamente combinadas na proporção de 2:1 para nanofibrilas de folhas/colmos (a justificativa para esse procedimento será apresentada no capítulo 4, *item 4.3.4*, p. 141). Em resumo, com esta combinação as propriedades mecânicas de tração de filmes de TO-CNFs foram aprimoradas. Sequencialmente, dispersões-estoque de cada componente (TO-CNFs, AH-CNCs e SA-LNPs) foram misturadas entre si e adicionou-se água deionizada suficiente para manter o volume (16 ml) e a concentração (4 mg ml<sup>-1</sup>) finais da mistura fixos. As mesmas quantidades foram utilizadas no caso de filmes monocomponentes (CNF e CNC), incluindo aqueles feitos com nanoceluloses comerciais (AH-CNCs de polpa kraft branqueada, comercializados sob o nome CelluForce NCC®, produzidos pela CelluForce Inc., Montreal, Canadá, e TO-CNFs de polpa de madeira, comercializadas sob o nome UPM Biofibrils™ pela UPM, Helsinki, Finlândia). As nanoceluloses comerciais CelluForce NCC® e UPM Biofibrils™ foram utilizadas para a efetivação de comparações e possuem as seguintes especificações, respectivamente: comprimentos médios de 44–108 nm e 0,5–10 µm, diâmetros médios de 2,3–4,5 nm e 4–10 nm. As misturas de dispersões aquosas foram homogeneizadas por 2 min em um sonicador de ponteira (Eco-Sonics QR550, Indaiatuba, Brasil) operando a 40% de amplitude, 220 watts de potência, utilizando-se uma macro ponta de titânio com 13 mm de diâmetro. A seguir, os sistemas foram submetidos à evaporação de solvente (*casting*) em placas de Petri de poliestireno com área de fundo de 64 cm<sup>2</sup>. Os filmes estavam secos e prontos para serem removidos das placas após 72 h de secagem a 25 °C e 50% de umidade relativa (RH). Com uma massa seca de cerca de 64 mg, tais filmes apresentaram uma razão massa/área de 1 mg cm<sup>-2</sup> em média e espessura média variando de 12 a 15 µm, conforme a **Tabela A1 (Apêndice A**).

### 2.2.4 Envelhecimento artificial acelerado dos nanocompósitos

Filmes monocomponentes e nanocompósitos selecionados foram submetidos a envelhecimento artificialmente acelerado dentro de frascos de vidro hermeticamente selados posicionados no interior de uma estufa a 40 ou 80 °C por 168 h, de acordo com o esquema na **Figura 2.7**. Cada filme foi envelhecido em uma condição apenas, utilizando-se pelo menos seis replicatas por amostra.



**Figura 2.7** Esquema do aparato experimental utilizado no ensaio de envelhecimento artificial de filmes monocomponentes e nanocompósitos. As amostras de filmes foram recortadas em formato retangular, acomodadas sobre suportes planos de teflon e colocadas no interior de frascos herméticos fechados. Para ajustar a umidade relativa no interior de cada frasco, utilizaram-se distintas soluções de glicerol ou cloreto de cálcio sólido. Os sistemas foram então submetidos a aquecimento em estufa a 40 ou 80 °C.

A umidade relativa no interior de cada frasco variou de uma condição seca (~0%), com o uso de cloreto de cálcio sólido, a condições de umidade relativa crescente, utilizando-se soluções aquosas com concentração variável de glicerol: 94% (m/m) para RH de 25%; 80% (m/m) para RH de 50%; 58% (m/m) para RH de 75% (Forney & Brandl, 1992). O ajuste de RH foi confirmado com um termo-higrômetro.

#### 2.2.5 Caracterização dos filmes nanocompósitos

**Medida da espessura média:** foi realizada em pelo menos 10 regiões aleatórias das amostras de filmes monocomponentes e nanocompósitos, em triplicata, utilizando-se um micrômetro Mitutoyo (Kanagawa, Japão) com um erro de leitura 0.001 mm (1 μm).

**Espectroscopia por refletância difusa (DRS)**: foi conduzida nos filmes utilizando-se um espectrofotômetro DRS UV-2450 Shimadzu (Quioto, Japão) operando em modo de transmitância. Os espectros de DRS foram obtidos na faixa de 200–800 nm, com uma resolução espectral de 0,5 nm.

**Análise de parâmetros colorimétricos no espaço de cor CIEL\*a\*b\*:** as coordenadas colorimétricas foram mensuradas em filmes envelhecidos e não envelhecidos com um espectrofotômetro portátil X-RITE SP60 VIS (Grand Rapids, MI, EUA) imbuído de esfera de integração, empregando iluminante padrão D65 e observador padrão 10°. A diferença de cor (ΔE) entre amostras não envelhecidas e envelhecidas foi calculada conforme a Equação 2.1:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$
(2.1)

em que  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^* e \Delta b^*$  correspondem às variações, respectivamente, na coordenada da iluminação (L\*, +claro/–escuro), no componente vermelho/verde (a\*, +avermelhado/ –esverdeado) e no componente amarelo/azul (b\*, +amarelado/–azulado). O critério de tolerância aceito aqui indica que, se  $\Delta E < 3,5$ , a diferença de cor medida é inferior ao limiar de percepção/detecção pelo olho humano e, em geral, não se percebe diferença de cor significativa entre duas amostras; se  $3,5 < \Delta E < 5$ , um observador percebe diferença de cor significativa entre duas amostras; e se  $\Delta E > 5$ , o observador percebe duas cores distintas (Mokrzycki & Tatol, 2011). As medidas colorimétricas, realizadas em pelo menos seis replicatas por amostra, foram feitas sobre a superfície de um suporte homogeneamente branco cujos parâmetros colorimétricos foram medidos como: L\* = 92,5  $\pm$  0,1; a\* = 1,3  $\pm$  0,1; b\* = - 6,2  $\pm$  0,4.

Análise termogravimétrica (TGA): curvas de TGA e de termogravimetria derivada (DTG) dos filmes foram obtidas em equipamento de análise térmica SDT Q600 (TA Instruments, New Castle, DE, EUA). Os filmes foram finamente cortados com uma tesoura, ~3 mg foram colocados em um cadinho limpo e então aquecidos sob fluxo de nitrogênio da temperatura ambiente até 800 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>. Por convenção, os termogramas foram corrigidos de modo que a perda de massa em temperaturas inferiores a 100 °C fosse desconsiderada (Lavoine et al., 2016). Definiram-se a temperatura de decomposição térmica (Td) como a temperatura inicial de decomposição, na qual a massa diminuiu em 5% na curva de TGA, e a temperatura máxima de decomposição (DTG<sub>peak</sub>) como a temperatura nos picos máximos da curva de DTG.

**Calorimetria diferencial exploratória (DSC):** curvas de DSC dos filmes foram obtidas em um equipamento DSC Q100 (TA Instruments). As amostras foram cortadas com uma tesoura, ~5 mg foram colocados em um cadinho novo, aquecidos sob fluxo de nitrogênio da temperatura ambiente (25 °C) até 200 °C e então resfriados até a temperatura ambiente com uma taxa de 10 °C min<sup>-1</sup>. Especificamente para a amostra contendo 10% (m/m) de SA-LNPs (filme CNF/CNC/LNP10), realizou-se um segundo ensaio compreendendo um primeiro aquecimento até 200 °C a uma taxa de 10 °C min<sup>-1</sup>, seguido pelo resfriamento até 0 °C a uma taxa de 5 °C min<sup>-1</sup> e um segundo aquecimento até 200 °C novamente a uma taxa de 10 °C min<sup>-1</sup>.

Medida do grau de polimerização viscosimétrico (DP<sub>v</sub>): o cálculo do DP<sub>v</sub> dos filmes foi executado a partir de medidas padronizadas de viscosidade intrínseca ( $\eta$ ) realizadas com o emprego de viscosímetros Cannon-Fenske e um banho de água termostatizado a 25 ± 1 °C (ISO 5351, 2010). No ensaio, 40 mg de amostras secas foram dissolvidas em 20 ml de etilenodiamina de cobre (II) (CED) 0,5 mol l<sup>-1</sup> à temperatura ambiente por 12 h, adaptando-se uma referência prévia utilizada para o ensaio de CNFs (Shinoda et al., 2012).  $\eta$  foi medida para duplicatas reais, a partir de medições de tempo feitas com um cronômetro em triplicata. A relação entre DP<sub>v</sub> e  $\eta$  foi calculada considerando as **Equações 2.2** e **2.3** (Henriksson et al., 2008):

$$\eta = 0.42 \times DP_{v}, \text{ quando } DP_{v} < 950$$
 (2.2)

$$\eta = 2,28 \times DP_v^{0,76}$$
, quando  $DP_v > 950$  (2.3)

**Cálculo do índice de cristalinidade (CrI):** foi realizado a partir de difratogramas de raios-X obtidos para os filmes em um difratômetro Shimadzu XRD-6000 operando com radiação CuKα gerada a 40 kV e 30 mA, na faixa angular 2θ de 5° a 50°, com uma velocidade de varredura de 2° min<sup>-1</sup>. CrI foi calculado conforme o método da altura relativa dos picos, expresso na **Equação 2.4**:

$$CrI = \frac{(I_{200} - I_{am})}{I_{200}}$$
(2.4)

em que  $I_{002}$  corresponde ao pico da celulose cristalina (200) (French, 2014) e  $I_{am}$  corresponde à contribuição do halo amorfo (Segal et al., 1959).

**Avaliação da atividade antioxidante**: foi executada através do método colorimétrico de supressão do radical 2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazin-1-il (DPPH), adaptando-se procedimentos reportados previamente (C. M. Noronha et al., 2014; Pan et al., 2006; Trevisan & Rezende, 2020). As amostras na forma de filmes (~1 mg) foram embebidas em 1 ml de dioxano 90% (v/v) no interior de uma cubeta de quartzo por 3 h. Os filmes permaneceram íntegros ao longo de todo o ensaio. Depois, sob proteção da incidência de luz, 2 ml de uma solução recém-preparada de DPPH• 65 µmol l<sup>-1</sup> em metanol foram adicionados na mesma cubeta. A concentração de DPPH• nos sistemas foi monitorada imediatamente no início do ensaio (0 min), após 16 e 30 min, utilizando-se a intensidade de absorção da banda em 515 nm, medida em um espectrofotômetro UV-Vis Agilent Cary 50 Probe Varian® (Santa Clara, CA, USA). A porcentagem de atividade de supressão do radical DPPH foi avaliada conforme a **Equação 2.5**:

%Supressão de DPPH• = 
$$\frac{(Abs referência) - (Abs amostra)}{Abs referência} x100$$
 (2.5)

em que *Abs referência* corresponde à absorbância relativa em 515 nm ( $\lambda_{máx}$ ) após 0, 16 e 30 min para os sistemas contendo apenas DPPH• em metanol/dioxano, e *Abs amostra* é a absorbância de cada amostra no respectivo tempo de análise. As medidas foram realizadas em duplicatas, à temperatura ambiente. Por comparação, o mesmo procedimento foi repetido substituindo-se os solventes por etanol.

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR): foi empregada para analisar o perfil químico do substrato rico em celulose e dos filmes monocomponentes CNF (contendo TO-CNFs ou TO-CNFs pós-tratadas). Os espectros de FTIR em modo de refletância total atenuada (ATR-FTIR) foram obtidos em um espectrômetro FTIR Agilent Cary 630 com uma resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup> e 128 varreduras por corrida. Adicionalmente, empregou-se o mapeamento bidimensional FTIR (micro-FTIR) em um microscópio FTIR Agilent Cary 620-670 equipado com um detector de matriz de plano focal de 128×128, em modo de refletância, com resolução espacial no imageamento de ~5,5 µm, isto é, cada pixel equivale a uma área de 5,5 µm x 5,5 µm e corresponde a um espectro FTIR inteiro. Essa análise foi conduzida com a mesma resolução espectral empregada na análise de ATR-FTIR.

Sempre que referenciado, os resultados e dados reportados nesta tese foram analisados estatisticamente através do teste t de Student aplicado para a comparação de duas médias. Assim, quando destacada, a significância da diferença entre resultados obtidos para duas amostras distintas foi avaliada com um nível de confiança de 95%.

### 2.3 Resultados e discussão

# 2.3.1 Transparência, fotoabsorção UV e características colorimétricas dos filmes

Filmes de nanocelulose ou nanocelulose/nanolignina foram preparados por evaporação de solvente (*casting*), utilizando-se dispersões aquosas contendo as nanoestruturas de interesse. Nos nanocompósitos, a combinação de TO-CNFs, AH-CNCs e SA-LNPs se respaldou na compatibilidade natural e intrínseca que existe entre a celulose e a lignina, inclusive na escala nanométrica (Glasser, 2019).

A morfologia, dimensões e propriedades físico-químicas específicas das nanopartículas serão abordadas oportunamente nos capítulos 4 e 5 desta tese. No entanto, para sustentar as discussões concernentes à estruturação dos nanocompósitos desenvolvidos, micrografias eletrônicas exibindo a morfologia dos sistemas nanométricos podem ser visualizadas na **Figura 2.8J–M**.

Nos filmes, de modo geral, as nanofibrilas se emaranham aleatoriamente, formando redes e estabelecendo fortes interações intermoleculares entre si, incluindo ligações de hidrogênio. Assim, são formadas estruturas isotrópicas bidimensionais, que são os próprios filmes (Garusinghe et al., 2018; Henriksson et al., 2008). Nos filmes nanocompósitos, por sua vez, a existência de nanocomponentes com diferentes morfologias, funcionalidades e dimensões pode ter cooperado ainda mais expressivamente para o entrelaçamento físico e o estabelecimento de interações intermoleculares entre as nanoestruturas.

Os filmes apresentaram diferentes colorações, a depender da concentração de nanolignina presente em cada um deles. Filmes monocomponentes (inclusive de CNC e CNF comerciais), assim como filmes contendo 0 e 1% (m/m) de nanolignina mostraram-se visualmente incolores (Figura 2.8A–F). Espectros de DRS mostrados nas Figuras 2.9 e A1 (Apêndice A) também evidenciaram que esses filmes possuem elevada transparência na região do visível, com transmitância relativa em 600 nm entre 80 e 90% (Tabela 2.2). Por sua vez, os filmes contendo mais de 5% (m/m) de SA-LNPs exibiram coloração amarronzada. Os nanocompósitos CNF/CNC/LNP5 e CNF/CNC/LNP10 apresentaram tonalidade clara, enquanto o nanocompósito CNF/CNC/LNP25 apresentou tonalidade marrom alaranjado bastante intensa





**Figura 2.8** Fotografias sob luz visível dos filmes (A–D) monocomponentes e (E–I) nanocompósitos, mostrando sua transparência e cor. (J–M) Micrografias inseridas em círculos evidenciam a morfologia das nanoestruturas que compõem os filmes fotografados: TEM de (J, K) TO-CNFs e (L) AH-CNCs e SEM de (M) SA-LNPs.

Adicionalmente à redução da transmitância relativa na faixa de 400–800 nm, o gradual aumento do conteúdo de SA-LNPs de 1 a 25% (m/m) proporcionou crescente

fotoabsorbância na faixa de 200–400 nm (**Tabela 2.2**). Similar dependência da transmitância óptica em relação à concentração já foi reportada para filmes de CNFs contendo lignina coloidal (Farooq et al., 2019). Como já mencionado, a lignina possui grupos cromóforos em sua estrutura, os quais são capazes de absorver a radiação luminosa (na região do visível e, em especial, UV). Essa característica a torna um material promissor para aplicações em diversos tipos de bloqueadores de radiação UV (Sadeghifar & Ragauskas, 2020).



**Figura 2.9** Espectros de DRS mostrando a transmitância em função do comprimento de onda na faixa de 200–800 nm para os filmes autossustentados monocomponentes e nanocompósitos.

CNF/CNC/LNP1 e CNF/CNC/LNP5 apresentaram similar fotoabsorbância UV, por isso, apenas o nanocompósito contendo 1% (m/m) de nanolignina, sendo incolor e mais transparente, foi selecionado para prosseguir nos estudos. Por outro lado, CNF/CNC/LNP10 e CNF/CNC/LNP25 apresentaram as maiores e mais amplas fotoabsorbâncias UV. Nesses casos, a transmitância relativa chegou a 0% nas faixas da radiação UVA (320–400 nm), UVB (280–320 nm) e UVC (200–280 nm) (Maverakis et al., 2010). Como a diferença na redução da transmitância não foi tão significativa quanto o aumento da opacidade e da intensidade da cor quando a concentração de nanolignina aumentou de 10 para 25% (m/m), o nanocompósito contendo menos SA-LNPs foi escolhido para as investigações ulteriores.

Filme —	Transmitância/%				
	600 nm	400 nm	320 nm	280 nm	200 nm
CNF	89	86	82	75	35
CNC	91	86	77	67	24
CNF/CNC	90	89	83	73	33
CNF/CNC/LNP1	86	72	45	31	2
CNF/CNC/LNP5	82	66	38	24	1
CNF/CNC/LNP10	79	35	3	1	0
CNF/CNC/LNP25	70	16	0	0	0

**Tabela 2.2** Transmitância dos filmes monocomponentes e nanocompósitos em diferentes comprimentos de onda: 600, 400, 320, 280 e 200 nm.

Ademais, filmes monocomponentes (CNF e CNC), nanocompósitos CNF/CNC e CNF/CNC/LNP1 apresentaram parâmetros colorimétricos similares (**Figuras 2.10** e **A2**, **Apêndice A**). Análises colorimétricas no espaço de cor CIEL\*a\*b\* evidenciaram uma maior contribuição positiva em b\* (amarelo) para o filme CNC, em virtude da presença de lignina residual nos AH-CNCs. Essa contribuição também foi observada para o filme CNF/CNC/LNP1, devido à presença de AH-CNCs e pequena quantidade de SA-LNPs.





De modo diferente, a incorporação de 10% (m/m) de nanolignina alterou significativamente a colorimetria dos filmes baseados em nanocelulose. Verificaram-se

reduções significativas no componente L\* (luminosidade), assim como incremento na contribuição positiva da coordenada b\*. Ou seja, a maior quantidade de SA-LNPs tornou os nanocompósitos mais escuros e amarelados. Essas características colorimétricas devem ser levadas em conta no momento da aplicação desses sistemas, por exemplo, em revestimentos protetivos.

## 2.3.2 Efeito sinérgico da temperatura e da umidade relativa na deterioração colorimétrica dos filmes

Avaliou-se o comportamento dos filmes de nanoceluloses e nanolignina submetidos ao envelhecimento artificialmente acelerado sob diversas condições hidrotérmicas. A princípio, considerou-se a estabilidade colorimétrica de tais sistemas.

Mudanças colorimétricas foram examinadas como evidências fenomenológicas da deterioração da celulose (Vitale & Erhardt, 1993). Não foram observadas mudanças significativas no aspecto visual (**Figuras 2.11A,B** e **A3**, Apêndice A) ou nos parâmetros colorimétricos L\*a\*b\* de nenhum dos filmes envelhecidos a 40 °C por 168 h (**Figura A4**, **Apêndice A**). Por causa disso, como mostrado na **Figura 2.11C**, o envelhecimento seco (~0 e 25% RH) ou úmido (50% e 75% RH) a uma temperatura amena proporcionou uma diferença de cor ( $\Delta$ E) menor do que o limite de tolerância de 3,5 para todas as amostras analisadas. Comportamento equivalente foi observado para filmes preparados com TO-CNFs e AH-CNCs comerciais (**Figura A5A**, **Apêndice A**). Ainda, conforme indicado na **Figura 2.11D**, em condição muito seca (~0% RH) a  $\Delta$ E permaneceu dentro do limite de tolerância de 3,5 para todas os filmes de nanocelulose envelhecidos a 80 °C. Ademais, também não se observou diferença de cor significativa para os filmes envelhecidos com umidade relativa baixa (25%), exceto no caso dos filmes CNF e CNF/CNC.

À temperatura de 80 °C, o incremento da umidade relativa acarretou um aumento progressivo na variação dos parâmetros colorimétricos, especialmente L\* e b\* (Figura A6, Apêndice A). Dessa forma, os filmes apresentaram ΔE significativo após o envelhecimento hidrotérmico (Figura 2.11D). Excetuando-se as amostras de filme CNC (inclusive comercial, Figura A5B, Apêndice A), ΔE foi maior do que 5 para todos os filmes envelhecidos por 168 h a 80 °C sob umidades relativas de 50 ou 75%. Valores nominais de ΔE tão elevados indicam que

cores diferentes foram percebidas (Mokrzycki & Tatol, 2011) comparando-se as amostras antes e após o envelhecimento artificial nas condições descritas. Essas alterações colorimétricas foram visualmente traduzidas em escurecimento e amarelecimento, i.e., os filmes constituídos exclusivamente por TO-CNFs (inclusive a amostra comercial) e os filmes nanocompósitos se tornaram amarronzados. Foi notável a contribuição sinérgica da temperatura e da umidade relativa elevadas para a deterioração dos nanomateriais estudados. A existência de água em excesso, além de funcionar como um plastificante para os filmes, provavelmente cooperou para a difusão de oxigênio nas amostras, favorecendo também a oxidação – acelerada a temperaturas severas.





Não obstante a diferença de cor generalizada entre as amostras estudadas, os parâmetros colorimétricos dos filmes contendo 10% (m/m) de SA-LNPs passaram pelas menores mudanças relativas considerando a coloração inicial. Para o nanocompósito CNF/CNC/LNP10, o valor de L\* diminuiu de  $87 \pm 3$  para  $81 \pm 4$ , enquanto b\* aumentou de  $12 \pm 5$  para  $18 \pm 7$ . O filme monocomponente CNF, por sua vez, sofreu grandes mudanças: L\* reduziu de 90,7 ± 0,7 para 80 ± 3, ao passo que b\* aumentou de  $- 6 \pm 1$  para  $17 \pm 3$ . Assim, os parâmetros L\* e b\* se tornaram similares para as amostras CNF and CNF/CNC/LNP10, independentemente de suas cores iniciais. A marcante contribuição da nanolignina ao minimizar as mudanças colorimétricas em nanocompósitos baseados em TO-CNFs também foi confirmada pelos menores valores de  $\Delta$ E medidos para sistemas binários contendo apenas TO-CNFs comerciais e SA-LNPs ou ainda AH-CNCs comerciais e SA-LNPs (**Figura A7, Apêndice A**).

Além da coloração inicial dos filmes e nanocompósitos, variações de cor ao longo do tempo sob exposição ambiental devem ser consideradas em aplicações diversas e potencialmente duradouras, por exemplo, em equipamentos eletrônicos e revestimentos protetivos. Nesse último caso, ainda que a aplicação de CNF/CNC/LNP10 como revestimento possa implicar em alteração da cor original do substrato revestido, a coloração adquirida provavelmente se manteria estável e resistiria adequadamente ao envelhecimento. Ao contrário, um revestimento unicamente composto por TO-CNFs provavelmente não implicaria em alteração da coloração original do substrato revestido logo após a aplicação, mas poderia enfrentar grandes mudanças colorimétricas com o passar do tempo, especialmente em condições de umidade relativa e temperatura elevadas. Discussões pertinentes serão realizadas e embasadas em resultados no capítulo 3.

Para todos os efeitos, as análises colorimétricas evidenciaram que temperatura e umidade relativa elevadas cooperaram simultaneamente para incrementar os efeitos da deterioração da celulose, principalmente durante o chamado envelhecimento severo por calor úmido (*moist-heat aging*, 80 °C e 75% RH). Ademais, verificou-se uma contribuição determinante da presença de nanolignina para mitigar a mudança de cor dos filmes nanocompósitos submetidos ao envelhecimento. Na seção a seguir, consideraram-se também a estabilidade térmica e química dos sistemas monocomponentes e nanocompósitos contendo ou não SA-LNPs.

# 2.3.3 Efeito da incorporação de nanolignina na estabilidade térmica e química dos filmes

Na **Figura 2.12A**, curvas de TGA mostraram que a oxidação por TEMPO reduziu a temperatura de decomposição térmica (T<sub>d</sub>) da celulose de 286 °C no substrato rico em celulose (o material de partida para a produção de TO-CNFs e AH-CNCs) para 217 °C no filme constituído exclusivamente por TO-CNFs. Decréscimo similar foi também observado para o filme de CNF comercial (**Figura A8B**, **Apêndice A**). Além disso, a curva de DTG para o filme CNF apresentou dois picos centrados em 243 °C e 309 °C, sendo mais larga do que a do substrato celulósico e a do filme CNC (**Figuras 2.12B**). Nesses últimos casos, as curvas DTG apresentaram um pico único. Para o sólido rico em celulose, DTG<sub>peak</sub> centrou-se em aproximadamente 358 °C e para CNC, em 302 °C.



**Figura 2.12** Curvas de (A) TGA e (B) DTG correspondente para as amostras de substrato rico em celulose e filmes monocomponentes CNF e CNC. Em (A) estão indicas as T<sub>d</sub> e em (B) as temperaturas de perda de massa máxima (DTG<sub>peak</sub>) para as amostras.

No sólido celulósico e nos AH-CNCs, o principal evento de decomposição térmica está relacionado à degradação da celulose cristalina, por isso ocorreu de modo prioritário a temperaturas mais elevadas. Porém, comparativamente, a T<sub>d</sub> de 274 °C e o menor DTG<sub>peak</sub> do filme de CNCs (302°C), em oposição à T<sub>d</sub> de 286 °C e DTG<sub>peak</sub> de 358 °C no substrato rico em celulose, são atribuíveis à presença de grupos substituintes éster-sulfato (**Figura 2.6A**), os quais tornam a celulose nos nanocristais termicamente menos estável do que a celulose de partida (Moon et al., 2011). Algo similar deve ser pontuado quanto ao primeiro pico na DTG do filme de TO-CNFs, o qual pode ser relacionado à existência de substituintes carboxilato de sódio, cuja estabilidade térmica é menor do que a da celulose prístina (**Figura 2.6B**). Ademais, Fukuzumi et al. (2010) reportaram comportamento térmico parecido ao observado aqui, com a presença de um primeiro pico na DTG a temperaturas mais baixas, atribuindo-o à decomposição de unidades anidroglucuronato de sódio (**Figura 2.6C**) muito sensíveis à temperatura, as quais estão presentes como pequenos resíduos nas TO-CNFs.

Para aumentar a estabilidade térmica das TO-CNFs, o grupo do professor Akira Isogai introduziu protocolos como o pós-tratamento para a oxidação ou a redução adicionais (Shinoda et al., 2012). Ainda, este grupo de pesquisa propôs a condução de um pós-tratamento sequencial utilizando base e ácido para remover as estruturas químicas instáveis da celulose oxidada, antes de proceder à metilação (Fukuzumi et al., 2010) ou à inserção de enxertos poliméricos nas TO-CNFs (Lavoine et al., 2016). Detalhes do pós-tratamento alcalino-ácido serão discutidos na última seção deste capítulo, considerando-se otimizações na estabilidade térmica e, pioneiramente, na estabilidade colorimétrica de sistemas contendo TO-CNFs.

O envelhecimento a 80 °C e 75% RH por 168 h acarretou diferentes efeitos na decomposição térmica dos filmes monocomponentes e nanocompósitos. Na **Tabela 2.3** estão compilados os dados de T<sub>d</sub> e DTG<sub>peak</sub> das amostras envelhecidas e não envelhecidas. O filme CNC (**Figura A8A**, **Apêndice A**), assim como os nanocompósitos contendo AH-CNCs e SA-LNPs apresentaram maior estabilidade térmica do que o filme CNF antes e depois do envelhecimento (**Figura 2.13**). Adicionalmente, nessa última amostra o envelhecimento hidrotérmico severo causou uma diminuição na T<sub>d</sub> de 217 para 205 °C e deslocou os dois picos na DTG para temperaturas mais baixas. Por sua vez, não foram observadas alterações no comportamento térmico do filme monocomponente CNC ou dos nanocompósitos.

Outrossim, foram observadas alterações no grau de polimerização viscosimétrico  $(DP_v)$  de amostras de TO-CNFs envelhecidas, mas não de filmes CNC e nanocompósitos. Como evidenciado na **Figura 2.14**, para o filme monocomponente CNF ocorreu uma diminuição significativa do DP<sub>v</sub> de 198 ± 11 monômeros na amostra não envelhecida para 107 ± 2 na amostra envelhecida. Para os filmes nanocompósitos, os DP<sub>v</sub> são estatisticamente equivalentes ao do filme de CNF não envelhecido. Assim como o DP<sub>v</sub> do filme de AH-CNCs, que também permaneceu constante após o envelhecimento.

**Tabela 2.3** Temperatura inicial de decomposição térmica (T<sub>d</sub>), referente a 5% de perda de massa na curva de TGA, e temperatura de perda de massa máxima (DTG<sub>peak</sub>), obtida no pico da curva de DTG. Medidas realizadas sob fluxo de nitrogênio para filmes não envelhecidos e envelhecidos (80 °C e 75% RH por 168 h).

Filme	T <sub>d</sub> /°C	DTG <sub>peak(1)</sub> /°C	DTG <sub>peak(2)</sub> /°C
CNF	217	243	309
CNF envelhecido	205	229	301
CNC	274	302	-
CNC envelhecido	273	307	-
CNF/CNC	221	246	318
CNF/CNC envelhecido	226	244	317
CNF/CNC/LNP1	224	248	313
CNF/CNC/LNP1 envelhecido	226	248	321
CNF/CNC/LNP10	225	249	316
CNF/CNC/LNP10 envelhecido	230	256	321



**Figura 2.13** Curvas de TGA (eixo esquerdo) e DTG correspondente (eixo direito) para filmes não envelhecidos e envelhecidos: (A) CNF, (B) CNF/CNC, (C) CNF/CNC/LNP1 e (D) CNF/CNC/LNP10.

Reduções no grau de polimerização da celulose são frequentemente reportadas como um resultado do envelhecimento artificial ou natural de materiais celulósicos, como o papel (Dupont et al., 2007; Emsley et al., 1997; Zervos, 2010; X. Zou et al., 1994). O declínio do DP é um efeito imediato da hidrólise e da cisão de cadeias de celulose (Małachowska et al., 2020; Stephens et al., 2008). Esse fenômeno, em geral, ocorre simultaneamente a mudanças de cor e/ou de propriedades físico-químicas, como a cristalinidade.



**Figura 2.14** DP<sub>v</sub> medido para diferentes filmes não envelhecidos e envelhecidos a 80 °C e 75% RH por 168 h. \*\*Indica uma diferença estatisticamente significativa entre as médias, com um nível de confiança de 95%, comparando-se uma mesma amostra não envelhecida e envelhecida.

Análises de XRD mostraram que o envelhecimento artificial acarretou um decréscimo no índice de cristalinidade (CrI) da amostra contendo unicamente TO-CNFs (Figura 2.15A), o qual diminuiu de 75 ± 3% para 66 ± 3% (considerando duplicatas). O CrI do nanocompósito binário CNF/CNC sofreu redução similar (79% para 70%), enquanto a cristalinidade do nanocompósito CNF/CNC/LNP1 diminui pouco (73% para 70%) (Figura A9, Apêndice A). Duas hipóteses principais poderiam justificar esse comportamento observado para os sistemas majoritariamente compostos por nanofibrilas de celulose e estão representados esquematicamente na Figura 2.15C:

(1) Durante o envelhecimento hidrotérmico, processos de hidrólise ácida e oxidação progridem exaustivamente até danificar [ii] os domínios cristalinos de celulose (Stephens et al., 2008), levando à [iv] cisão de cadeias e à redução do DP (como observado previamente para o filme CNF), então acarretando o decréscimo do CrI. (2) Adicionalmente, [v] o surgimento de defeitos nos domínios cristalinos em decorrência do estresse de intumescimento de fibras já danificadas é favorecido sob condições severas de umidade relativa elevada (Mo et al., 2020; Needles & Nowak, 1990).

Por sua vez, o CrI do nanocompósito CNF/CNC/LNP10 aumentou de 63 ± 4% para 71 ± 2% (considerando duplicatas) após o envelhecimento (**Figura 2.15B**). Incrementos na cristalinidade são bastante comuns para amostras de papel (Stephens et al., 2008; X. Zou et al., 1994) e madeira (Lionetto et al., 2012; Tariqur et al., 2000) submetidas à deterioração em condições de temperatura e/ou umidade relativa elevadas. Como mostrado na **Figura 2.15C**, esse comportamento poderia ser explicado por outras duas hipóteses:

(3) A deterioração da celulose, inclusive das [i] TO-CNFs, por mecanismos hidrolíticos e/ou oxidativos se processa prioritariamente nas [iii] regiões amorfas das cadeias celulósicas (Stephens et al., 2008). Essas regiões são também mais suscetíveis à decomposição térmica (Tariqur et al., 2000). Assim, ocorre [vi] a favorável degradação de zonas amorfas nas cadeias celulósicas e/ou frações amorfas nas fibrilas de celulose. No entanto, a degradação de regiões amorfas ocorreria, necessariamente, de modo concomitante à diminuição do DP, o que não foi observado para este nanocompósito. Diferentemente, a degradação e a eliminação de frações/fragmentos amorfos TO-CNFs, presentes nas especialmente unidades anidroglucuronato de sódio termicamente instáveis, também poderiam contribuir para o aumento proporcional da cristalinidade da amostra, sem necessariamente vir acompanhado por diminuições no DP.

(4) Finalmente, [vii] a mobilidade, a reorientação e o rearranjo das cadeias de celulose amorfa sob condições de alta RH e temperatura poderiam promover a sua cristalização, assim aumentando o CrI (Tariqur et al., 2000; Tyufekchiev et al., 2019). Análises de DSC mostraram que a amostra CNF/CNC/LNP10 exibiu um evento térmico exotérmico pouco intenso, mas bem definido em cerca de 88 °C no segundo aquecimento, atribuído à recristalização do material (**Figura A10B**, **Apêndice A**). A temperatura de início do evento térmico foi estabelecida como 81 °C para a amostra não envelhecida, sendo consistente com o aumento de cristalinidade observado para esse filme ao ser envelhecido a 80 °C por 168 h. A recristalização está associada ao fenômeno de reorganização de cadeias poliméricas amorfas de modo a formar uma estrutura cristalina mais estável durante o aquecimento (Furushima et al., 2018). Esse resultado indicou que o aumento na cristalinidade da amostra CNF/CNC/LNP10

pode ter sido uma consequência da eliminação de componentes amorfos e da concomitante recristalização de cadeias celulósicas constituintes do filme.



**Figura 2.15** Difratogramas de raios-X de filmes (A) monocomponente CNF e (B) nanocompósito CNF/CNC/LNP10 antes e após envelhecimento hidrotérmico severo por 168 h. Picos característicos da celulose Iβ indicados em (A) (French, 2014). (C) Representação esquemática de [i] rede de nanofibrilas de celulose com [ii] domínios cristalinos e [iii] regiões amorfas, e os prováveis fenômenos responsáveis por alterar a cristalinidade: [iv] a cisão de cadeias de celulose, inclusive nos domínios amorfos e [v] o estresse severo do intumescimento e o aparecimento de falhas nas regiões cristalinas causam a redução da cristalinidade; [vi] a decomposição de frações amorfas e a cisão de cadeias com a degradação de regiões amorfas e [vii] a cristalização de celulose amorfa acarretam o aumento da cristalinidade.

Como resultados auxiliares, as análises de DSC mostraram também que o evento térmico de liberação de moléculas de água a partir do filme CNF e de todos os nanocompósitos variou de 117 a 122°C no primeiro aquecimento. Ademais, durante o primeiro resfriamento a uma taxa de 5 ou 10 °C min<sup>-1</sup>, os filmes não cristalizaram a partir do fundido (**Figura A10A**, **Apêndice A**).

Ademais, a menor cristalinidade inicial dos filmes CNF/CNC/LNP1 e CNF/CNC/LNP10 pode ser atribuída à presença de nanolignina nessas amostras, haja vista o caráter amorfo desse material (Glasser, 2019). Ainda, o comportamento diferenciado dessas amostras (menor redução do CrI ou incremento do CrI após o envelhecimento) também poderiam ser associados à ação estabilizadora desempenhada pela nanolignina nesses sistemas.

## 2.3.4 Papel da ação antioxidante da nanolignina na mitigação da deterioração dos filmes

Os filmes nanocompósitos contendo nanolignina apresentaram maior estabilidade colorimétrica, térmica e química do que os filmes constituídos exclusivamente por TO-CNFs. A presença de AH-CNCs, mais resistentes quimicamente e termicamente do que as TO-CNFs, certamente contribuiu para o aperfeiçoamento dessas propriedades. No entanto, a presença de nanolignina acarretou uma contribuição ainda mais notável à manutenção da cor (**Figura 2.11**) e à melhoria nas propriedades térmicas (**Tabela 2.3**). Observou-se, inclusive, que as temperaturas de degradação (T<sub>d</sub> e DTG<sub>peak</sub>) foram maiores no nanocompósito CNF/CNC/LNP10 do que no filmes CNF/CNC.

Assim, investigou-se a atividade antioxidante da nanolignina contida nos filmes a fim de se estimar a contribuição dessa propriedade para a estabilidade dos nanocompósitos submetidos ao envelhecimento hidrotérmico severo. Para tal, utilizou-se um ensaio colorimétrico que permitiu a mensuração da capacidade dos filmes de suprimir ou consumir o radical DPPH (2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazin-1-il) em dioxano/metanol (**Figura 2.16**) ou em etanol (**Figura A11**, **Apêndice A**). Este é um ensaio tipicamente utilizado para avaliar a capacidade antioxidante da lignina em solução (Pan et al., 2006), de LNPs em dispersão (Trevisan & Rezende, 2020) e de filmes de derivados de celulose incorporados com agentes

antioxidantes (C. M. Noronha et al., 2014). O radical livre DPPH é bastante estável e apresenta coloração roxa. O consumo do composto por espécies antioxidantes pode ser monitorado em espectrofotômetro UV-Vis, considerando a absorbância máxima em 515 nm ( $\lambda_{máx}$ ).

Verificou-se, ao início da análise, redução da absorbância relativa em  $\lambda_{máx}$ , indicando a supressão instantânea do DPPH• ao entrar em contanto com os nanocompósitos que continham SA-LNPs (**Figura 2.16A**). Nesse momento, a capacidade antioxidante do nanocompósito CNF/CNC/LNP10 foi significativamente maior do que a de CNF/CNC/LNP1 e CNF/CNC, com um nível de confiança de 95% (**Figura 2.16D**). Como reportado na **Tabela 2.4**, após 16 e 30 min do ensaio de contato, o nanocompósito formado unicamente por nanoceluloses continuou a não demonstrar capacidade antioxidante substancial. Por sua vez, para os nanocompósitos contendo 1 e 10% (m/m) de SA-LNPs, a supressão de DPPH• por contato em dioxano/metanol aumentou para até 37%. Em etanol, após 30 min, a supressão de DPPH• extrapolou 40% (**Figura A11**, **Apêndice A**). Esses valores são comparáveis e quiçá superiores aos valores de atividade de supressão de radical DPPH reportados para filmes comestíveis de metilcelulose incorporados com nanocápsulas de  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), conhecida por sua alta capacidade antioxidante. Filmes contendo 30, 50 e 70% (m/m) de  $\alpha$ tocoferol apresentaram capacidade antioxidante em etanol de, aproximadamente, 33%, 42% e 56% respectivamente (C. M. Noronha et al., 2014).

A elevada capacidade antioxidante de SA-LNPs oriundas das folhas de capim elefante já foi reportada antes para nanopartículas em dispersão aquosa (cerca de 80% na concentração de 1 mg ml<sup>-1</sup>) (Trevisan & Rezende, 2020). Aqui, mediu-se a capacidade antioxidante das nanopartículas aprisionadas nos nanocompósitos, sendo imprescindível que se considere que a supressão do radical, a qual é mediada pelo contato, processa-se principalmente na superfície dos filmes. Essa observação pode justificar a ausência de diferença observada para a capacidade antioxidante das amostras CNF/CNC/LNP1 e CNF/CNC/LNP10 em tempos de ensaio superiores a 16 min. Ainda que a análise empregada não evidencie diferença notável entre esses nanocompósitos, as nanopartículas presentes no interior dos filmes contribuem também para a melhoria das propriedades dos sistemas, como estabilidade térmica e colorimétrica, e potencialmente são otimizadas com maiores concentrações de nanolignina – como é o caso da capacidade de absorção UV. Por outro lado, o uso de menores concentrações de nanolignina coopera para a obtenção de filmes incolores e transparentes.

Pequenas quantidades de lignina (1% m/m) são usualmente incorporadas a materiais poliméricos como uma estratégia para estabilizar tais sistemas contra a oxidação térmica e a foto-oxidação, lançando-se mão da capacidade antioxidante dessa macromolécula fenólica (Pouteau et al., 2003). São justamente as hidroxilas fenólicas presentes na estrutura da lignina que, atuando como doadores de prótons, estabilizam radicais por suas estruturas de ressonância e, desse modo, conseguem suprimi-los (Domenek et al., 2013).



**Figura 2.16** Resultados dos ensaios de capacidade antioxidante para os filmes nanocompósitos. Espectros UV-Vis mostrando a variação da intensidade relativa da banda de absorção em ~515 nm após (A) 0 min, (B) 16 min e (C) 30 min de ensaio de supressão do radical DPPH em dioxano/metanol. (D) %Supressão de DPPH• após 0, 16 e 30 min de contato com os filmes nanocompósitos analisados. Em (A–C), referência é o sistema contendo DPPH• em solução, na ausência dos filmes estudados.

Finalmente, no caso dos nanocompósitos contendo nanolignina, o envelhecimento hidrotérmico severo não mudou a boa performance antioxidativa desses filmes. Contudo, após o envelhecimento, a capacidade antioxidante do filme CNF/CNC mudou drástica e significativamente, atingindo até 43% em ensaios de 30 min e superando a ação antioxidante dos filmes contendo 1 e 10% (m/m) de SA-LNPs (**Figura 2.17** e **Tabela A2**, **Apêndice A**).

Fato análogo já foi reportado na literatura (L. Zhang et al., 2017). Em amostras de celulose microcristalina oxidada com periodato de sódio, diferentes conteúdos de aldeídos acarretaram diferentes graus de capacidade antioxidante na supressão de DPPH•. Duas hipóteses embasam as justificativas para a variação da ação antioxidante observada. A presença de dialdeídos diminuem a energia de dissociação das ligações de hidrogênio entre moléculas de celulose, aumentando a habilidade da celulose em doar prótons. Além disso, a modificação química pode ser acompanhada por redução da massa molar do polissacarídeo. A cisão de cadeias leva, proporcionalmente, à existência de mais grupos redutores terminais, capazes de fazerem a acepção e eliminação de radicais livres. De fato, para a amostra monocomponente de TO-CNFs, o envelhecimento acarretou diminuição no DP<sub>v</sub>, indicando a ocorrência de cisão de cadeias celulósicas.



**Figura 2.17** Supressão de radical DPPH pelos filmes nanocompósitos, antes e após o envelhecimento artificial a 80 °C e 75% de RH por 168h, em ensaios de 0, 16 e 30 min em dioxano/metanol. Resultados expressos como a média de duplicatas.

Ainda que o decréscimo no  $DP_v$  do filme CNF/CNC não tenha sido significativo, os produtos da oxidação e da hidrólise das TO-CNFs podem ter cooperado para o incremento da

ação antioxidante nesse filme após o envelhecimento. Assim, o filme sem nanolignina parece ter se deteriorado mais comparativamente aos demais nanocompósitos, especialmente CNF/CNC/LNP10, o qual mostrou capacidade imediata de supressão de DPPH• e sofreu menos os efeitos sinérgicos da deterioração hidrotérmica.

A boa performance antioxidante dos nanocompósitos contendo 1 e 10% (m/m) de nanolignina certamente contribuiu para a maior estabilidade desses filmes sob condições adversas de envelhecimento artificialmente acelerado. As características antioxidantes intrínsecas à lignina a tornam uma aliada natural e barata para a elaboração de produtos imbuídos de estabilidade, sem a necessidade de adição extra de outras espécies antioxidantes sintéticas, como o butil hidroxianisol (BHA), ou naturais, como o ácido ascórbico.

# 2.3.5 Outra estratégia para aumentar a estabilidade colorimétrica e térmica dos filmes contendo nanolignina ou não

As discussões conduzidas até aqui demonstraram a contribuição da incorporação de SA-LNPs para a estabilidade de filmes nanocompósitos submetidos ao envelhecimento hidrotérmico severo. Ao mesmo tempo, a caracterização realizada para filmes monocomponentes de TO-CNFs evidenciaram a susceptibilidade dessas nanoestruturas à deterioração. Como mencionado anteriormente, nanofibrilas oxidadas por TEMPO usualmente contêm unidades anidroglucuronato de sódio e grupos carboxilato de sódio, os quais são termicamente instáveis (Fukuzumi et al., 2009, 2010; Lavoine et al., 2016). Nos espectros de ATR-FTIR, na **Figura 2.18A**, é possível discernir o aumento da banda de absorção em cerca de 1600 cm<sup>-1</sup>, atribuída à inserção dos grupos funcionais carboxilato de sódio na celulose (substrato rico em celulose) após a oxidação mediada por TEMPO (Coseri et al., 2015). A remoção de tais desencadeadores de degradação poderia cooperar para o aumento da estabilidade das TO-CNFs. Estudos anteriores já evidenciaram a contribuição de tal procedimento para melhorias na estabilidade térmica (Fukuzumi et al., 2010; Lavoine et al., 2010; Lavoine et al., 2016), mas aqui avaliou-se também o efeito da remoção desses grupos sobre a estabilidade físico-química e colorimétrica dessas nanoestruturas.



**Figura 2.18** (A) Espectros de ATR-FTIR para o substrato rico em celulose e os filmes CNF (composto por TO-CNFs) e CNF pós-tratamento (composto por TO-CNFs pós-tratadas). A marcação retangular em amarelo indica a banda de absorção em cerca de 1600 cm<sup>-1</sup>, referente ao grupo carboxilato em sua forma de sal de sódio (Coseri et al., 2015). (B) Espectros de FTIR correspondentes a um pixel vermelho e a um pixel azul representativos, coletados por micro-FTIR. A resolução espacial do equipamento é de 5,5 μm, i.e., cada pixel corresponde a uma área amostrada de cerca de 30 μm<sup>2</sup>. (C) Micrografias ópticas (esquerda) capturadas para uma área dos filmes CNF, CNF envelhecido e CNF pós-tratamento, acompanhadas por mapas 2D obtidos pela análise de micro-FTIR para diferentes áreas aleatórias dos mesmos filmes (direita). Barras de escala: 100 μm. Escala de falsa cor: menor intensidade de absorbância da banda integrada (1760–1530 cm<sup>-1</sup>) em azul e maior intensidade em vermelho.

Para retirar as unidades anidroglucuronato presentes como resíduos nas TO-CNFs, realizou-se um pós-tratamento alcalino com NaOH 1 mol l<sup>-1</sup> a uma temperatura elevada (~100 °C). Na sequência, conduziu-se uma etapa ácida com HCl 0,1 mol l<sup>-1</sup> à temperatura ambiente, para converter grupos carboxilato de sódio a grupos ácido carboxílico livres (Fukuzumi et al., 2010). Como mostrado no espectro de ATR-FTIR para o filme CNF pós-tratamento, preparado com TO-CNFs pós-tratadas, verificou-se um decréscimo significativo na intensidade relativa da banda de absorção atribuída aos grupos carboxilato de sódio (**Figura 2.18A**).

Além disso, o mapeamento bidimensional por micro-FTIR (**Figura 2.18B, C**) mostrou uma elevada distribuição espacial desses grupos na superfície dos filmes CNF prístino e envelhecido. Por sua vez, a intensidade da banda integrada (1760 a 1530 cm<sup>-1</sup>) diminuiu substancialmente após o pós-tratamento, indicando um decréscimo generalizado (mas não a extinção) da presença de tais grupos na superfície. Tais mudanças estruturais impactaram nas propriedades de superfície e puderam ser correlacionadas a outras propriedades volumétricas dos nanomateriais por meio da análise térmica e do grau de polimerização das amostras.

As curvas de TGA e DTG confirmaram o aumento da estabilidade térmica do filme CNF como resultado do pós-tratamento (**Figura 2.19**). A curva de DTG mais larga no filme de TO-CNFs, com um DTG<sub>peak</sub> inicial em aproximadamente 243 °C, foi substituída por um pico mais estreito e único no filme de TO-CNFs pós-tratadas, com DTG<sub>peak</sub> centrado em 337 °C. Da mesma forma, os filmes nanocompósitos preparados com essas mesmas TO-CNFs pós-tratadas, adicionando-se AH-CNCs e SA-LNPs, também apresentaram T<sub>d</sub> e DTG<sub>peak</sub> mais elevados do que seus análogos preparados com TO-CNFs contendo unidades anidroglucuronato de sódio e grupos carboxilato de sódio (**Figuras A12**, **Apêndice A**).

Em um estudo ainda sem precedentes, investigou-se também o impacto desse póstratamento na colorimetria de filmes baseados em TO-CNFs. Como pode ser visualizado na **Figura 2.20**, os parâmetros colorimétricos dos filmes preparados com TO-CNFs pós-tratadas foram virtualmente equivalentes àqueles dos filmes monocomponentes e nanocompósitos preparados com TO-CNFs não pós-tratadas (**Figura 2.10**). O DP<sub>v</sub> do filme CNF pós-tratamento foi medido como 291 ± 1 monômeros, superior ao da amostra não tratada (198 ± 11), provavelmente em virtude da remoção de fragmentos de anidroglucuronato de sódio, cuja massa molar é baixa. Ademais, a remoção dos grupos instáveis diminui a ocorrência de reações
de eliminação  $\beta$  e de despolimerização das TO-CNFs quando solubilizadas em CED, fato que poderia contribuir para a mensuração de valores de DP<sub>v</sub> subestimados (Shinoda et al., 2012).



**Figura 2.19** Curva de TGA (eixo esquerdo) e DTG correspondente (eixo direito) para filme monocomponente CNF pós-tratamento, composto por TO-CNFs pós-tratadas.





Por outro lado, quando os novos filmes (pós-tratamento) foram submetidos ao envelhecimento a 80 °C e 75% RH por 24 ou 168 h, tanto a ΔE (**Figura 2.21**) quando as variações nos parâmetros colorimétricos L\*a\*b\* (**Figura A13**, **Apêndice A**) foram desprezíveis. Ou seja,

foram menores do que o critério de tolerância aceito aqui ( $\Delta E < 3,5$ ) e significativamente inferiores às mudanças verificadas anteriormente para os filmes monocomponentes e nanocompósitos preparados com TO-CNFs sem o pós-tratamento. O DP<sub>v</sub> desta amostra também permaneceu constante após o envelhecimento (300 ± 8 monômeros), indicando a ausência de processos significativos de cisão de cadeias. Assim, pode-se concluir que esse póstratamento foi eficiente não apenas para incrementar a estabilidade térmica, como já reportado anteriormente, mas também para aperfeiçoar a estabilidade colorimétrica e estrutural de filmes contendo TO-CNFs.



Figura 2.21 ∆E calculado a partir da variação dos parâmetros colorimétricos dos filmes (sem e com póstratamento das TO-CNFs) após 24h e 168 h de envelhecimento artificial a 80 °C e 75% RH. As linhas pontilhadas delimitam o valor de 3,5 no eixo das ordenadas.

## 2.4 Conclusões

Lançando mão da compatibilidade natural e inerente entre celulose e lignina, filmes nanocompósitos contendo nanoceluloses e nanolignina foram satisfatoriamente preparados. Os filmes transparentes apresentaram crescente capacidade de fotoabsorção na região do UV, em virtude da incorporação de nanolignina.

A presença de nanopartículas de lignina contribuiu para mitigar a falta de estabilidade colorimétrica, térmica e físico-química das nanofibrilas de celulose preparadas via oxidação por TEMPO. Nanocompósitos contendo LNPs resistiram mais às mudanças colorimétricas e estruturais desencadeadas pelos efeitos sinérgicos da temperatura e umidade relativa elevadas, em ensaios de envelhecimento hidrotérmico. Por outro lado, o filme monocomponente de CNFs oxidadas por TEMPO se mostrou mais susceptível à deterioração. Esse sistema sofreu mudanças mais pronunciadas: escureceu e amareleceu significativamente, ao passo que seu grau de polimerização, sua cristalinidade e sua estabilidade térmica decresceram após o envelhecimento artificialmente acelerado à temperatura de 80 °C e umidade relativa de 75% por 168 h.

O incremento da resistência dos nanocompósitos ao envelhecimento foi atribuído à atividade antioxidante das LNPs, comparável à de outros antioxidantes naturais. A incorporação conjunta de nanocristais de celulose – muito cristalinos e, por isso, quimicamente estáveis – também foi benéfica. A incorporação de LNPs é uma estratégia mais simples e ambientalmente recomendável do que outras estratégias utilizadas para aumentar a resistência térmica de CNFs oxidadas por TEMPO, por exemplo, através da sua oxidação ou redução exaustivas, ou ainda através de reações de metilação ou inserção de enxertos poliméricos.

Adicionalmente, o estudo apresentado aqui mostrou que a execução de um póstratamento alcalino-ácido foi efetiva para remover resíduos e grupos funcionais instáveis das CNFs oxidadas por TEMPO. Os filmes preparados com essas nanofibrilas pós-tratadas resistiram mais ao envelhecimento artificial. Esse resultado revelou a notável contribuição desses grupos e unidades residuais não apenas para a instabilidade térmica, como já era conhecido na literatura, mas também para a instabilidade colorimétrica de produtos celulósicos. Desse modo, a incorporação de LNPs e o pós-tratamento são duas alternativas eficazes para propiciar a utilização de CNFs oxidadas por TEMPO em aplicações duradouras, como em revestimentos protetivos. Nesse caso específico, a utilização de TO-CNFs poderia ser inviabilizada devido à sua falta de resistência ao envelhecimento. Um revestimento composto por essas nanoestruturas potencialmente sofreria alterações em sua coloração e integridade química com o passar do tempo ou sob condições severas de temperatura e umidade relativa. Esses inconvenientes e desvantagens foram superados com a utilização das estratégias apresentadas anteriormente.

No capítulo a seguir serão explorados os desdobramentos da aplicação, como revestimentos protetivos para substratos celulósicos, de nanocompósitos constituídos por nanofibrilas pós-tratadas e incorporados com nanocristais de celulose e nanolignina.

# Capítulo 3

# Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina em revestimentos protetivos

CNFs, CNCs e LNPs são nanoestruturas muito adequadas a aplicações como agentes de reforço (Aulin & Ström, 2013; Bilbao-Sainz et al., 2011; Kluge et al., 2017; Okahashi et al., 2021; Vardanyan et al., 2015) ou como componentes majoritários (Cusola et al., 2018; Herrera et al., 2016; Pacaphol & Aht-ong, 2017; Puceković et al., 2015; Tarrés et al., 2016; Zimniewska et al., 2008) em revestimentos multifuncionais. A maior parte dos trabalhos reportados na literatura versa sobre a aplicação separada desses nanomateriais. No entanto, a aplicação combinada de CNCs e lignina já foi proposta para a formação de revestimentos transparentes com capacidade de proteção UV, suportados em substratos de quartzo (Hambardzumyan et al., 2012). Neste capítulo, será introduzida a aplicação combinada de CNFs, CNCs e LNPs em nanocompósitos ternários destinados ao revestimento protetivo de substratos celulósicos, i.e., madeira, papel e tecido.

A princípio serão apresentados brevemente os atributos necessários aos revestimentos protetivos e o estado da arte relativo aos revestimentos utilizados para a proteção de suportes celulósicos. Na sequência, a abordagem teórica se circunscreverá aos revestimentos destinados à proteção de obras de arte baseadas em madeira, papel e tecido, também considerando algumas aplicações correlatas de nanoceluloses e nanolignina. Por fim, serão reportados a parte experimental, os resultados e discussões, bem como as conclusões desta importante vertente do presente trabalho.

# 3.1 Estado da arte

Segundo a norma ISO 4618, revestimentos são definidos como camadas contínuas formadas por uma ou mais aplicações de um material (líquido, pastoso ou em pó) sobre a superfície de um substrato. A aplicação dos revestimentos envolve processos como imersão (*dipping*), pulverização (*spraying*), uso de rolos e pincéis. O filme formado possui propriedades protetivas, decorativas e/ou outras características específicas. A mesma referência ainda distingue tintas e vernizes. Tintas denotam materiais de revestimentos pigmentados, os quais formam filmes opacos quando aplicados em substratos. Vernizes, por sua vez, são materiais de revestimentos transparentes, cuja secagem se processa exclusivamente por oxidação (ISO 4618, 2014). Assim, para evitar equívocos, os materiais discutidos aqui serão, em geral, designados genericamente como revestimentos, especificando-se se são opacos ou transparentes sempre que necessário.

### 3.1.1 Revestimentos protetivos para substratos celulósicos

A exposição da superfície de substratos celulósicos a agentes de deterioração externos, como umidade, temperatura elevada, radiação ultravioleta ou estresse mecânico (Pedersoli Jr. et al., 2016), aumenta a vulnerabilidade e pode acarretar danos a materiais como madeira, papel e tecido. Além de efeitos no aspecto visual ou estético, os danos podem implicar na deterioração material, com a perda da integridade e/ou funcionalidade do objeto em questão. Assim, como ilustrado na **Figura 3.1**, a aplicação de revestimentos protetivos pode ser muito benéfica para aumentar a durabilidade e a vida útil de substratos (Kluge et al., 2017). Além disso, essas camadas superficiais também podem contribuir para a apresentação estética do objeto revestido, acentuando sua cor, conferindo-lhe brilho ou opacidade (Nikolic et al., 2015).

Na literatura, há uma profusão de publicações contemplando a aplicação de revestimentos protetivos em substratos metálicos (Clare & Swartz, 2015) e pétreos (La Russa et al., 2012; Toniolo et al., 2002) sujeitos a intempéries (chuvas, ventos, incidência direta de luz solar etc.). Nesses casos, o revestimento deve atuar como uma camada de passivação e/ou sacrifício, ou seja, ele deve se deteriorar prioritariamente devido aos mecanismos de corrosão,

evitando a deterioração da superfície do substrato revestido. No caso de objetos baseados em celulose, por exemplo, documentos gráficos, peças de mobiliário ou decoração, usualmente resguardados da ação direta de intempéries, o revestimento protetivo deve apresentar resistência ao envelhecimento, à degradação química e às flutuações de temperatura e umidade (Kluge et al., 2017). Assim, além da salvaguarda do substrato revestido, a longevidade do revestimento em si também deve ser levada em conta.



**Figura 3.1** Esquema ilustrativo de alguns dos principais agentes de deterioração externos que podem afetar substratos celulósicos: umidade e temperatura elevadas, incidência de radiação luminosa (especialmente na região do UV) e estresse mecânico (manuseio ou acondicionamento inadequados, atrito entre peças etc.). A aplicação de camadas de revestimento na superfície da madeira, papel ou tecido, utilizando-se técnicas com pincel, spray, imersão ou fiação, pode ser benéfica para a proteção e/ou a apresentação estética de tais substratos. Considerando trabalhos reportados na literatura, a espessura média dos revestimentos pode variar de cerca de 200 nm (Herrera et al., 2016) a 100 μm (Kluge et al., 2017; Vardanyan et al., 2015).

A aplicação desses revestimentos, assim como de outros tratamentos em suportes celulósicos, é usualmente realizada por spray (P. Baglioni & Giorgi, 2006; Crespo & Viñas, 1985) ou com o auxílio de pincel (M. Baglioni et al., 2010; El-Feky et al., 2014; Rastogi & Samyn, 2015; Völkel et al., 2017; Q. Xu et al., 2020). Para que as propriedades do revestimento sejam satisfatoriamente transferidas ao sistema revestido é imprescindível que massa suficiente do material seja aplicada de modo a formar filmes/camadas contínuas na superfície (Rastogi & Samyn, 2015). A espessura dessas camadas varia de acordo com o material de revestimento e a aplicação pleiteada, considerando-se ainda a preservação da microtextura da superfície revestida, como será discutido em breve.

Revestimentos cumprem um papel importante ao aprovisionar funcionalidades e estender a vida útil da superfície de substratos celulósicos. Nesse contexto, o uso de nanopartículas, especialmente as nanoceluloses, é uma estratégia muito vantajosa (Kluge et al., 2017). Mesmo em baixas concentrações, por sua cristalinidade e razão de aspecto, CNCs e CNFs possuem elevada resistência mecânica e capacidade de reforço. As nanoligninas, por sua vez, foram menos exploradas até agora, mas sua capacidade antioxidante, antimicrobiana e de proteção UV também as tornam potenciais candidatas a aplicações em revestimentos.

Nanoceluloses são obtidas de fontes renováveis, diferentemente de polímeros derivados do petróleo, dentre os quais se incluem alguns revestimentos de poliuretano, ceras, vernizes e tintas alquídicas<sup>3</sup> – os quais também são responsáveis pela emissão de diversos compostos orgânicos voláteis (Z. Guo et al., 1998). Ademais, haja vista a sua elevada estabilidade coloidal, os sistemas contendo nanopartículas de celulose são, em geral, baseados em água. A aplicação de resinas naturais, como os terpenóides, e sintéticas, como o Paraloid®B72 (copolímero de etil e metil metacrilato), usualmente requer o uso de compostos orgânicos tóxicos, como a terebintina e solventes aromáticos (Boelsums et al., 2020).

Numa primeira vertente, nanoceluloses podem ser incorporadas e/ou associadas a resinas para aprimorar suas propriedades. Em aplicações em papel destinado a embalagens flexíveis, camadas de CNFs foram combinadas a camadas de resinas alquídicas derivadas de óleo de linhaça ou de petróleo para aumentar as propriedades de barreira ao vapor de água. As camadas de verniz, aplicadas por impressão e formadas por auto-oxidação seguida de polimerização, apresentaram espessura média de 19 µm (Aulin & Ström, 2013). Para aplicações em substratos de madeira (mobiliários), CNFs ou CNCs foram incorporados a um verniz acrílico comercial à base de água. O estudo evidenciou que, no caso específico, a performance dos CNCs foi melhor do que a das CNFs, pois além de fornecer reforço mecânico, os primeiros

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Resinas alquídicas são produzidas através da modificação de um poliéster (resultante da reação de um ácido e um álcool) com a adição de um óleo secante (ácido graxo). A tinta comercial é geralmente composta por um pigmento suspenso em uma solução de resina alquídica e um solvente derivado do petróleo, como o nafta.

preservaram a deformação plástica do verniz. A sorção ao vapor de água do revestimento não foi afetada pela incorporação das nanoceluloses, mas a sua transparência óptica foi reduzida (Kluge et al., 2017).

Similarmente, Vardanyan et al. (2015) incorporaram CNCs (2% m/m) a um verniz de poliuretano acrílico à base de água destinado a aplicações na forma de spray em madeira. Além de não alterar a estabilidade colorimétrica dos vernizes aplicados, a presença de CNCs nas camadas de verniz (espessura: 100 µm) incrementou a resistência ao envelhecimento hidrotérmico e à radiação UV das superfícies revestidas. Isto é, os parâmetros colorimétricos se alteraram menos nas amostras contendo nanopartículas. Os autores afirmaram que esse efeito poderia ser atribuído ao maior espalhamento da radiação UV desempenhado pelos CNCs. Em outros estudos, a incorporação de celulose microcristalina como agente de reforço ao Paraloid®B72, uma resina termoplástica muito utilizada em procedimentos de conservação e restauração de obras de arte, aumentou a estabilidade térmica, o módulo elástico e de armazenamento dos filmes formados (Cataldi et al., 2014a, 2014b).

Em outra abordagem, as nanoestruturas foram aplicadas diretamente, formando a matriz contínua do revestimento. Nanolignina obtida por ultrassonicação foi usada como um revestimento monocomponente em linho destinado a vestuário, conferindo propriedades bactericidas ao tecido (Zimniewska et al., 2008). Ainda, CNFs aplicadas por *spin* ou *dip-coating* na superfície de papel poroso formaram camadas contínuas com espessuras médias de 170 nm a 23 µm, as quais aumentaram as propriedades de barreira ao oxigênio do substrato (Herrera et al., 2016). Outras metodologias baseadas no uso prioritário dessas nanoestruturas serão abordadas na seção a seguir, com destaque aos materiais utilizados para a proteção de substratos celulósicos imbuídos de valor cultural, histórico e/ou artístico.

#### 3.1.2 Nanotecnologias e revestimentos protetivos para obras de arte em suporte celulósico

A Ciência da Conservação é uma disciplina complexa, que combina as Ciências da Natureza (como a Química e a Biologia), as Artes e as Ciências Humanas em prol da preservação do patrimônio tangível – inclusive em suas atribuições intangíveis, isto é, seu valor cultural, histórico e/ou artístico (P. Baglioni et al., 2013). A conservação de objetos e artefatos culturais, assim, consiste em tratar diretamente a materialidade (ou estrutura material) desses bens, sem perder de vista a preservação de sua dimensão histórica e estética (Froner & Souza, 2008; Hölling, 2017).

Protocolos de proteção são conduzidos com o objetivo de prolongar a vida útil dos objetos culturais. Ademais, os tratamentos porventura realizados devem salvaguardar a integridade original da obra de arte: em sua esfera físico-química (material), estética, histórica e informacional (Brandi, 2008; Froner & Souza, 2008). Portanto, a capacidade de prevenir ou retardar processos de deterioração é imprescindível em tais tratamentos, inclusive quando nanoestruturas são utilizadas nessa aplicação.

Há uma extensa literatura contemplando o desenvolvimento e a aplicação de nanopartículas alcalinas destinadas à desacidificação de papel e tecido (P. Baglioni et al., 2012; Giorgi et al., 2002; Poggi et al., 2014), haja vista os malefícios causados pela hidrólise ácida da celulose. Recentemente, Xu et al. (2020) introduziram materiais híbridos de nanopartículas de hidróxido de cálcio e CNCs para simultaneamente desacidificar e consolidar obras de arte em papel deteriorado. As formulações não foram aplicadas como um revestimento, mas como um consolidante (penetrando nas fibras do papel). Consolidantes são materiais utilizados para aumentar a resistência mecânica à tração e preservar a integridade física de suportes, como o papel ou a madeira.

Celulose bacteriana (BC) e CNFs também foram aplicadas individualmente na superfície de papéis fragilizados a fim de consolidá-los. Com a aplicação, áreas de papel danificadas, rasgos e buracos/perdas foram preenchidos com o revestimento em grande quantidade. No entanto, sob envelhecimento artificial, as amostras tratadas sofreram as mesmas alterações que as amostras não tratadas (Völkel et al., 2017). Ou seja, os materiais adicionados funcionaram como bons consolidantes, mas não cooperaram satisfatoriamente para aumentar a estabilidade do papel consolidado. Analogamente, filmes finos de CNFs foram aderidos na superfície de objetos de papel translúcido, a fim de remendá-los e consolidá-los (Dreyfuss-Deseigne, 2017). Ainda, CNCs ou CNFs em altas concentrações (até 66% m/m) combinados a ésteres de celulose, plastificantes e carbonato de cálcio foram aplicados diretamente em áreas de perda de suporte em protótipos de papel naturalmente envelhecido. Os nanocompósitos opacos apresentaram elevada cristalinidade e homogeneidade, além de performance mecânica e de envelhecimento superior à da polpa de papel artesanal, o material

tradicionalmente utilizado para preencher lacunas em papel (Camargos, 2016; Camargos et al., 2017, 2016).

CNFs, CNCs ou ainda CNFs combinadas com nanopartículas de sílica foram aplicados no verso de telas de pintura, para consolidá-las. As nanoceluloses formaram filmes na superfície do tecido, sem grande penetração, e promoveram um reforço mecânico superior ao de técnicas tradicionais, como o reentelamento do verso com uma tela nova ou o uso de resinas sintéticas, como o Paraloid<sup>®</sup>B72 e o Beva<sup>®</sup>371 (etileno-vinil-acetato de Berger) (Kolman et al., 2018; Nechyporchuk et al., 2018).

Finalmente, LNPs, BC e CNCs foram separadamente utilizados para impregnar artefatos de madeira naturalmente envelhecidos e encharcados. A penetrabilidade dos consolidantes de LNPs e CNCs se restringiu a cerca de 1 mm, enquanto a BC penetrou bem mais na estrutura das paredes celulares que constituem a madeira. Porém, LNPs e BC acarretaram alterações de cor nos substratos consolidados. Para melhorar a penetrabilidade e o desempenho dos consolidantes nanométricos em controlar a retração das peças de madeira, Antonelli et al. (2020) indicam algumas hipóteses: alterar o processo de impregnação ou a morfologia das nanoceluloses poderia facilitar a penetração; por sua vez, combinar nanopartículas filamentosas com nanopartículas esféricas poderia ser benéfico para estruturar redes que poderiam preencher mais adequadamente as lacunas dentro da madeira, dando melhor suporte às paredes celulares. Pautando-se em ideia similar, mas considerando uma aplicação diferente, uma estratégia baseada na combinação de CNFs, CNCs e LNPs para recobrir e proteger substratos celulósicos, incluindo madeira, será apresentada a seguir.

Considerando o *corpus* de literatura pertinente apresentado nesta revisão, concluise que, de modo geral, o uso e a função do material revestido determinam as propriedades requeridas para o revestimento protetivo. Nos revestimentos para substratos celulósicos, especialmente na circunscrição relativa aos objetos com valor cultural, os seguintes requisitos deveriam ser levados em conta para o desenvolvimento de um tratamento ideal:

- Transparência (Aulin & Ström, 2013);
- Compatibilidade com o substrato (Saremi et al., 2020);
- Flexibilidade (Jung et al., 1998);
- Homogeneidade superficial/aspecto contínuo (Rastogi & Samyn, 2015);

- Excelente adesão ao substrato (Saremi et al., 2020);
- Capacidade de molhar a superfície durante a aplicação;
- Superfície hidrofóbica (H. Liu et al., 2016);
- Estabilidade físico-química, térmica e colorimétrica (Kluge et al., 2017);
- Permeabilidade ao vapor de água equivalente à do substrato (Aulin & Ström, 2013);
- Proteção contra a radiação UV (Vardanyan et al., 2015);
- Proteção contra o envelhecimento hidrotérmico (Vardanyan et al., 2015);
- Proteção contra a proliferação de micro-organismos, como a formação de biofilmes de bactérias ou fungos (Zimniewska et al., 2008);
- Resistência mecânica à tração, à abrasão e às dobras (Saremi et al., 2020);
- Facilidade de aplicação.

# 3.2 Experimental

#### 3.2.1 Preparo e aplicação dos revestimentos protetivos

Os nanocompósitos previamente apresentados e discutidos no capítulo 2, **Nanocompósitos de nanocelulose e nanolignina**, foram aplicados, nesta parte do trabalho, como materiais de revestimento. As formulações continham de 0 a 10% (m/m) de SA-LNPs, 30 a 34% (m/m) de AH-CNCs e 60 a 66% (m/m) de TO-CNFs pós-tratadas (**Tabela 3.1**).

Tabela 3.1 Formulação dos revestimentos nanocompósitos.			
Filme	TO-CNFs pós-tratadas %(m/m)	AH-CNCs %(m/m)	SA-LNPs %(m/m)
NFC	66	34	0
NFCL1	65	34	1
NFCL10	60	30	10

As dispersões aquosas das nanoestruturas foram combinadas e homogeneizadas por sonicação, de modo a formarem misturas com uma concentração final fixa de 10 mg ml<sup>-1</sup>. Volumes fixos das misturas foram aplicados com um pincel para formar filmes de revestimento com uma razão massa/área de 1 mg cm<sup>-2</sup> na superfície de protótipos de madeira de balsa (*Ochroma pyramidale*), papel de algodão (Canson Mi-Teintes<sup>®</sup>, com gramatura de 160 g m<sup>-2</sup>) e tecido de algodão cru (padronagem: tela ou tafetá). A espessura média desses substratos foi medida como 1569 ± 19 µm, 253 ± 7 µm e 395 ± 7 µm, respectivamente. A secagem de uma área de revestimento de 4 cm<sup>2</sup> demandou cerca de 2 h à temperatura ambiente e 50% RH. Para comparações, aplicou-se de maneira similar o Paraloid<sup>®</sup>B72 (Casa do Restaurador, São Paulo, Brasil) também na concentração de 10 mg ml<sup>-1</sup> em etanol ou tolueno. Como mencionado anteriormente, essa resina acrílica é tradicionalmente utilizada como verniz em obras de arte (Podany et al., 2001; Vinçotte et al., 2019).

Exclusivamente no caso dos revestimentos aplicados em suportes têxteis, estudouse a adição de plastificantes aos nanocompósitos para evitar o craquelamento das camadas superficiais. Glicerol (GLY, massa molar: 92 g mol<sup>-1</sup>), poli(etileno glicol) (PEG, massa molar: 750 g mol<sup>-1</sup>) e poli(propileno glicol) (PPG, massa molar: 4000 g mol<sup>-1</sup>) foram testados em concentrações de 1 ou 10% (m/m) em massa seca. Após a combinação das dispersões aquosas de nanopartículas, conforme descrição acima, massa de plastificante proporcional à concentração pretendida foi adicionada à mistura, a qual foi homogeneizada por sonicação branda (amplitude de 40%) antes da aplicação.

#### 3.2.2 Preparo e aplicação de dispersões de cera de carnaúba

Um método adaptado de dispersão por fusão (Lozhechnikova et al., 2017) foi desenvolvido para a produção de partículas de cera de carnaúba por auto-organização. Pellets de cera foram suspensos em água deionizada (1% m/v) e o sistema foi aquecido até 95 °C em um banho de óleo de silicone. Depois que a cera se fundiu completamente na superfície da água, o sistema foi ultrassonicado por 10 min em um sonicador de ponteira operando a 40% de amplitude, 220 watts de potência, utilizando-se uma macro ponta de titânio com 13 mm de diâmetro. A dispersão aquosa de cera de carnaúba apresentou coloração esbranquiçada e aspecto opaco, e foi filtrada a vácuo antes da utilização. Dispersões com uma concentração de 1 mg ml<sup>-1</sup> foram aplicadas com um pincel em quatro demãos na superfície de substratos já previamente revestidos com os nanocompósitos, a fim de aumentar a hidrofobicidade dos revestimentos.

#### 3.2.3 Envelhecimento artificial acelerado dos revestimentos

Protótipos celulósicos revestidos e não revestidos foram hidrotermicamente envelhecidos por até 168 h em condição de calor úmido (80 °C e ~75% RH) (Hamed & Hassan, 2018; ISO 5630-2, 1985). Os substratos foram colocados dentro de frascos de vidro herméticos, conforme descrição apresentada no *item 2.2.4*, p. 48. Os ensaios foram conduzidos em seis replicatas por amostra.

#### 3.2.4 Ensaio de irradiação UV

Amostras de polipropileno (PP) puro, com ou sem um anteparo feito por filmes autossustentados de Paraloid®B72 ou nanocompósitos sobrepostos, foram colocadas a uma distância de 12 cm de uma fonte de radiação UVA/UVB, conforme esquema na **Figura 3.2**, e irradiadas por 168 h (Feng et al., 2016). Amostras de PP não irradiadas e irradiadas foram analisadas por ATR-FTIR, conforme descrição apresentada no *item 2.2.5*, p. 49.



**Figura 3.2** Esquema ilustrativo do aparato utilizado no ensaio de irradiação UV. (A) Amostras de PP foram colocadas sob anteparos formados por filmes de nanocompósito ou Paraloid®B72 suportados lateralmente em chassis de madeira. As montagens foram então irradiadas com uma lâmpada UV cujo (B) espectro de emissão apresentava emissão máxima na faixa de 300–400 nm.

#### 3.2.5 Ensaio de permeabilidade ao vapor de água (WVP)

O método ASTM E96-00 (2002) foi empregado com adaptações para a medida da taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) e WVP em amostras de filmes autossustentados e substratos com e sem revestimento. O método do "recipiente molhado" foi utilizado pois é o mais recomendado para a análise de revestimentos que serão submetidos a condições de umidade relativamente elevada. Para materiais higroscópicos, como os substratos e revestimentos considerados aqui, quanto maior a umidade relativa, maiores os resultados de WVP. Correções à norma (ar estagnado e superfície das amostras) não foram implementadas pois todas as medidas foram realizadas de modo padronizado, permitindo a efetivação das comparações pretendidas. Uma representação esquemática do aparato experimental utilizado pode ser observada na Figura 3.3. Utilizaram-se frascos de vidro com diâmetro da base de 2,5 cm e diâmetro de topo de 2 cm, de modo que uma área exposta (buraco) de 1,1 cm<sup>2</sup> existia na parte central da tampa. Os filmes foram moldados na abertura circular dos frascos ou os substratos foram recortados para se encaixarem perfeitamente na área interna total da tampa, de 3,1 cm<sup>2</sup> (Figura 3.3A). Os recipientes foram preenchidos com 10 ml de água deionizada, as tampas foram seladas com parafilme e os sistemas foram deixados em ambiente aberto com umidade relativa média de 50%, monitorada com o auxílio de um termo-higrômetro (Figura **3.3B**). Então, procedeu-se à gravimetria dos frascos em uma balança com cinco casas decimais, transcorridas 0, 1, 8, 24, 32 e 48 horas de ensaio. A WVTR foi calculada como a razão entre a inclinação da reta obtida por regressão linear no gráfico da perda de massa de água em função do tempo e a área exposta do filme. A seguir, a WVP foi calculada conforme a **Equação 3.1**:

$$WVP = WVTR(\frac{x}{\Delta p}) \tag{3.1}$$

em que x corresponde à espessura do filme ou do substrato e  $\Delta p$  é a diferença da pressão parcial de vapor (15800 kPa), considerando-se o gradiente expresso pela seguinte **Equação 3.2**:

$$\Delta p = S \times (R1 - R2) \tag{3.2}$$

em que S é a pressão saturada de vapor da água a 25 °C (3166 kPa),  $R_1$  (100%) é a umidade máxima no interior do frasco selado e  $R_2$  (50%) é a umidade relativa média no exterior dos frascos.



**Figura 3.3** Esquema ilustrativo do aparato utilizado no ensaio de WVP. (A) Frascos de vidro cujas tampas possuíam uma área central circular aberta (buraco) foram utilizados no experimento. As amostras de substratos ou filmes autossustentados foram cortadas no tamanho exato da área interna das tampas dos frascos e inseridas no encaixe interno das mesmas. (B) Os frascos foram preenchidos com água deionizada, de modo que, após o encaixe e selamento da tampa, a umidade relativa máxima no interior fosse de ~100%. A umidade externa foi de cerca de 50% durante todo o ensaio (monitorada com um termo-higrômetro).

#### 3.2.6 Teste de remoção e reversibilidade

Nanorestore Gel<sup>®</sup> High Water Retention (HWR) (CSGI, UniFI, Itália), um hidrogel químico baseado em uma rede interpenetrada de pHEMA-PVP (poli(hidroxietil metacrilato) e polivinilpirrolidona) e embebido em água deionizada (Figura 3.4A) foi empregado no ensaio para verificar a capacidade dos revestimentos nanocompósitos de serem removidos, isto é, a reversibilidade do tratamento aplicado. O hidrogel com alta capacidade de retenção de água foi aderido à superfície dos substratos revestidos, pressionado e deixado em repouso por 2 h (Figura 3.4B). Após esse período, o hidrogel foi retirado da superfície e a remoção do revestimento (Figura 3.4C) foi avaliada por mapeamento 2D com micro-FTIR (descrição apresentada no *item 2.2.5*, p. 52). Para tanto, o imageamento dos substratos prístinos (sem qualquer tratamento) foi comparado ao dos substratos revestidos e após o teste de remoção.



**Figura 3.4** Fotografias sob luz visível do (A) hidrogel Nanorestore Gel<sup>®</sup> HWR embebido em água, (B) o processo de limpeza com a adesão do hidrogel à superfície dos substratos revestidos, (C) a finalização do processo de remoção do revestimento, com a retirada do hidrogel. A seta vermelha em (C) indica a camada de revestimento removida do substrato e aderida ao hidrogel.

### 3.2.7 Caracterização dos revestimentos e substratos revestidos

Medida da espessura média dos substratos: foi realizada em pelo menos 10 regiões aleatórias dos substratos revestidos e não revestidos, em triplicata, com um micrômetro Mitutoyo

(Kanagawa, Japão). A espessura dos revestimentos foi estimada aproximadamente com a subtração entre a espessura dos substratos revestidos e não revestidos.

**Análise das coordenadas colorimétricas no espaço de cor CIEL\*a\*b\***: as coordenadas colorimétricas dos substratos antes e após a aplicação dos revestimentos, bem como dos substratos não revestidos e revestidos antes e após o envelhecimento hidrotérmico foram mensuradas conforme descrição apresentada no *item 2.2.4*, p. 48. A diferença de cor (ΔE) entre amostras não revestidas e revestidas, assim como entre amostras não envelhecidas e envelhecidas foi calculada conforme a **Equação 2.1** (*item 2.2.5*, p. 49).

**Microscopia eletrônica de varredura (SEM):** a morfologia da superfície foi avaliada em substratos parcialmente revestidos (região de revestimento delimitada) usando um microscópio eletrônico de varredura FEI SEM Inspect F50 (Hillsboro, OR, USA) operando a uma voltagem de aceleração de 5 kV, com detector de elétrons secundários. As amostras sólidas foram aderidas aos *stubs* de SEM com fita de carbono e recobertas com carbono em um *Sputter Coater* Baltec SDC 050 (Balzers, Liechtenstein), utilizando-se uma corrente de 2,5 A até o rompimento do filamento.

**Microscopia de força atômica (AFM)**: a topografia e rugosidade da superfície de substratos não revestidos e revestidos foi avaliada por AFM em um *Environment Controlled Scanning Probe Microscope* Shimadzu WET – SPM (Quioto, Japão). Imagens de topografia, amplitude e fase foram coletadas em modo de não-contato, utilizando-se uma ponteira de silício NCHR PointProbe<sup>®</sup> (NanoWorld, Neuchâtel, Suíça) com raio de curvatura menor do que 8 nm, cantiléver com frequência de ressonância de 320 kHz e constante de força de 42 N m<sup>-1</sup>. Os parâmetros de rugosidade (Ra, rugosidade média e Rq, desvio quadrático médio da altura), que consideram as flutuações no perfil topográfico das ordenadas em relação à linha média do percurso de medição, foram calculados no software Gwyddion (versão 2.56) em duas áreas diferentes por amostra (10×10 e 5×5  $\mu$ m<sup>2</sup>). Os resultados foram expressos como a média e desvio médio das duas medidas.

**Medidas de ângulo de contato:** a molhabilidade foi determinada em substratos não revestidos e revestidos, assim como em filmes nanocompósitos autossustentados, por meio do método da gota séssil com água deionizada. Amostras planas foram fixadas com fita dupla-face em

lâminas de microscópio e os ângulos de contato com a água foram medidos em um goniômetro Krüss EasyDrop (Hamburgo, Alemanha). As análises duraram 60 s, com medidas a cada 10 s, e foram realizadas em cinco replicatas em posições aleatórias nos substratos.

# 3.3 Resultados e discussão

### 3.3.1 Aspecto visual dos substratos celulósicos revestidos

As formulações de revestimento NFC, NFCL1 e NFCL10 contendo, respectivamente, 0, 1 e 10% (m/m) de SA-LNPs, foram aplicadas com o auxílio de um pincel sobre a superfície de protótipos de madeira de balsa (Figura 3.5A), papel de algodão (Figura 3.5B) e tecido de algodão cru (Figura 3.5C). A fim de estabelecer comparações, avaliou-se também a aplicação de Paraloid®B72 (Figura B1, Apêndice B). Essa resina sintética é tradicionalmente utilizada como revestimento ou consolidante em artefatos culturais (Podany et al., 2001; Vinçotte et al., 2019). A espessura média foi estimada como cerca de 17–23 µm para os revestimentos nanocompósitos e 19–26 µm para o verniz comercial (Figura B2, Apêndice B).



**Figura 3.5** Fotografias sob luz visível dos substratos não revestidos e revestidos com os nanocompósitos NFC, NFCL1 e NFCL10: (A) madeira de balsa, (B) papel de algodão e (C) tecido de algodão cru. Protótipos com um diâmetro médio de cerca de 2,3 cm.

A capacidade de preservar a apresentação estética dos substratos ou modificá-la o mínimo possível é crucial em tecnologias de revestimento destinadas a aplicações diversas, como a proteção de artefatos com valor cultural, artístico e/ou histórico (De Ferri et al., 2013; Muñoz Viñas, 2018). Como mostrado nas **Figuras 3.5** e **B1** (Apêndice B), o aspecto visual dos substratos não sofreu alterações drásticas devido à aplicação dos revestimentos. Entretanto, nos protótipos de papel e tecido, verificaram-se alterações nos parâmetros colorimétricos da superfície medidos no espaço de cor CIEL\*a\*b\*, quando os substratos não revestidos e revestidos foram comparados.

Uma diferença de cor ( $\Delta$ E) superior a 3,5 indica discrepância significativa entre a cor de duas amostras, ou seja, um observador padrão pode perceber a diferença de cor entre tais amostras (Mokrzycki & Tatol, 2011).  $\Delta$ E ou ainda a variação nas coordenadas L\*, a\* e b\* não foram significativas para o substrato de madeira revestida (**Figuras 3.6A**). Por outro lado, diminuições em L\* e aumentos em b\* resultaram em  $\Delta$ E significativo para o papel revestido com NFCL1 e NFCL10 (**Figuras 3.6B**). A alteração colorimétrica indicou tendências de escurecimento e amarelecimento, ou seja, a aplicação dos nanocompósitos trouxe uma coloração mais amarronzada ao substrato. A aplicação de NFC ou de Paraloid®B72 não acarretou mudanças. No caso do tecido, apenas o revestimento NFCL10 alterou significativamente os parâmetros colorimétricos L\* e b\*, acarretando apreciável  $\Delta$ E (**Figuras 3.6C**).

Tais alterações colorimétricas não impedem o uso generalizado dos revestimentos nanocompósitos nos substratos celulósicos aqui estudados. Entretanto, a leve alteração de cor deve ser levada em conta de forma crítica, caso a caso, antes de aplicações práticas. Por exemplo, considerando-se substratos com cores e tratamentos distintos (impressão, gravuras, estampas, pinturas etc.), os revestimentos nanocompósitos poderiam ser muito adequados à proteção de uma escultura em madeira, uma peça de mobiliário ou um artefato têxtil arqueológico. No entanto, as possíveis alterações nos parâmetros colorimétricos dos sistemas revestidos poderiam alterar de modo indesejado a identidade visual de uma gravura em papel ou um documento. Portanto, ainda que as características colorimétricas não impliquem no impedimento categórico do uso de revestimentos contendo 1 e 10% de nanolignina em suportes celulósicos de um modo geral, é preciso ciência quanto às modificações estéticas específicas que podem advir dessa aplicação em substratos muito alvos.



**Figura 3.6** Variação dos parâmetros colorimétricos ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^* \in \Delta b^*$ ) e diferença de cor ( $\Delta E$ ) entre substratos com e sem revestimento: (A) madeira, (B) papel e (C) tecido. As linhas pontilhadas delimitam o limite de tolerância de 3,5 no eixo das ordenadas. Valores expressos como médias e desvios-padrão de ao menos 4 replicatas.

# 3.3.2 Efeitos dos revestimentos na proteção contra o envelhecimento hidrotérmico

O envelhecimento por calor úmido, isto é, sob condições de temperatura e umidade relativa elevadas, pode danificar severamente a madeira (Lionetto et al., 2012; Matsuo et al., 2011), o papel (Kato & Cameron, 1999; Lattuati-Derieux et al., 2006; Małachowska et al., 2020; Vitale & Erhardt, 1993; X. Zou et al., 1994) e o tecido (Needles & Nowak, 1990; Olaru et al., 2013). De fato, os valores de  $\Delta E$  foram significativos para essas amostras sem revestimentos quando submetidos ao envelhecimento hidrotérmico artificialmente acelerado a 80 °C e 75% de RH por 168 h (Figura 3.7A). Papel e tecido não revestidos, assim como substratos revestidos com Paraloid®B72, apresentaram as mudanças de cor mais dramáticas após o envelhecimento (Figura 3.7B). As variações individuais nos parâmetros colorimétricos em substratos não revestidos mostram que a luminosidade (L\*) e a variação no componente b\* são as que mais contribuem para a alteração de cor, o que indica escurecimento e amarelecimento (Figura B3, Apêndice B).

Por outro lado, a presença de revestimentos nanocompósitos minimizou as mudanças de cor no papel e tecido, além de não influenciar a ΔE da madeira revestida quando envelhecida. O desempenho dos nanocompósitos foi inclusive superior ao do verniz comercial Paraloid®B72, o qual apresentou variações de cor ainda maiores do que as do material não revestido. Tal comportamento sugere que os revestimentos de nanoceluloses e nanolignina estabilizaram e protegeram as superfícies celulósicas contra o envelhecimento por calor úmido.

A incorporação de baixas concentrações de CNCs (0,5 a 2% m/m) em vernizes sintéticos também foi eficiente ao aumentar a estabilidade de cor de madeira revestida quando submetida a intemperismos (radiação UV, umidade relativa e temperatura elevadas) por até 1200 h (Vardanyan et al., 2015). Aqui, além dos AH-CNCs, os quais são bastante resistentes a ataques químicos devido à sua elevada cristalinidade, conjeturou-se que a presença de SA-LNPs conferiu capacidade antioxidante aos nanocompósitos, sendo determinante para o desempenho dos revestimentos protetivos.



**Figura 3.7** (A) ΔE calculado para substratos não revestidos e revestidos após envelhecimento a 80 °C e 75% de RH por 168 h em comparação aos mesmos substratos não envelhecidos. Valores expressos como médias e desvios-padrão de ao menos 4 replicatas. **\*\***Indica uma diferença estatisticamente significativa entre duas médias, com um nível de confiança de 95%, sempre em comparação à média obtida para as amostras não revestidas. (B) Fotografias sob luz visível dos substratos de madeira, papel e tecido não revestidos e revestidos após serem submetidos ao envelhecimento hidrotérmico.

#### 3.3.3 Efeitos dos revestimentos na proteção contra a radiação UV

Similarmente ao envelhecimento hidrotérmico, a exposição à radiação luminosa, particularmente na faixa do UV, também pode desencadear a deterioração da celulose através de reações de oxidação e foto-oxidação (Zervos, 2010). Assim, avaliou-se a capacidade de fotoabsorção dos filmes nanocompósitos e sua habilidade de proteger substratos submetidos à radiação UV.

Como discutido no capítulo 2 e mostrado na **Figura B4 (Apêndice B)**, filmes autossustentados de NFCL1 e NFCL10, assim como de Paraloid®B72, são capazes de absorver satisfatoriamente a radiação UV em comprimentos de onda entre 200 e 250 nm. O nanocompósito contendo 10% (m/m) de SA-LNPs apresentou a maior eficiência de fotoabsorção, com transmitância menor do que 3% na região do UVA e de 0% na região do UVB/UVC. O verniz comercial também apresentou transmitância nula na região do UVC.

Avaliou-se, por meio de um ensaio de irradiação UV, o efeito da capacidade de absorção UV da nanolignina na proteção de substratos sobrepostos pelos nanocompósitos autossustentados. Filmes de Paraloid®B72 e nanocompósitos foram colocados sobre corpos de prova de polipropileno (PP), funcionando como um anteparo entre essas amostras e a incidência direta de uma fonte de radiação UVA/UVB. Este é um ensaio padrão utilizado para avaliar a capacidade de proteção UV de filmes sobrepostos, uma vez que o PP prístino contém apenas átomos de carbono e hidrogênio, o que facilita a observação de alterações químicas decorrentes de sua foto-oxidação. Espectros de ATR-FTIR da amostra controle (PP não coberto) e das amostras de PP irradiadas por 24 h indicaram que a exposição por curto prazo não acarretou mudanças químicas perceptíveis (Figura 3.8A). Após 72 h de exposição, o surgimento da banda de absorção em cerca de 1720 cm<sup>-1</sup> indicou que a amostra controle começou a se deteriorar sob a irradiação UV (Figura 3.8B). Essa banda de absorção pode ser atribuída à vibração de estiramento de grupos carbonila (Feng et al., 2016), associável à foto-oxidação do PP. Tal ombro inexistia no espectro dos filmes de PP cobertos, sugerindo que todos os filmes apresentaram propriedades de barreira UV por pelo menos 72 h. No entanto, após 168 h de exposição, a banda da carbonila em 1720 cm<sup>-1</sup> foi discernível em todas as amostras de PP, exceto aquela sob o filme nanocompósitos NFCL10 (Figura 3.8C). Assim, esse filme desempenhou a função de proteção UV por um tempo mais prolongado do que os demais filmes, incluindo o Paraloid<sup>®</sup>B72.

A capacidade de proteção UV mais durável apresentada pelo nanocompósito contendo 10% (m/m) de SA-LNPs pode ser atribuída ao maior teor de lignina nesse sistema. Além de sua atividade antioxidante, a lignina possui alta capacidade de absorção na região do UV-visível devido à sua estrutura aromática, com a presença de grupos cromóforos (Kai et al., 2016; Parit et al., 2018). Incluem-se, entre tais grupos, quinonas e grupos fenóxi substituídos, os quais se estabilizam por conjugação com grupos carbonila (Sadeghifar & Ragauskas, 2020). A auto-organização da macromolécula fenólica durante a formação de nanoesferas por adição de água como anti-solvente aumenta o confinamento dos agregados aromáticos  $\pi$ – $\pi$ , aperfeiçoando ainda mais a capacidade fotoabsorvedora da lignina na forma de nanopartículas (Hambardzumyan et al., 2012; Yearla & Padmasree, 2016).



**Figura 3.8** Espectros ATR-FTIR de amostras de PP controle e cobertas por filmes de Paraloid<sup>®</sup>B72 ou nanocompósitos submetidas a ensaio de irradiação UV por (A) 24 h, (B) 72 h e (C) 168 h. Região delimitada pelas linhas pontilhadas e detalhes inseridos: banda de absorção em 1720 cm<sup>-1</sup> (1770–1670 cm<sup>-1</sup>), atribuída ao grupo funcional carbonila.

# 3.3.4 Efeitos dos revestimentos na morfologia da superfície e rugosidade dos substratos celulósicos

A morfologia, topografia e rugosidade superficial dos suportes de madeira, papel e tecido revestidos foi avaliada por análises de SEM e AFM. O revestimento NFCL1 formou um filme contínuo, compatível com a textura micrométrica da superfície da madeira (**Figura 3.9A**, **B**). A microestrutura superficial de fibras e veios da madeira foi preservada, assim como a rugosidade nanométrica da superfície (**Figura 3.10A**, **B**). O nanocompósito criou uma camada fina, não penetrante ou compactadora. Antonelli et al. (2020) também verificaram que CNCs, BC e LNPs apresentavam baixa penetrabilidade quando aplicados separadamente como consolidantes em objetos de madeira encharcada. Aqui, esse comportamento foi favorável à formação de camadas de revestimento que não comprometeram a rugosidade superficial do

substrato. O revestimento comercial, por outro lado, preencheu reentrâncias características da madeira, compactando e alterando a morfologia da superfície (Figura 3.9C, D), consequentemente diminuindo sua rugosidade original (Figura 3.10C). Por exemplo, o parâmetro de rugosidade Sq obtido a partir das imagens de topografia por AFM diminuiu de cerca de 46 nm na madeira não revestida para 2 nm após a aplicação de camadas de Paraloid®B72.



**Figura 3.9** Imagens de SEM da superfície de substrato de madeira revestido com (A, B) filme nanocompósito NFCL1 e (C, D) Paraloid<sup>®</sup>B72 em diferentes magnificações. A linha pontilhada amarela em (A) indica a fronteira entre a parte revestida e a não revestida do substrato.



**Figura 3.10** Mapas 3D obtidos por AFM (topografia) da superfície da madeira (A) não revestida, (B) revestida com o nanocompósito NFCL1 e (C) revestida com Paraloid®B72. Dimensões:  $5 \times 5 \mu m$ . Escalas de falsa cor indicam a flutuação de alturas entre o pico máximo (cor mais clara) e o vale mais profundo (cor mais escura).

O revestimento nanocompósito também recobriu uniformemente o papel e preservou sua microestrutura superficial (**Figura 3.11A, B**). Ainda que a rugosidade média tenha diminuído de cerca de 100 nm no substrato não revestido para cerca de 50 nm no substrato revestido com NFCL1 (**Figura 3.12A, B**), o decréscimo não acarretou descaracterização pronunciada da superfície. O papel tem sulcos profundos, além de fibras aparentes na superfície. Apesar de preencher as reentrâncias, diminuindo a rugosidade, o revestimento não aglutinou as fibras superficiais, mantendo a sua topografia original. Völkel et al. (2017) reportaram resultado similar quando BC e CNFs foram utilizadas separadamente para consolidar papéis históricos. Contrariamente, a aplicação do verniz comercial alterou a topografia da superfície, compactando-a (**Figura 3.11C, D**) e reduzindo significativamente a sua rugosidade característica (**Figura 3.12C**).



**Figura 3.11** Imagens de SEM da superfície de substrato de papel revestido com (A, B) filme nanocompósito NFCL1 e (C, D) Paraloid®B72 em diferentes magnificações. A linha pontilhada amarela em (A) indica a fronteira entre a parte revestida e a não revestida do substrato.



**Figura 3.12** Mapas 3D obtidos por AFM (topografia) da superfície do papel (A) não revestido, (B) revestido com o nanocompósito NFCL1 e (C) revestido com Paraloid®B72. Dimensões:  $5 \times 5 \mu m$ . Escalas de falsa cor indicam a flutuação de alturas entre o pico máximo (cor mais clara) e o vale mais profundo (cor mais escura).

No substrato de tecido, o Paraloid®B72 penetrou nos fios de fibras, endurecendo tramas e urdiduras, mantendo inalterada a sua morfologia superficial (Figura 3.13C, D) e reduzindo a sua rugosidade (Figura 3.14A, C). Apesar de comportamento similar ter sido verificado para o nanocompósito NFCL1, as camadas de revestimento apresentaram rachaduras (Figura 3.13A, B). Os defeitos generalizados foram provavelmente causados pela grande maleabilidade dos protótipos de tecido cru. Como o nanocompósito não penetrou nas fibras do tecido, assim como revestimentos de CNFs ou CNCs previamente reportados como consolidantes para o verso de telas de pintura (Kolman et al., 2018; Nechyporchuk et al., 2018), a camada de filme aderida à superfície estava propensa a se fragmentar durante o manuseio do tecido.

Para minimizar ou eliminar as falhas nos filmes de nanocompósitos e possibilitar sua aplicação também em tecido, adicionaram-se às formulações plastificantes com diferentes massas molares. Glicerol (GLY, massa molar: 92 g mol<sup>-1</sup>), poli(etileno glicol) (PEG, massa molar: 750 g mol<sup>-1</sup>) ou poli(propileno glicol) (PPG, massa molar: 4000 g mol<sup>-1</sup>) foram empregados em concentrações de 1 ou 10% (m/m). Como mostrado nas **Figuras 3.13E-H** e **B5** (**Apêndice B**), a adição dos plastificantes cooperou para a formação de camadas de revestimento mais contínuas e menos defeituosas na superfície do tecido. Similarmente ao Paraloid® B72, o revestimento nanocompósito contendo 1% (m/m) de PPG (**Figura 3.13E**) causou diminuição significativa na rugosidade do tecido revestido (**Figura 3.14B**).

Os polióis são plastificantes comumente usados para melhorar a deformação e a flexibilidade de filmes baseados em polissacarídeos (Debeaufort & Voilley, 1997). Mesmo em baixa concentração, o poliol de maior massa molar (PPG) foi capaz de atenuar notadamente a fragmentação antes observada para os revestimentos nanocompósitos. Mais do que aumentar a mobilidade das cadeias de polímeros (Donhowe & Fennema, 1993), no caso da matriz formada por nanocelulose, o uso de uma concentração adequada de plastificante pode melhorar a percolação e as interações intermoleculares entre as nanoestruturas. Assim, a incorporação de plastificantes na formulação do nanocompósito é potencialmente importante ao assegurar a flexibilidade adequada do revestimento para aplicações em suportes maleáveis.



**Figura 3.13** Imagens de SEM da superfície de substrato de tecido revestido com (A, B) filme nanocompósito NFCL1, (C, D) Paraloid®B72, (E) NFCL1 com a adição de PPG 1% (m/m), (F) NFCL1 com a adição de PPG 10% (m/m), (G) NFCL1 com a adição de PEG 10% (m/m) e NFCL1 com a adição de GLY 10% (m/m). A linha pontilhada amarela em (A) indica a fronteira entre a parte revestida e a não revestida do substrato.



**Figura 3.14** Mapas 3D obtidos por AFM (topografia) da superfície do tecido (A) não revestido, (B) revestido com o nanocompósito NFCL1 adicionado de PPG 1% (m/m) e (C) revestido com Paraloid<sup>®</sup>B72. Dimensões:  $5 \times 5 \mu$ m. Escalas de falsa cor indicam a flutuação de alturas entre o pico máximo (cor mais clara) e o vale mais profundo (cor mais escura).

# 3.3.5 Efeitos dos revestimentos nas propriedades de barreira e molhabilidade dos substratos celulósicos

Devido à hidrofilicidade da celulose (Panchal et al., 2019), os filmes nanocompósitos NFC, NFCL1 e NFCL10 apresentaram ângulos aparentes de contato com a água (WCA) de  $36 \pm 4^{\circ}$ ,  $64 \pm 2^{\circ}$  e  $68 \pm 3^{\circ}$ , respectivamente (**Figura 3.15A–C**). Embora a lignina nativa seja altamente hidrofóbica (Rao et al., 2017), as LNPs auto-organizadas apresentam caráter hidrofílico em virtude da exposição de hidroxilas fenólicas na superfície, enquanto as frações mais hidrofóbicas das macromoléculas ficam preferencialmente confinadas no interior das nanoesferas (Figura 3.15D). Assim, a incorporação de SA-LNPs minimizou apenas ligeiramente a hidrofilicidade dos nanocompósitos principalmente constituídos de nanocelulose. É provável que os filmes contendo 1 e 10% (m/m) de nanolignina tenham apresentado molhabilidade equivalente devido à existência de composições químicas de superfície similares: presença de grupos hidrofóbicos nas SA-LNPs e abundância de grupos hidrofílicos das TO-CNFs, dos AH-CNCs e das próprias SA-LNPs. No sistema contendo maior teor de nanolignina, essas nanopartículas devem estar distribuídas também no interior, o que não impacta diretamente na magnitude do WCA desta amostra, uma vez que a molhabilidade é um fenômeno de superfície (Figura 3.15B,C). Além de apresentarem um caráter geral hidrofílico, todos os filmes exibiram alta permeabilidade ao vapor de água (WVP).



**Figura 3.15** Resultados médios de WCA e WVP para os filmes (A) NFC, (B) NFCL1 e (C) NFCL10, acompanhados pela foto da gota de água 30 s após ter sido depositada na superfície dos filmes. (D) Representação ilustrativa dos grupos superficiais hidrofílicos em TO-CNFs, AH-CNCs e SA-LNPs, com a indicação da presença de frações e grupos hidrofóbicos preferencialmente no interior dessas últimas nanopartículas.

A WVP é uma propriedade importante para a integridade de materiais celulósicos, já que a interrupção das trocas de umidade (líquida e vapor) pode causar danos físicomecânicos (P. Baglioni et al., 2013) à estrutura celulósica. A troca de umidade pode ocorrer por meio de difusão de vapor de água através de poros, difusão de água condensada através de fibras de celulose e pela sorção e dessorção de umidade através de fibras e poros (Kupczak et al., 2018). Para os substratos não revestidos, revestidos e para os filmes autossustentados, a ocorrência de tais trocas de água na forma de vapor foi analisada por meio das medidas de WVP. Filmes autossustentados monocomponentes (CNF ou CNC) e nanocompósitos apresentaram WVP de cerca de 3,5 × 10<sup>-9</sup> g mm m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup> (**Figura 3.15** e **B6**, **Apêndice B**), a qual está compreendida na faixa de valores de WVP de 10<sup>-9</sup> a 10<sup>-6</sup> g mm m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup>, previamente reportados para filmes de CNFs (Dufresne, 2012; Fukuzumi et al., 2013) e vernizes para madeira (Allegretti & Raffaelli, 2009). A WVP do filme de Paraloid®B72 (1,9 × 10<sup>-9</sup> g mm m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup>) foi menor, ainda que na mesma ordem de magnitude dos valores de WVP para os filmes nanocompósitos.

A WVP dos protótipos de madeira, papel e tecido não revestidos foram superiores à WVP dos filmes autossustentados, de modo que a aplicação dos revestimentos não reduziu significativamente essa propriedade dos substratos (**Figura 3.16**). A WVP depende da espessura do material, portanto, as camadas de revestimento muito finas não foram representativas em comparação com as espessas amostras de substrato, de forma similar ao que deverá ocorrer em obras de arte.





No mesmo sentido, conhecer a molhabilidade dos substratos e revestimentos é crucial para entender o comportamento dos mesmos frente à ação direta da água, por exemplo

em caso de contatos com vazamentos. Ainda que medidas de ângulo de contato com a água (WCA) possam não contemplar de modo holístico a dinâmica do comportamento das superfícies quando em contato com a umidade devido aos efeitos capilares, essa técnica permitiu que fossem avaliadas, qualitativamente, a molhabilidade de tais superfícies, seu comportamento de absorção/repelência de gotas de água e, nos casos dos revestimentos, a estabilidade dos ângulos de contato formados entre as gotas de água e a superfície. Como mostrado na **Figura B7** (Apêndice B), a grande molhabilidade da madeira e do papel não permitiu que medidas de WCA em função do tempo fossem realizadas para as amostras não revestidas, as quais apresentaram WCA inicial de cerca de 30–50° imediatamente após a deposição da gota de água. O WCA do tecido de algodão cru, por sua vez, foi medido como 67 ± 11°. Analogamente, os substratos revestidos com NFCL1 continuaram hidrofílicos, apresentando WCA médio inferior a cerca de 76° (Figura 3.17A, C).



**Figura 3.17** (A) Gráfico do WCA aparente em função do tempo para substratos revestidos. Fotografias da gota de água no tempo 30 s e medidas de WCA médios em substratos de madeira, papel e tecido revestidos com (B) NFCL1/camadas adicionais de partículas de cera de carnaúba e (C) NFCL1.

Baixa molhabilidade pode ser uma característica benéfica em revestimentos destinados à proteção de artefatos celulósicos, pois permite minimizar a interação indesejada entre a superfície do substrato e excessos de umidade ou vazamentos de água. Tal característica foi observada em protótipos de madeira, papel e tecido revestidos com Paraloid®B72, cujo WCA médio foi superior a 100° (**Figura B8**, **Apêndice B**). Para aperfeiçoar a hidrofobicidade dos revestimentos nanocompósitos, aplicaram-se camadas adicionais de

partículas de cera de carnaúba às superfícies revestidas. Utilizou-se uma técnica de dispersão por fusão (Milanovic et al., 2011) para converter pellets de cera de carnaúba (**Figura B9A**, **Apêndice B**) em partículas nanométricas, as quais formaram uma dispersão aquosa com aspecto leitoso (**Figura B9B**, **Apêndice B**).

Imagens topográficas de AFM indicaram que essas nanopartículas apresentaram diâmetro médio de 246  $\pm$  99 nm e morfologia quase esférica (**Figura B9C–E**, **Apêndice B**). O diâmetro hidrodinâmico médio medido por DLS foi de 310  $\pm$  50 nm e as partículas apresentaram potencial zeta de – 52  $\pm$  9 mV, indicando a existência de um mecanismo de estabilização eletrostático devido à superfície com carga negativa. Tendo uma estrutura principalmente baseada em ésteres de ácidos graxos e álcoois graxos, a cera de carnaúba possui grupos funcionais hidroxila, ácido carboxílico e aldeído (Lozhechnikova et al., 2017).

A dispersão de nanopartículas de cera foi aplicada com um pincel em superfícies previamente revestidas com NFCL1, resultando em camadas semitransparentes com aspecto incolor ou esbranquiçado (Figura B10, Apêndice B). O WCA médio dos substratos revestidos aumentou para 113 ± 4° na madeira, 121 ± 3° no papel e 105 ± 2° no tecido (Figura 3.16A, B). Essa diminuição da molhabilidade dos revestimentos pode ser atribuída ao caráter mais hidrofóbico das camadas de cera após a secagem, mesmo à temperatura ambiente. Evitou-se empregar qualquer tratamento térmico, como normalmente realizado para partículas de cera de carnaúba em revestimentos de papel e madeira (Lozhechnikova et al., 2017; Y. Wang et al., 2017), pois reações de deterioração nos substratos poderiam ser desencadeadas em virtude de incrementos excessivos na temperatura (H. Z. Ding & Wang, 2007; Lattuati-Derieux et al., 2006; Manso & Carvalho, 2009).

# 3.3.6 Reversibilidade e remoção de revestimentos nanocompósitos aplicados em substratos celulósicos

A compatibilidade, durabilidade e reversibilidade de tratamentos são critérios cruciais no âmbito da conservação de bens culturais (Appelbaum, 1987; Froner & Souza, 2008). Anteriormente, a durabilidade dos revestimentos nanocompósitos foi confirmada por ensaios de envelhecimento artificialmente acelerado e sua compatibilidade com os substratos
revestidos foi assegurada por análises microscópicas. A reversibilidade da aplicação foi então investigada de modo sistemático com o uso de mapeamento 2D por micro-FTIR.

Os nanocompósitos de nanoceluloses e nanolignina compartilham com os substratos de madeira, papel e tecido uma composição química similar, uma vez que todos são oriundos de matrizes lignocelulósicas. Apesar da natureza química compartilhada, foi possível mapear a camada de revestimento por micro-FTIR. Coletando-se espectros de protótipos com e sem o revestimento, verificou-se a ocorrência de diferentes distribuições na intensidade relativa da banda integrada entre 1250–1155 cm<sup>-1</sup> (Figura 3.18D). Essa banda integrada pode ser atribuída ao estiramento assimétrico C–O–C da celulose (Chieng et al., 2017; F. Xu et al., 2013) em TO-CNFs e AH-CNCs, assim como aos modos de estiramento C–O (aril-éter) (Hergert, 1960) ou de deformação no plano de C–H aromático de unidades guaiacil (Rashid et al., 2016) nas SA-LNPs.

Diferenças nos mapeamentos por micro-FTIR se relacionam a variações na composição química e no índice de refração das áreas amostradas. Na prática, comparativamente ao mapeamento da madeira não revestida (Figura 3.18A), por exemplo, a presença dos revestimentos nanocompósitos aumentou a intensidade da banda de absorção integrada entre 1250–1155 cm<sup>-1</sup>. Áreas de maior intensidade, atribuídas às camadas de nanocompósitos, encontravam-se espalhadas por toda a superfície revestida (Figura 3.18B, E, G). Resultados similares foram obtidos no mapeamento de substratos de papel (Figura B11, Apêndice B) e tecido (Figura B12, Apêndice B) revestidos e não revestidos. Assim, a metodologia baseada nessa banda integrada foi utilizada durante a avaliação da reversibilidade dos tratamentos, pois foi possível monitorar a presença e a ausência de camadas de revestimento nanocompósito.

No contexto da proteção do patrimônio cultural material, um procedimento é reversível quando os materiais aplicados podem ser removidos (Appelbaum, 1987), preferencialmente sem a necessidade de aplicação de solventes ou apenas utilizando-se o mesmo solvente empregado durante a etapa de aplicação do tratamento (Giorgi et al., 2010). Desse modo, o artefato tratado pode retornar ao estado em que se encontrava antes da intervenção e, quando necessário, pode ser submetido a outros tratamentos mais adequados e/ou atualizados (Appelbaum, 1987).



**Figura 3.18** Micrografias ópticas sob luz visível (esquerda) e mapas 2D obtidos pela análise de micro-FTIR da madeira (A) não revestida, (B, E, G) revestida com nanocompósitos e (C, F, H) depois do procedimento de limpeza e remoção do revestimento utilizando o hidrogel Nanorestore Gel<sup>®</sup> HWR. Barras de escala: 200 μm. Escala de falsa cor: menor intensidade de absorbância da banda integrada (1250–1155 cm<sup>-1</sup>) em azul e maior intensidade em vermelho. (B) Espectros de FTIR correspondentes a um pixel vermelho, um pixel amarelo, um pixel verde e um pixel azul representativos, coletados por micro-FTIR. A resolução espacial do equipamento é de 5,5 μm, i.e., cada pixel corresponde a uma área amostrada de cerca de 30 μm<sup>2</sup> e a um espectro inteiro.

Haja vista sua grande compatibilidade, os revestimentos protetivos se aderiram favoravelmente aos substratos e não puderam ser removidos simplesmente por limpeza mecânica, ou seja, com o uso de métodos abrasivos para soltar a camada de revestimento (uso de borracha ou bisturi, por exemplo) (Crespo & Viñas, 1985; Muñoz Viñas, 2018). Assim, um hidrogel químico com alta capacidade de retenção de água (Nanorestore Gel<sup>®</sup> HWR) foi aplicado para que se avaliasse a remoção das camadas de revestimento usando água como solvente (Figura 3.4).

O processo de limpeza consistiu em contato direto entre o hidrogel embebido em água e a superfície dos substratos recobertos por 2 h. Após a retirada do hidrogel, o mapeamento dos substratos indicou a remoção efetiva das camadas de revestimento. A intensidade relativa da banda integrada entre 1250–1155 cm<sup>-1</sup>, atribuída à presença dos revestimentos nanocompósitos, decresceu em todas as áreas amostradas da madeira limpa (Figura 3.18C, F, H). Os mapas da madeira limpa e da madeira não revestida apresentaram configuração muito semelhante, confirmando a reversibilidade do procedimento de revestimento. Para os demais substratos celulósicos, a remoção ocorreu de forma parcial, com a atenuação da intensidade da banda integrada nos mapas de micro-FTIR do papel (Figura B11C, E, G, Apêndice B) e do tecido (Figura B12C, E, G, Apêndice B). A rugosidade dos substratos pode ter sido determinante nesses casos, já que a superfície mais regular e lisa da madeira foi limpa mais facilmente, enquanto na superfície mais rugosa do papel e do tecido, frações de revestimento continuaram aderidas.

#### 3.4 Conclusões

CNFs, CNCs e LNPs foram combinados em dispersões aquosas e aplicados como revestimentos protetivos em protótipos de madeira, papel e tecido. Esta nova abordagem de conservação se pautou na compatibilidade intrínseca, na estabilidade e na origem renovável da celulose e da lignina.

Verificou-se que o impacto dos revestimentos nanocompósitos sustentáveis no aspecto estético e visual do substrato dependeu da concentração de LNPs utilizada. Revestimentos contendo 0 ou 1% (m/m) de LNPs não mudaram significativamente os parâmetros colorimétricos de todos os protótipos revestidos. Revestimentos contendo 10% (m/m) de LNPs foram muito adequados a aplicações em madeira, mas acarretaram o amarelecimento/escurecimento do papel e do tecido brancos. As alterações colorimétricas não inviabilizam o uso dos revestimentos desenvolvidos, mas devem ser consideradas criticamente a depender da aplicação pleiteada.

Considerando as características ideais, elencadas para revestimentos protetivos, o material desenvolvido aqui apresenta:

- Transparência, com transmitância de mais de 80% na região do visível;
- Compatibilidade natural com os substratos celulósicos a serem revestidos, diferentemente de muitos vernizes sintéticos aplicados para o mesmo fim;
- Flexibilidade, especialmente com a adição de plastificantes;
- Homogeneidade superficial/aspecto contínuo, como atestado por SEM;
- Generalizada preservação da textura micrométrica superficial dos substratos revestidos, outra vantagem frente ao verniz comercial, o qual aglutinou e compactou a superfície;
- Superfície com molhabilidade modulável, com hidrofobização alcançada através da aplicação de camadas adicionais de partículas de cera de carnaúba;
- Estabilidade físico-química, térmica e colorimétrica, além de capacidade de proteção do substrato contra o envelhecimento hidrotérmico superior à do

revestimento comercial, como atestado pelos ensaios de envelhecimento artificialmente acelerado e análises colorimétricas;

- Permeabilidade ao vapor de água equivalente à do substrato não revestido;
- Proteção contra a radiação UV, devido à incorporação de LNPs fotoabsorvedoras;
- Reversibilidade, característica importante em revestimentos para obras de arte e muitas vezes comprometida quando da utilização de resinas sintéticas;
- Facilidade de aplicação, já que as formulações aquosas podem ser simplesmente depositadas e espalhadas na superfície dos substratos com o auxílio de um pincel.



## Parte II Nanoestruturas

### Capítul<mark>o 4</mark>

### Obtenção de nanofibrilas e nanocristais de celulose por diferentes rotas

Nas plataformas *Web of Science*<sup>™</sup> e *Scopus*<sup>®</sup>, a busca pelos termos "nanocellulose" ou "cellulose nanocrystal" ou "cellulose nanofibril" retorna mais de 8000 resultados cada. Quase 30% do total crescente de documentos (aproximadamente 2450, incluindo artigos científicos, livros e capítulos de livros, textos em anais de conferências e outros) foi publicado em 2020 e 2021. Tal observação corrobora com as perspectivas acerca da emergência e proeminência das nanoestruturas de celulose como soluções sustentáveis para uma miríade de aplicações (Abitbol et al., 2016; Trache et al., 2020).

Neste capítulo serão apresentados e discutidos resultados pertinentes aos dois métodos mais consolidados para a produção de nanocristais e nanofibrilas de celulose, isto é, (1) a hidrólise com ácido sulfúrico e (2) a oxidação mediada por TEMPO seguida pela fibrilação mecânica. Especial atenção será dada ao impacto dos diferentes métodos de preparo sobre as propriedades físico-químicas, morfológicas e coloidais das nanopartículas. Ademais, será considerada a implicação do uso de celulose oriunda de diferentes partes anatômicas da planta (folhas e colmos) sobre as mesmas propriedades.

#### 4.1 Contextualização

Nanoestruturas de celulose podem ser extraídas de fontes vegetais diversas, como gramíneas (capim elefante, cana-de-açúcar etc.), coníferas (pinho, abeto etc.) e folhosas (eucalipto, faia etc.). Essas nanopartículas angariam relevância industrial e científica em virtude de sua alta capacidade de funcionalização superficial, flexibilidade, durabilidade, uniformidade e grande desempenho mecânico (Abitbol et al., 2016). Tais aperfeiçoadas propriedades de CNCs e CNFs estão intrinsecamente relacionadas às rotas de produção empregadas, assim como à parede celular e à biossíntese da celulose utilizada para a produção das nanopartículas.

#### 4.1.1 Métodos consolidados para a produção de CNFs e CNCs

Embora tanto CNCs quanto CNFs tenham diâmetros médios na faixa de 3–20 nm, os primeiros têm comprimento médio de 50–500 nm, apresentam morfologia de agulha/bastão rígido, razão de aspecto (L/D) geralmente entre ~5 e 50 e alta cristalinidade. CNFs, por outro lado, são fibrilas alongadas, com comprimento médio entre 500 nm e 2  $\mu$ m. Elas geralmente têm L/D superior a 100 e são nanoestruturas flexíveis, contendo domínios amorfos e cristalinos (Moon et al., 2011).

Tradicionalmente, nanocristais e nanofibrilas podem ser preparados por processos químicos, mecânicos ou químico-mecânicos. A hidrólise com ácido sulfúrico, o método canônico para produzir CNCs (Habibi et al., 2010), baseia-se na clivagem preferencial e degradação das regiões amorfas das cadeias de celulose (Fortunati, Puglia, Monti, et al., 2013). Tal processo é responsável por introduzir grupos funcionais éster-sulfato na superfície dos CNCs (Siqueira, Abdillahi, et al., 2010). Em contraste, a oxidação mediada por TEMPO seguida de fibrilação mecânica é a tendência atual para a produção de CNFs. Por oxidação, as hidroxilas primárias no átomo C6 da celulose são regiosseletivamente convertidas a grupos carboxilato, o que aumenta a repulsão eletrostática e favorece a separação das fibras de celulose durante a etapa mecânica de fibrilação subsequente (A. Isogai et al., 2011).

Há, na literatura, comparações entre as propriedades de nanoceluloses substituídas com grupos sulfato e carboxilato. Por exemplo, CNCs produzidos pela hidrólise ácida de CNFs (provenientes de celulose extraída de coníferas e oxidada por TEMPO) foram comparados com CNCs produzidos pela hidrólise ácida de celulose bacteriana. Análises e simulações evidenciaram a presença de quiralidade em ambas as nanopartículas, assim como distinções na química de superfície, na dimensão e morfologia. CNCs de madeira apresentaram grupos ionizáveis –COOH e comprimento médio de 0,1–1 μm, enquanto CNCs de BC tinham grupos –SO<sub>3</sub>H na superfície e comprimento médio de 1–5 μm (Usov et al., 2015). Analogamente, CNCs extraídos do colmo de juncos por duas rotas distintas foram comparados entre si. Para além dos diferentes grupos ionizáveis presentes nas nanoestruturas (–SO<sub>3</sub>H ou –COOH), verificaram-se poucas distinções nas dimensões e morfologia das partículas produzidas por hidrólise com ácido sulfúrico ou hidrólise com ácidos cítrico e clorídrico, as quais apresentaram elevada razão de aspecto (L/D de cerca de 60) (Kassab et al., 2020). Entretanto, não há ainda relatos que consistam em um estudo sistemático abrangendo a produção e caracterização simultânea de CNFs e CNCs, aplicando-se os dois métodos de produção mais consolidados em uma única biomassa lignocelulósica.

Diferentes metodologias de produção resultam em diferentes propriedades, as quais são de suma importância para a aplicação das nanoceluloses por meio de uma consistente relação estrutura-propriedade-função. Por exemplo, características tais quais comprimento, L/D, cristalinidade e grau de polimerização influenciam a transmitância óptica, a resistência à tração e propriedades de barreira ao oxigênio de filmes e revestimentos baseados em CNFs oxidadas por TEMPO (Fukuzumi et al., 2013). Por sua vez, a carga superficial e potencial zeta de CNCs, bem como a presença de lignina residual em CNFs, afetam a capacidade dessas nanoestruturas em estabilizar emulsões de *Pickering* (S. Guo et al., 2021; Kalashnikova et al., 2012). CNFs contendo lignina também podem ser utilizadas como agentes de reforço com habilidade de proteção UV (C. Liu et al., 2020) e capacidade antioxidante (Espinosa et al., 2019).

Neste estudo (Camargos & Rezende, 2021a), produziram-se CNFs e CNCs concomitantemente a partir de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), utilizando-se duas vias: a hidrólise com ácido sulfúrico (amostras denominadas AH-CNFs e AH-CNCs) e a oxidação mediada por TEMPO seguida de sonicação (amostras TO-CNFs e TO-CNCs). O capim elefante é uma biomassa forrageira perene, a qual apresenta alta concentração de celulose (mais de 30% em massa), tanto nas folhas quanto nos colmos (Scopel & Rezende, 2021). Essas duas partes anatômicas foram convertidas separadamente a nanoestruturas de celulose. Assim, além de

abordar o efeito dos métodos de produção, investigou-se também o papel da origem anatômica – e da biossíntese – da celulose nas características de CNCs e CNFs.

#### 4.1.2 Biossíntese da celulose

O processo de biossíntese da celulose envolve múltiplas etapas, iniciando-se com a extrusão da celulose a partir de complexos enzimáticos terminais localizados na parede celular vegetal. Os complexos enzimáticos contêm múltiplos sítios catalíticos dos quais cadeias únicas de celulose são polimerizadas. Interações de van der Waals e ligações de hidrogênio intra e intermoleculares promovem o empacotamento longitudinal das moléculas de celulose. No primeiro estágio, elas se cristalizam em "folhas", na sequência, em fibrilas elementares e, por fim, elas se agregam em microfibrilas (Moon et al., 2011).

A configuração dos complexos terminais varia de acordo com a fonte vegetal e dita a arquitetura, isto é, a cristalinidade, a razão de aspecto e a morfologia das microfibrilas de celulose, que devem então alterar as características das nanoceluloses produzidas (Habibi et al., 2010; Moon et al., 2011). De modo geral, o diâmetro da seção transversal de microfibrilas em plantas vasculares, como as gramíneas, é estimado como 2–3 nm, ou menos do que 36 cadeias de celulose (S. Y. Ding & Himmel, 2006). O comprimento dos cristalitos e das microfibrilas de celulose, por sua vez, pode depender não apenas do organismo produtor de celulose em si, mas também da parte anatômica na qual a parede celular em questão se encontra. Por exemplo, Kassab et al. (2020) observaram que CNCs extraídos do colmo da planta de junco apresentam diâmetro médio de cerca de 6 nm e comprimento médio de até 430 nm, resultando em L/D de 57–59. Ainda não há relatos sobre a produção de CNCs extraídos de outras partes de juncos, como das folhas, mas os autores compararam os resultados com as L/D de CNCs obtidos de outras fontes de biomassa, como casca de arroz e café (L/D de 10–20) e resíduos de algodão (L/D de 40), reiterando a grande dimensão das nanoestruturas produzidas a partir de colmos. Ademais, Luzi e colaboradores (2019) reportaram comprimento médio de 240 nm para CNCs produzidos a partir dos colmos da gramínea Diss (Amplodesmos mauritanicus), enquanto, em outro trabalho, foram obtidos CNCs com comprimento médio de 110 nm utilizando as fibras de folhas da mesma matéria-prima (Zergane et al., 2020). Em ambos os casos, a hidrólise com ácido sulfúrico foi empregada, evidenciando a relevância da origem anatômica para a determinação de propriedades morfológicas de nanopartículas de celulose.

A biossíntese de celulose em folhas, que são amplamente ocupadas por mesófilos, ou seja, tecidos parenquimático cujas paredes são finas (Buxton & Redfearn, 1997), pode contribuir para a produção de microfibrilas mais curtas. Os colmos, por outro lado, crescem a partir do alongamento de células individuais (Brown, 2004), potencialmente originando microfibrilas de celulose com uma morfologia mais alongada. Essas características podem ser traduzidas em distinções morfológicas entre as nanopartículas produzidas a partir da celulose extraída de diferentes origens anatômicas.

#### **4.2 Experimental**

### 4.2.1 Pré-tratamentos para o isolamento de celulose e caracterização das amostras pré-tratadas

O capim elefante (cultivar Guaçu), também conhecido como capim Napier ou Uganda, foi ceifado e coletado 12 meses após o plantio no Instituto de Zootecnia de Nova Odessa (SP, Brasil). As plantas foram separadas em folhas e colmos (caules), secas em estufa (Tecnal TE-394/3, Piracicaba, SP, Brasil) a 60°C por 24 h e moídas em moinho de facas (SOLAB – SL 31, Piracicaba, SP, Brasil) até passarem por uma peneira de 10 *mesh* (poros de 2 mm). A seguir, a biomassa *in natura* foi submetida a um pré-tratamento sequencial com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e NaOH diluídos (Camargos & Rezende, 2021a), adaptando-se procedimentos reportados anteriormente (Nascimento & Rezende, 2018; Rezende et al., 2018).

Na primeira etapa, as folhas e colmos de capim moído foram hidrolisados com  $H_2SO_4$  1% (v/v) na razão sólido/líquido de 1:10 (g ml<sup>-1</sup>), em uma autoclave (Phoenix AV-75, Araraquara, Brasil) a 121 °C e 1,05 bar por 40 min. Somando-se o tempo demandado para o aquecimento e o resfriamento, o sistema foi mantido dentro da autoclave por um total de 100 min. A posteriori, filtrou-se a suspensão através de uma peneira granulométrica de 60 *mesh* (poros de 250 µm). O licor filtrado foi apropriadamente descartado, enquanto o substrato sólido remanescente foi abundantemente lavado com água até pH 6–7 e seco em estufa a 60°C por 6 h. Na segunda etapa, esse substrato seco foi submetido à deslignificação com uma solução de NaOH 2% (m/v) na razão sólido/líquido de 1:20 (g ml<sup>-1</sup>). A reação se processou em autoclave nas mesmas condições descritas anteriormente. Por fim, a polpa obtida foi filtrada através de uma peneira de 100 *mesh* (poros de 149 µm), o licor (rico em lignina) foi recolhido para a preparação de nanopartículas de lignina, procedimento descrito no capítulo 5 (*item 5.2.1*, p. 150) e as fibras remanescentes (substratos ricos em celulose) foram lavadas até pH 7, secas em estufa, moídas através de uma malha de 20 *mesh* (poros de 840 µm) e utilizadas para a obtenção de nanoceluloses.

O protocolo do NREL (National Renewable Energy Laboratory) (J. B. Sluiter et al., 2010; J. Sluiter & Sluiter, 2011) foi utilizado para a quantificação de componentes de folhas e colmos de capim elefante *in natura* e após as etapas de pré-tratamento. Extrativos foram gravimetricamente estimados por extração Soxhlet compreendendo: 1) uma primeira etapa

em cicloexano/etanol 1:1 (v/v) por 8 h, para retirar principalmente os componentes apolares, após a qual as amostras foram secas a 60 °C por 1 h; 2) uma segunda etapa em água deionizada por 40 h, para retirar componentes hidrofílicos, após a qual as amostras foram secas a 105 °C. por 4 h. Para a determinação dos demais componentes, as amostras foram submetidas à hidrólise em ácido sulfúrico 72% (m/m) a 30°C por 1 h. A seguir, o sistema foi diluído com água deionizada até a concentração de 4% (m/m), aquecido a 121 °C e 1,05 bar em autoclave por 1 h e então filtrado através de cadinhos de placa porosa (poros de 7 μm). Secou-se a fração sólida remanescente a 105°C até massa constante e ela foi posteriormente calcinada (rampa de aquecimento: 200 °C por 1 h, 400 °C por 1 h e 800 °C por 2 h) para a quantificação do teor de cinzas (massa remanescente) e de lignina insolúvel em ácido (massa calcinada). O hidrolisado foi analisado por UV-Vis para a determinação de lignina solúvel em ácido (absorbância em 280 nm). Finalmente, determinaram-se os carboidratos (glicose, xilose, arabinose, ácido glucurônico, ácido acético e produtos de degradação – furfural e hidroximetilfurfural) por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em cromatógrafo Agilent series 1200 equipado com detector de índice de refração modelo G1322A, utilizando-se uma coluna Bio-Rad Aminex® HPX-87H, fase móvel H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  $5 \times 10^{-3}$  mol  $l^{-1}$ , taxa de fluxo de 0,6 ml min<sup>-1</sup>, tempo de corrida de 1 h e temperatura de 45 °C.

Adicionalmente, as amostras de biomassa secas antes e após os pré-tratamentos foram imageadas em um microscópio óptico Nikon E800 (Tóquio, Japão) usando o modo de campo claro e objetivas de magnificação de 4x, 10x e 40x. Imagens de SEM foram adquiridas em um microscópio Quanta FEG 250 (FEI, Hillsboro, EUA), operando a uma voltagem de aceleração de 5 kV e utilizando-se um detector de elétrons secundários. Para isso, fragmentos de biomassa foram fixados aos *stubs* de SEM usando fita de carbono e então foram recobertos com Ir (11,3 mA por 120 s) em um metalizador (*Sputter Coater*) Baltec MED 020 (Balzers, Liechtenstein). Pelo menos sete imagens foram adquiridas por amostra usando OM e SEM.

#### 4.2.2 Produção de nanoceluloses

CNFs e CNCs foram preparados por duas rotas distintas, descritas a seguir:

Hidrólise ácida: a Figura 4.1 sumariza o processo de obtenção de nanoceluloses por esse método. 3 g de substrato rico em celulose (folhas ou colmos) foram hidrolisados com 90 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60% (m/m) a 45 ± 5°C em um banho de água sob agitação mecânica constante (400 rpm) por 40 minutos, de acordo com um método previamente reportado para capim elefante (Nascimento & Rezende, 2018) com modificações. A reação foi atenuada pela adição de água deionizada gelada. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3500 rpm (3575 x g) por 10 minutos e lavada quatro vezes até que o sobrenadante se tornasse opaco. Essa dispersão turva (nanocristais de celulose obtidos por hidrólise ácida, AH-CNCs) foi coletada sucessivamente até que o sobrenadante centrifugado se tornasse transparente novamente. A dispersão aquosa opaca foi filtrada a vácuo e teve seu pH ajustado para 6-7 com adição de NaOH 1 mol l<sup>-1</sup>, exceto no caso da dispersão utilizada para a titulação condutimétrica, cujo pH original (pH 3–4) foi mantido inalterado. O precipitado remanescente após a etapa de centrifugação foi recuperado como uma polpa de AH-CNFs (nanofibrilas de celulose obtidas por hidrólise ácida). A concentração final das dispersões de AH-CNCs e AH-CNFs foi de, respectivamente, 0,3–0,6% (m/v) e 2,0–3,0% (m/v).



**Figura 4.1** Representação esquemática da conversão do substrato rico em celulose a nanoceluloses por hidrólise ácida. O sólido foi hidrolisado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sob agitação mecânica constante por 40 min. Após etapas sucessivas de lavagem e centrifugação, recuperou-se a fração (dispersão aquosa) de nanocristais de celulose (AH-CNCs) como o sobrenadante e a fração de nanofibrilas de celulose contendo lignina (AH-CNFs) como o precipitado remanescente do processo.

Oxidação mediada por TEMPO seguida de sonicação: na Figura 4.2 estão apresentados esquematicamente os procedimentos empregados para a preparação de nanoceluloses por esse método. Adaptando protocolos previamente reportados (A. Isogai & Zhou, 2019; Pinto et al., 2019; Y. Zhou et al., 2018), 3 g de substrato rico em celulose (folhas ou colmos) foram suspensos em 300 ml de água deionizada e então oxidados com 13,5 g (112 ml) de NaClO

(60 mmol g<sup>-1</sup>), 0,3 g de NaBr (1 mmol g<sup>-1</sup>) e 0,048 g de TEMPO (0,1 mmol g<sup>-1</sup>). Protocolo similar foi publicado anteriormente em nossos trabalhos sobre CNCs para aplicações em remediação ambiental (Jackson et al., 2021; V. T. Noronha et al., 2021). A reação foi conduzida à temperatura ambiente e pH 10 (ajustado durante toda a reação com a adição gota-a-gota de NaOH 1 mol I<sup>-1</sup> e monitorado com um pHmetro), sob agitação magnética constante (350 rpm) por 130 min. Depois, a polpa oxidada foi concentrada e sucessivamente lavada dez vezes com água deionizada *via* centrifugação a 3500 rpm (3575 x g) por 10 min. A suspensão de celulose oxidada (~1% m/v) foi homogeneizada utilizando um Ultra Turrax (IKA T25, Staufen, Alemanha) a 7000 rpm por 10 min. Finalmente, a polpa foi sonicada em ultrassom de ponteira com uma amplitude de oscilação de 60% (potência de 330 W e 20 kHz de frequência) em um banho de gelo por 30 min para promover a fibrilação mecânica das fibras de celulose e a produção de TO-CNFs (nanofibrilas de celulose oxidadas por TEMPO). Uma alíquota da dispersão de TO-CNFs foi diluída em água deionizada (1:10 v/v) e posteriormente sonicada por 30 min adicionais, a fim de quebrar mecanicamente as nanofibrilas, transformando-as em TO-CNCs (nanocristais de celulose oxidados por TEMPO).



**Figura 4.2** Representação esquemática da conversão do substrato rico em celulose a nanoceluloses por oxidação mediada por TEMPO e subsequente sonicação. O sólido foi oxidado com TEMPO, NaClO e NaBr sob agitação magnética constante por 130 min. Após etapas sucessivas de lavagem e centrifugação (omitidas), a polpa de fibras oxidadas foi fibrilada em ultrassom de ponteira por 30 min, resultando em uma dispersão aquosa de nanofibrilas de celulose (TO-CNFs), ou por 60 min, produzindo uma dispersão de nanocristais de celulose (TO-CNCs).

#### 4.2.3 Caracterização das nanoceluloses

**Medidas de rendimento das nanoestruturas:** os percentuais de recuperação de CNCs e CNFs foram medidos em triplicada, utilizando-se uma balança de infravermelho (METTLER TOLEDO MD-20, Columbus, EUA) e considerando a massa seca do substrato celulósico que foi hidrolisado ou oxidado.

**Microscopia eletrônica de transmissão (TEM):** as nanoceluloses foram analisadas em um microscópio Carl Zeiss LIBRA 120 (Oberkochen, Alemanha) em modo de campo claro. Dispersões de CNCs ou CNFs (10 μg ml<sup>-1</sup>) foram depositadas em telas de cobre de 400 *mesh* com recobrimento de filme de carbono, depois coradas com solução de acetato de uranila 2% (m/v) e secas por pelo menos 4 h em dessecador à temperatura ambiente. Pelo menos cinco micrografias foram analisadas por amostra, utilizando-se o software ImageJ (imagej.nih.gov/ij/) para medidas de diâmetro e comprimento. Para obter histogramas de distribuição de tamanho, pelo menos 230 CNFs e 150 CNCs foram medidas em cinco diferentes imagens de TEM.

**Microscopia de força atômica (AFM):** imagens de altura (topografia), amplitude e fase foram obtidas em um *Environment Controlled Scanning Probe Microscope Shimadzu* WET – SPM de acordo com as especificações experimentais descritas no *item 3.2.7* (p. 90). Dispersões (5 μg ml<sup>-1</sup>) foram depositadas em um substrato de mica e secas à temperatura ambiente antes da análise. Mais de sete imagens foram capturadas por amostra com taxa de varredura de 1 Hz (1 linha s<sup>-1</sup>) e resolução de 512 pixels. As imagens foram tratadas no software Gwyddion 2.56 (Gwyddion.net) para nivelamento, ajuste de faixa de histograma e medidas de diâmetro (altura) e comprimento. Para obter histogramas de distribuição de tamanho, foram medidas pelo menos 150 nanopartículas em quatro imagens de AFM (topografia) por amostra.

**Medida do teor de lignina solúvel em brometo de acetila (ABSL):** empregou-se um procedimento previamente descrito na literatura (Rezende et al., 2018). Antes da análise, as dispersões de CNCs e CNFs foram liofilizadas por 72 h em um liofilizador Terroni LS6000 (São Carlos, Brasil). As nanoceluloses liofilizadas foram incubadas em brometo de acetila/ácido acético 1:3 (v/v) a 50 °C sob agitação constante por 3 h antes da adição de NaOH 2 mol l<sup>-1</sup>, hidroxilamina 0,5 mol l<sup>-1</sup> em HCl e ácido acético glacial. A absorbância relativa em 280 nm foi medida em um espectrofotômetro UV-Vis. O coeficiente de extinção da lignina em folhas e

colmos de capim-elefante foi medido como 22,54 e 25,84 l g<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, respectivamente (por meio de curvas de calibração, como descrito detalhadamente no *item 5.2.3*, p. 152). O conteúdo de ABSL foi expresso como médias (± desvio padrão) de pelo menos triplicatas.

**Cálculo do índice de cristalinidade (CrI):** foi realizado a partir de difratogramas de raios-X obtidos para a biomassa em pó e nanoceluloses liofilizadas em um difratômetro Shimadzu XRD-6000 (Quioto, Japão) operando com radiação CuKα gerada a 40 kV e 30 mA, na faixa angular 20 de 5° a 50°, com uma velocidade de varredura de 2° min<sup>-1</sup>. Utilizou-se o método da altura relativa dos picos para obtenção do CrI, de acordo com o procedimento descrito no *item 2.2.5* (p. 51) e a **Equação 2.4**.

Medida do grau de polimerização viscosimétrico (DP<sub>v</sub>): foi calculado para as nanoceluloses liofilizadas a partir de medidas padronizadas de viscosidade intrínseca ( $\eta$ ) conforme as descrições apresentadas no *item 2.2.5* (p. 50) e as Equações 2.2 e 2.3.

Análise do conteúdo de grupos ionizáveis (IG): o teor de grupos aniônicos na superfície de CNCs e CNFs (dispersões aquosas nunca secas) foi medido em triplicata por titulação condutimétrica, usando um pHmetro/condutivímetro OHAUS Starter 3100M (Parsippany, EUA). 10 mg de AH-CNCs ou AH-CNFs em 50 ml de NaCl 0,001 mol l<sup>-1</sup> foram titulados com NaOH 0,01 mol l<sup>-1</sup> (previamente padronizado) para quantificar o conteúdo de ácidos fortes (grupos éster-sulfato,  $-O-SO_3^-$ ) (Abitbol et al., 2013; Beck et al., 2015; Foster et al., 2018). Por sua vez, 2,5 ml de HCl 0,05 mol l<sup>-1</sup> foram adicionados a 50 ml de dispersões contendo 10 mg de TO-CNCs ou TO-CNFs e então o sistema foi titulado com NaOH 0,01 mol l<sup>-1</sup> para mensurar o conteúdo de ácidos fracos (grupos carboxilato,  $-COO^-$ ) (Lin et al., 2012). As medidas foram expressas em mmol g<sup>-1</sup>, ou seja, a concentração molar de grupos ionizáveis por grama de nanoestrutura. Os resultados foram calculados considerando o volume de NaOH adicionado até o ponto de neutralização (na intersecção das duas inclinações da curva de condutividade, no caso de ácidos fortes) ou o volume adicionado entre os pontos de equivalência enquanto a condutividade do sistema era constante (no caso de ácidos fracos).

**Medidas de potencial zeta (ζ):** foram realizadas em um equipamento Malvern Zetasizer<sup>®</sup> Nano ZS-Zen 3600 (Malvern, Reino Unido). Dispersões de CNCs e CNFs 0,5 mg ml<sup>-1</sup> foram analisadas em cubeta capilar descartável DTS1070 (Malvern Panalytical). Os valores de pH na faixa de 1 a

13 foram ajustados adicionando-se HCl ou NaOH 1 mol l<sup>-1</sup> às dispersões, considerando um pH inicial de 5–6. Diferentes dispersões foram empregadas na avaliação de faixas de pH 5–1 e pH 6–13. Todas as medidas foram feitas em triplicatas, compreendendo ao menos 11 varreduras cada.

#### 4.2.4 Propriedades mecânicas de tração de filmes autossustentados de TO-CNFs

Filmes contendo apenas TO-CNFs de folhas (L, *leaves*), de colmos (S, *stems*) ou combinações de ambos (LS) foram preparados de acordo com as formulações na **Tabela 4.1**.

Filme	TO-CNFs de folhas/% (m/m)	TO-CNFs de colmos/% (m/m)		
L-TO-CNF	100	0		
S-TO-CNF	0	100		
LS-TO-CNF 1:1	50	50		
LS-TO-CNF 2:1	67	33		
LS-TO-CNF 3:1	75	25		

Tabela 4.1 Composição de filmes de TO-CNFs (concentrações considerando a massa seca).

Os filmes autossustentados foram produzidos *via casting* em placas de Petri de polipropileno, compreendendo a evaporação da água à temperatura ambiente por pelo menos 48 h. Empregaram-se concentração de dispersão fixa de 0,5% (m/m) e razão massa/área também fixa de 2 mg cm<sup>-2</sup>. Os filmes finos foram cortados em formato retangular (10 × 2,5 cm) e condicionados a 25 °C e 50% de umidade relativa por pelo menos 24 h antes da análise. Pelo menos cinco corpos de prova foram analisados em uma máquina universal de ensaios EMIC DL 2000 (Instron Brasil, São José dos Pinhais, Brasil) a uma taxa de 10 mm min<sup>-1</sup>, de acordo com a norma ASTM D882 *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting* (ASTM, 2002).

#### 4.3 Resultados e discussão

Como mostrado na **Figura 4.3**, inicialmente, folhas e colmos de capim elefante foram igualmente pré-tratados por meio de um processo sequencial ácido-alcalino. A primeira etapa (ácida) promoveu a remoção prioritária da hemicelulose (**Figura 4.3B**), enquanto a segunda etapa (alcalina) removeu a maior parte da lignina (**Figura 4.3C**), resultando em um substrato enriquecido em celulose. Esse procedimento garantiu um aumento da concentração de celulose nos substratos sólidos de 32 e 36% (m/m) para até cerca de 80% (m/m) (**Tabela C1**, **Apêndice C**). A composição química de folhas e colmos pré-tratados foi determinada como sendo, respectivamente: celulose (81 ± 2 e 76,6 ± 0,2% m/m), hemicelulose (4,0 ± 0,3 e 3,1 ± 0,1% m/m), lignina (7,7 ± 0,4 e 12 ± 1% m/m), cinzas (0,8 ± 0,3 e 0,5 ± 0,1% m/m) e extrativos (8,2 ± 0,1 e 6,3 ± 0,3%, m/m).



**Figura 4.3** Representação esquemática das etapas de pré-tratamento executadas em folhas e colmos de capim elefante. (A) A biomassa *in natura* é principalmente composta por celulose, lignina, hemicelulose e outros componentes (cinzas e extrativos). (B) A etapa ácida do pré-tratamento levou à remoção prioritária de hemicelulose e extrativos, resultando em um substrato menos empacotado e majoritariamente composto por celulose e lignina. Finalmente, (C) a etapa alcalina removeu preferencialmente a lignina das folhas e colmos, gerando substratos ricos em celulose.

Além de incrementar o teor proporcional de celulose, a extração da hemicelulose e da lignina contribuiu para superar a recalcitrância da biomassa, favorecendo a desconstrução e desfibrilação da parede celular da planta, como relatado anteriormente por Nascimento & Rezende (2018) e Petridis & Smith (2018). Como mostrado na **Figura C1** (**Apêndice C**), os prétratamentos aumentaram a fragmentação das fibras e a textura micrométrica da superfície, o que pode promover a acessibilidade às microfibrilas de celulose e melhorar a produção de nanocelulose (Montanari et al., 2005; Trache et al., 2020).

Assim, os substratos ricos em celulose puderam, a seguir, ser convertidos a nanoceluloses por meio de duas diferentes metodologias: (1) hidrólise ácida (**Figura 4.1**) e (2) oxidação mediada por TEMPO seguida de sonicação (**Figura 4.2**).

Conforme representação na **Figura 4.1**, além dos AH-CNCs, foram recuperadas AH-CNFs como coprodutos precipitados e parcialmente hidrolisados da hidrólise com ácido sulfúrico, cujos rendimentos chegaram a 22% nas folhas e 37% nos colmos (**Tabela 4.2**). Sendo esse o método mais convencional e escalonável para se obter CNCs (Dunlop et al., 2020), a valorização de resíduos do processo, como essas nanofibrilas precipitadas, pode ser bastante benéfica como uma alternativa para promover o uso integral de recursos lignocelulósicos (Nascimento & Rezende, 2018). O baixo custo dos reagentes é uma vantagem (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e NaOH), no entanto, a demanda por elevadas concentrações de ácido pode ser uma desvantagem.

Por sua vez, a oxidação mediada por TEMPO/sonicação (**Figura 4.2**) gerou tanto TO-CNFs quanto TO-CNCs simplesmente alterando-se a duração do processo de sonicação. Esse método vem sendo explorado como uma alternativa livre de ácido (*acid free*) para se produzir nanofibrilas e nanocristais através de variações na severidade da oxidação (Pinto et al., 2019) e/ou na duração da sonicação (Y. Zhou et al., 2018). Uma das principais vantagens da metodologia adotada é a ausência de etapas exaustivas de fibrilação mecânica após a oxidação, as quais demandam grande consumo de energia (por exemplo, homogeneização em microfluidizador, moagem ou refino), uma vez que a fibrilação é obtida através de simples sonicação em ultrassom de ponteira. O catalisador TEMPO, ainda que seja de elevado custo, é utilizado em pequenas quantidades. Tanto a hidrólise ácida quanto a oxidação mediada por TEMPO são particularmente adequadas para a obtenção de nanoestruturas a partir de gramíneas, como o capim elefante (Nascimento & Rezende, 2018) ou o bagaço de cana-de-açúcar (Pinto et al., 2019).

# 4.3.1 Influência da origem anatômica da celulose e do método de produção no teor de lignina residual, na cristalinidade e nos rendimentos de conversão de nanoceluloses

Como mostrado na **Figura 4.4A–H**, dispersões aquosas de AH-CNCs, assim como de TO-CNCs e TO-CNFs apresentaram aspectos visuais semelhantes, sendo transparentes e possuindo coloração clara. Em contraste, os sistemas contendo AH-CNFs de folhas e colmos apresentaram coloração marrom claro e marrom escuro, respectivamente. A diferença no aspecto visual pode ser associada à presença de diferentes conteúdos de lignina residual nessas nanoestruturas e deve ser considerada nas aplicações finais dos nanomateriais.



**Figura 4.4** Fotografias sob luz visível de dispersões aquosas de nanoceluloses obtidas de (A–D) folhas e (E–H) colmos de capim elefante. (I) Teor de lignina residual e (J) Índice de cristalinidade dos substratos ricos em celulose, dos CNCs e CNFs.

As AH-CNFs só foram purificadas para eliminar o excesso de espécies ácidas, oligômeros, glicose e produtos de degradação solúveis. Portanto, elas continham  $14 \pm 1\%$  e 26  $\pm 4\%$  de lignina residual, respectivamente nas AH-CNFs de folhas e colmos (**Figura 4.4I**). A preparação de CNFs contendo lignina é uma tendência crescente na literatura, sendo muito vantajosa, uma vez que a presença de lignina residual pode aumentar a estabilidade térmica e o comportamento interfacial de CNFs (S. Guo et al., 2021). Ademais, a lignina residual também pode imbuir as nanoceluloses de propriedades adicionais, como capacidade de absorção UV (C. Liu et al., 2020), atividade antioxidante e antimicrobiana (Solala et al., 2020).

A natureza amorfa da lignina (Glasser, 2019) provavelmente contribuiu para o menor índice de cristalinidade das AH-CNFs quando comparadas com as outras amostras de nanocelulose (Figura 4.4J). Ao passo que o pré-tratamento ácido-alcalino sequencial aumentou a cristalinidade das folhas e colmos de 53 e 63% para 71 e 72%, respectivamente (Figura C2), as AH-CNFs apresentaram CrI tão baixo quanto 56%. Por sua vez, os AH-CNCs apresentaram as maiores cristalinidades (até 76%) e baixos teores de lignina residual (4,3% nos AH-CNCs de folhas e 5% nos AH-CNCs de colmos). Este resultado também está de acordo com o método empregado para preparar essas amostras (hidrólise ácida), o qual separou as frações mais cristalinas (AH-CNCs) das frações menos cristalinas (AH-CNFs). Além disso, independentemente do método de produção ou da origem anatômica da celulose precursora, os CNCs exibiram cristalinidade superior à das CNFs.

A **Tabela 4.2** elenca os rendimentos de conversão para todas as amostras produzidas e oferece comparações com os rendimentos obtidos em diferentes estudos nos quais substratos ricos em celulose também foram convertidos a nanoestruturas de celulose. A hidrólise de folhas pré-tratadas resultou em 70  $\pm$  2% de AH-CNCs e 22  $\pm$  4% de AH-CNFs coproduzidas. Esses rendimentos foram comparáveis aos valores reportados para a mesma biomassa sob condições similares de pré-tratamento e hidrólise (Nascimento & Rezende, 2018), bem como para polpas hidrolisadas com ácido sulfúrico sob condições otimizadas de concentração e tempo de reação (Fan & Li, 2012). Para os colmos, a eficiência de hidrólise foi menor para AH-CNCs (28  $\pm$  2%) e maior para AH-CNFs (37  $\pm$  2%), indicando a ocorrência de hidrólise incompleta. Luzi et al. (2019) também reportaram baixa eficiência de reação (8,7%) para a hidrólise com ácido sulfúrico de colmos de Diss durante a produção de CNCs. Tais resultados sugerem que os colmos são geralmente mais recalcitrantes do que as folhas. Assim,

o aumento da severidade das condições de hidrólise, como o uso de temperaturas elevadas, tempos mais prolongados ou maiores concentrações de ácido, poderia melhorar os rendimentos de conversão dessa parte anatômica de plantas.

**Tabela 4.2** Rendimentos<sup>4</sup> de conversão de CNCs e CNFs produzidos por diferentes métodos e utilizando-se celulose oriunda de diferentes partes de diferentes plantas.

Nanocelulose	Método	Fonte	Anatomia	Rendimento/%	Referência
	Hidrólise ácida	Capim elefante	Folhas	70 ± 2	*
CNCs	TEMPO/sonicação	Capim elefante	Folhas	65 ± 2	*
	Hidrólise ácida	Capim elefante	Colmos	28 ± 2	*
	TEMPO/sonicação	Capim elefante	Colmos	72 ± 3	*
	Hidrólise ácida	Capim elefante	Folhas	53 ± 2	(Nascimento & Rezende, 2018)
	Hidrólise ácida	Polpa de eucalipto	Troncos	76	(Chen et al., 2015)
	TEMPO/sonicação	Celulose microcristalina	-	70	(Y. Zhou et al. <i>,</i> 2018)
	Hidrólise ácida	Capim africano ( <i>Diss</i> )	Colmos	8–9	(Luzi et al., 2019)
	TEMPO/sonicação	Polpa kraft de coníferas	Troncos	94	(Y. Zhou et al., 2018)
	Hidrólise ácida	Polpa de algodão	Flor	64 ± 1	(Fan & Li, 2012)
	TEMPO/sonicação	Cana-de-açúcar	Bagaço	59	(Pinto et al., 2019)
	TEMPO/sonicação	Palma	Cacho de frutos	93	(Rohaizu & Wanrosli, 2017)
	Hidrólise ácida	Capim elefante	Folhas	22 ± 4	*
CNFs	TEMPO/sonicação	Capim elefante	Folhas	65 ± 2	*
	Hidrólise ácida	Capim elefante	Colmos	37 ± 2	*
	TEMPO/sonicação	Capim elefante	Colmos	72 ± 3	*
	Hidrólise ácida	Capim elefante	Folhas	26 ± 9	(Nascimento & Rezende, 2018)
	TEMPO/sonicação	Cana-de-açúcar	Bagaço	94	(Pinto et al. <i>,</i> 2019)
	TEMPO/sonicação	Cana-de-açúcar	Bagaço	57	(Pinto et al., 2019)
	TEMPO/sonicação	Palma	Cacho de frutos	99	, (Rohaizu & Wanrosli, 2017)

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Rendimentos calculados considerando a massa utilizada de substrato pré-hidrólise ou pré-oxidação.

<sup>\*</sup> Rendimentos obtidos no presente trabalho.

Adicionalmente,  $65 \pm 2\%$  do substrato rico em celulose oriundo de folhas e  $72 \pm 3\%$  de colmos foram recuperados como TO-CNFs após 30 minutos de sonicação e, então, como TO-CNCs após 60 minutos de sonicação. Essas taxas de recuperação foram comparáveis a valores reportados para nanoceluloses produzidas a partir de celulose microcristalina (Y. Zhou et al., 2018) e bagaço de cana-de-açúcar oxidados com altas concentrações de agente oxidante (Pinto et al., 2019). Entretanto, os resultados aqui obtidos foram inferiores aos valores reportados para várias biomassas submetidas à oxidação mais branda (Pinto et al., 2019; Y. Zhou et al., 2018), cujos rendimentos excederam 90%.

Perdas de massa durante a produção de TO-CNCs e TO-CNFs podem ser atribuídas à remoção de hemicelulose e celulose como frações solúveis em água (T. Isogai et al., 2011). De fato, Pinto et al. (2019) evidenciaram que o aumento crescente da severidade da oxidação mediada por TEMPO reduz paulatinamente as taxas de recuperação de nanoestruturas. Aqui, a concentração de agente oxidante, 60 mmol g<sup>-1</sup>, foi maior do que a condição usualmente reportada na literatura, 5 mmol g<sup>-1</sup> (A. Isogai et al., 2011). Testes experimentais indicaram que baixas concentrações de NaClO não são suficientes para promover a fibrilação eficiente do capim elefante. A recalcitrância da biomassa e o conteúdo residual de lignina demandaram que um procedimento de oxidação mais severo fosse levado a cabo.

#### 4.3.2 Influência da origem anatômica da celulose e do método de produção na morfologia de nanoceluloses

AH-CNCs e TO-CNCs exibiram morfologia típica de nanocristais, com a forma de bastões rígidos, como mostrado pelas micrografias de TEM e AFM (**Figuras 4.5** e **4.6A–D**). Nos AH-CNCs, os quais apresentaram formato de agulhas, existiam extremidades mais afiadas e estreitas, bem como defeitos aparentes ao longo do sentido longitudinal das nanoestruturas. Estas irregularidades podem ser atribuídas às zonas amorfas transversalmente degradadas e clivadas durante a hidrólise ácida (Fortunati, Puglia, Monti, et al., 2013). Os TO-CNCs, por outro lado, apresentavam laterais mais regulares e lisas, apesar da existência de alguns defeitos e pequenas dobras. Estas torções e dobras podem ser atribuídas às regiões amorfas remanescentes nesse tipo de nanoestrutura (Montanari et al., 2005), cuja presença provavelmente contribuiu para o menor CrI dos TO-CNCs (69–71%) quando comparados aos AH-CNCs (75–76%, **Figura 4.4J**).



**Figura 4.5** Imagens obtidas por TEM de diferentes tipos de nanocristais de celulose: (A, B) AH-CNCs e (C, D) TO-CNCs obtidos a partir do tratamento de folhas de capim elefante.

Todos os CNCs apresentaram distribuições assimétricas de tamanho na nanoescala (**Figura 4.6E-L**). Os diâmetros médios de AH-CNCs,  $3 \pm 1$  nm, e TO-CNCs,  $4 \pm 1$  nm, são equivalentes entre si e correspondem ao diâmetro do cristalito de microfibrilas de celulose em plantas vasculares, como gramíneas (S. Y. Ding & Himmel, 2006).

Os comprimentos médios dos CNCs, por sua vez, dependeram da parte anatômica da planta da qual a celulose precursora foi extraída. Independentemente do método de produção utilizado, os CNCs de colmos foram significativamente mais longos do que os de CNCs de folhas. A distribuição do tamanho deste último foi deslocada para comprimentos inferiores



**Figura 4.6** Imagens de AFM (topografia) de (A, B) AH-CNCs e (C, D) TO-CNCs produzidas a partir de folhas e colmos de capim elefante. Setas brancas em (A, B) indicam defeitos em AH-CNCs. Setas azuis em (D) indicam dobras em TO-CNCs. Histogramas de distribuição de diâmetros e comprimentos para (E–H) AH-CNCs e (I–L) TO-CNCs. No mínimo 150 nanopartículas foram medidas em quatro imagens por amostra.

As dimensões dos CNCs de folhas (148 ± 49 nm e 183 ± 72 nm) podem ser comparadas aos comprimentos de AH-CNCs extraídos de folhas de capim elefante, 167 ± 45 nm (Nascimento & Rezende, 2018), e de TO-CNCs produzidos a partir do bagaço de cana-deaçúcar, 159 ± 71 nm (Pinto et al., 2019). Analogamente ao observado aqui para os CNCs de colmos de capim elefante (comprimentos de 268 ± 92 nm e 272 ± 109 nm), CNCs substituídos com grupos sulfato e carboxilato, preparados a partir dos colmos de juncos, também apresentaram longos comprimentos médios de 431 ± 94 e 352 ± 79 nm (Kassab et al., 2020).

Coerentemente, a razão de aspecto média dos CNCs de colmos (~80) foi significativamente maior do que a dos CNCs de folhas (~50). Para nanocristais obtidos por hidrólise ácida, a L/D depende da fonte de celulose e, principalmente, das condições e severidade da hidrólise realizada (Siqueira, Abdillahi, et al., 2010). Considerando que apenas uma condição de hidrólise ou oxidação foi empregada aqui, os resultados apresentados até agora evidenciaram que a origem anatômica da celulose desempenhou um papel importante na determinação das características morfológicas tanto de AH-CNCs quanto de TO-CNCs.

Quanto à produção de nanofibrilas, a origem anatômica da celulose se mostrou mais importante no caso da CNFs produzidas por oxidação mediada por TEMPO/sonicação do que no caso das CNFs obtidas por hidrólise ácida. As AH-CNFs oriundas de folhas ou colmos apresentaram morfologia alongada, formando redes nanofibriladas emaranhadas, como mostrado na **Figura 4.7A**, **B**. O diâmetro médio dessas AH-CNFs foi medido como cerca de 8 nm, com uma distribuição de tamanhos difusa e assimétrica (**Figura 4.7C**, **E**). Observou-se uma tendência de comprimentos predominantes superiores a 1,2 µm para as AH-CNFs de colmos e o oposto para as de folhas (**Figura 4.7D**, **F**), contudo as médias calculadas foram praticamente equivalentes. Ademais, ambas as amostras apresentaram L/D média de cerca de 160–170.

O comprimento médio das TO-CNFs de colmos, 1  $\mu$ m (Figura 4.8H), foi significativamente maior que o das TO-CNFs de folhas, 600 nm (Figura 4.8H). A biossíntese de celulose nas folhas contribuiu para a produção de TO-CNFs mais curtas, menos curvas e mais emaranhadas aleatoriamente em redes (Figuras 4.8A, C). A biossíntese das microfibrilas de celulose nos colmos, por outro lado, favoreceu a fibrilação de TO-CNFs com uma morfologia mais alongada e curva (Figura 4.8B, D e C4, Apêndice C), apresentando comumente comprimentos superiores a 1  $\mu$ m (Figura 4.8H). Porém, a rota de biossíntese hierárquica durante o alongamento dos colmos não influencia o diâmetro das microfibrilas, o qual

permanece constante, variando de 2 a 20 nm, dependendo da planta (Brown, 2004; Habibi et al., 2010). Assim, os diâmetros das TO-CNFs de folhas e caules foram equivalentes entre si (Figura 4.8E, G), resultando em L/D maior nas TO-CNFs de colmos (~190) do que nas de folhas (~140), como anteriormente observado para os CNCs produzidos a partir dessas distintas anatomias.



**Figura 4.7** Imagens de AFM (topografia) de AH-CNFs produzidas a partir de (A) folhas e (B) colmos de capim elefante. Histogramas de distribuição de diâmetros e comprimentos para AH-CNFs de (C, D) folhas e (E, F) colmos. No mínimo 150 nanopartículas foram medidas em quatro diferentes imagens de AFM por amostra.

Medidas de comprimento e diâmetro das TO-CNFs também foram realizadas a partir de imagens de TEM (**Figura C5**, **Apêndice C**). Os comprimentos medidos por AFM e TEM foram equivalentes para as mesmas amostras, enquanto os diâmetros médios medidos por TEM (**Figura C4A, C, Apêndice C**) foram maiores (10 nm) do que os obtidos a partir das imagens topográficas de AFM (4 nm, **Figura 4.8E, G**). As diferenças nos resultados de diâmetro podem ser atribuídas a distintos fatores experimentais relacionados às análises por TEM e AFM, já que o diâmetro é medido como a largura lateral no primeiro caso e como a altura topográfica no segundo caso (da Silva et al., 2020; Foster et al., 2018).



**Figura 4.8** (A, B) Imagens de TEM e (C, D) AFM de TO-CNFs produzidas a partir de folhas e colmos de capim elefante. Histogramas de distribuição de tamanhos de diâmetros e comprimentos medidos em imagens de AFM (topografia) de TO-CNFs de (E, F) folhas e (G, H) colmos. No mínimo 150 nanopartículas foram medidas em quatro diferentes imagens por amostra.

# 4.3.3 Influência da origem anatômica da celulose e método de produção nas propriedades químicas e na estabilidade coloidal de nanoceluloses

A origem anatômica também teve um efeito marcante no grau de polimerização das nanoceluloses preparadas. O DP<sub>v</sub> inicial dos substratos ricos em celulose de folhas e colmos foi de, respectivamente, 920  $\pm$  11 e 1021  $\pm$  6 monômeros. Como mostrado na **Figura 4.9**, os CNCs de folhas apresentaram DP<sub>v</sub> de cerca de 100, enquanto os CNCs de colmos tiveram DPv de até 200, independentemente do método de preparação.



**Figura 4.9** Grau de polimerização medido para CNCs e CNFs produzidos a partir de folhas e colmos. Medidas expressas como a média e desvio padrão de duplicatas.

Em geral, as clivagens induzidas pela hidrólise ácida causam uma rápida redução do  $DP_v$  da celulose até o seu grau de nivelamento (ou limite) de polimerização (*levelling-off degree of polymerization*, LODP) (Habibi et al., 2010). O LODP é geralmente correlacionado à dimensão longitudinal do cristal da celulose nativa, sendo muito dependente da origem vegetal. Por exemplo, Battista et al. (1956) reportaram valores de LODP de 200–250 para fibras de algodão e 80–280 para polpas de madeira tratada. Portanto, o  $DP_v$  medido aqui para os CNCs obtidos a partir de folhas e colmos é, provavelmente, o LODP da celulose nessas duas partes da gramínea.

O que corrobora com a tendência de as nanoestruturas oriundas de colmos apresentarem, em geral, dimensão longitudinal superior às de folhas.

Além disso, o DP<sub>v</sub> das CNFs sempre foi superior ao dos CNCs (**Figura 4.9**), especialmente para as amostras preparadas *via* hidrólise ácida. Shinoda e colaboradores (2012) descreveram uma relação linear entre o DP<sub>v</sub> e o comprimento médio de TO-CNFs. Assim, as CNFs de colmos, mais longas, apresentaram DP<sub>v</sub> significativamente maior do que as CNFs produzidos a partir de folhas. A influência do método de produção também foi perceptível principalmente no DP<sub>v</sub> das CNFs. As AH-CNFs apresentaram DP<sub>v</sub> de cerca de 340–480, enquanto os resultados medidos para as TO-CNFs foi de 200–250. As nanofibrilas de folhas e colmos obtidas por hidrólise ácida foram ligeiramente mais longas e espessas do que as TO-CNFs

A metodologia de preparo também foi de extrema relevância para a química de superfície de CNCs e CNFs. De fato, a hidrólise com ácido sulfúrico e a oxidação mediada por TEMPO conferiram diferentes quantidades/tipos de grupos ionizáveis e densidades de carga superficial às nanoceluloses. Como mostrado na **Figura 4.10**, a titulação condutimétrica de ácidos fracos indicou a presença de altas concentrações de grupos ácido carboxílico/carboxilato em nanoceluloses oxidadas por TEMPO (até 1,9 mmol g<sup>-1</sup> de TO-CNCs e 1,6 mmol g<sup>-1</sup> de TO-CNFs). A titulação condutimétrica de ácidos fortes, por sua vez, indicou a presença de grupos éster-sulfato na superfície de AH-CNCs em concentrações de até 0,6 mmol g<sup>-1</sup>. Nas AH-CNFs, o mesmo conteúdo foi de cerca de 0,1 mmol g<sup>-1</sup>. As faixas comuns de densidades de carga superficial reportadas na literatura são de 0,08–0,35 mmol g<sup>-1</sup> de AH-CNCs, 0,1–3,5 mmol g<sup>-1</sup> de TO-CNCs, e 0,2–1,8 mmol g<sup>-1</sup> de TO-CNFs (Foster et al., 2018).

Todas as dispersões aquosas foram estabilizadas pela existência de repulsão eletrostática entre nanopartículas em amplas faixas de pH, como indicado pelas medidas de potencial zeta (**Figura 4.11**). Uma vez que a oxidação mediada por TEMPO resultou em maiores quantidades de grupos aniônicos superficiais, TO-CNCs e TO-CNFs apresentaram maiores densidades de carga superficial e potenciais zeta muito negativos, bem abaixo de – 30 mV na faixa de pH 2–3 a 13. Mesmo as AH-CNFs, as quais apresentaram o menor conteúdo de grupos ionizáveis, apresentaram potenciais zeta negativos, embora próximos a – 30 mV, na faixa de pH 2 a 11.



**Figura 4.10** Conteúdo de grupos ionizáveis medido por titulação condutimétrica de dispersões aquosas de CNCs e CNFs produzidos de folhas e colmos. Medidas expressas como a média e desvio padrão de pelo menos triplicatas.



**Figura 4.11** Potencial zeta em função do pH (1–13) para dispersões aquosas de CNCs e CNFs produzidos a partir de (A, C) folhas e (B, D) colmos. Medidas expressas como a média e desvio padrão de triplicatas.

O valor do pKa dos grupos carboxil no átomo C6 e do sulfato são, respectivamente, cerca de 3,6 (Fukuzumi et al., 2010) e 1,9 (Klemm et al., 2011). Portanto, a magnitude dos potenciais zeta diminuiu em pH muito ácido, pois a protonação dos grupos superficiais ocorre em virtude da adição de H<sup>+</sup> em excesso. A carga superficial se torna insuficiente para garantir a estabilidade coloidal, ou seja, as forças eletrostáticas repulsivas entre as nanopartículas não são mais suficientes para superar as forças atrativas, como ligação de hidrogênio e interações de van der Waals. Por outro lado, em pH 12–13, as nanopartículas também carecem de estabilidade coloidal devido ao efeito de *screening* ou blindagem eletrostática exercido pelos contra-íons adicionados (W. Qi et al., 2019). Ademais, as diferentes naturezas dos íons em questão implicam em diferenças nas faixas de estabilidade coloidal observadas para as nanoestruturas. A existência de grupos éster sulfato cooperou para que a magnitude das medidas de potencial zeta fosse menos dependente do pH, enquanto a presença de grupos carboxilato contribuiu para que potenciais zeta de maior magnitude fossem medidos.

## 4.3.4 Aperfeiçoamento das propriedades mecânicas de tração de filmes autossustentados contendo TO-CNFs de folhas e colmos

Como discutido no *item 4.3.2, p. 132,* a morfologia e o tamanho das TO-CNFs de folhas e colmos divergiram bastante. Avaliou-se o efeito dessa diferença sobre as propriedades mecânicas de tração de filmes finos autossustentados de TO-CNFs. Nanofibrilas de folhas (L-TO-CNF) e colmos (S-TO-CNF) foram testadas separadamente ou em sistemas combinados (LS-TO-CNFs), os quais apresentaram-se transparentes, homogêneos (**Figura 4.12**) e possuíam uma espessura média de 27 ± 5 µm. Quando combinados na proporção de 2:1 (TO-CNFs de folhas para colmos), os filmes mostraram-se visualmente regulares e planos.

O filme LS-TO-CNF 2:1 apresentou resistência máxima à tração (cerca de 45 MPa) e rigidez (módulo de Young de mais de 2,2 GPa) significativamente maiores do que os filmes de L ou S-TO-CNF, assim como LS-TO-CNF 1:1 ou 3:1 (**Figura 4.13** e **C6, Apêndice C**). Este comportamento pode ser atribuído à existência de interpenetração e emaranhamentos mecânicos favoráveis, ou ainda à presença de mais pontos de contato para o estabelecimento de interação entre as TO-CNFs de folhas, mais curtas e interconectadas, e as TO-CNFs de colmos, mais longas e bem definidas (**Figura 4.14**).



**Figura 4.12** Fotografias sob luz visível dos filmes (A) L-TO-CNF, (B) S-TO-CNF e (C) LS-TO-CNF 2:1. Todos os filmes autossustentados exibiram alta transparência. Em (B) é possível observar alguns defeitos e deformações.



**Figura 4.13** Resistência máxima à tração (eixo esquerdo) e Módulo de Young para filmes constituídos por TO-CNFs de folhas, de colmos e misturas 1:1, 2:1 e 3:1 desses componentes. Valores expressos como a média e desvio padrão de cinco replicatas.

Ao comparar filmes autossustentados baseados em TO-CNFs com diferentes comprimentos, Fukuzumi e colaboradores (2013) concluíram que filmes de CNFs mais longas apresentavam maiores resistência à tração e módulo de elasticidade (Young). No entanto, a promissora combinação de CNFs com diferentes comprimentos e morfologias ainda não havia sido explorada. Esta estratégia simples, abrangendo o uso de um único processo de produção aplicado a uma única fonte vegetal, utilizando-se a celulose oriunda de diferentes fontes anatômicas, potencialmente permite o aperfeiçoamento de propriedades mecânicas de tração de filmes de TO-CNFs autossustentados ou nanocompósitos. Essa estratégia foi empregada durante o preparo dos filmes nanocompósitos estudados nos capítulos 2 e 3, conforme descrição apresentada no *item 2.2.3*, p. 47.



**Figura 4.14** Representação esquemática do arranjo morfológico das nanofibrilas de celulose em filmes (A) L-TO-CNFs, (B) S-TO-CNF e LS-TO-CNF 2:1.

#### 4.4 Panorama de resultados e conclusões

Os resultados centrais do estudo sistemático acerca das nanoestruturas de celulose conduzido nesta seção do trabalho foram compilados na **Tabela 2.3**. Ali estão elencadas as principais características e diferenças entre CNCs e CNFs oriundos de folhas ou colmos e produzidos por hidrólise ácida ou por oxidação mediada por TEMPO seguida de sonicação. A análise de várias propriedades morfológicas, físico-químicas e coloidais permitiu que se determinassem as variáveis influenciadas pelo método de produção ou pela origem anatômica da celulose precursora.

**Tabela 4.3** Compilação das características principais (índice de cristalinidade, CrI; conteúdo de grupos ionizáveis, IG; potencial zeta ( $\zeta$ ) em pH 7; comprimento, L; grau de polimerização, DP<sub>v</sub>; e rendimento de produção) das nanoceluloses obtidas a partir de folhas e colmos de capim elefante.

	Nanocelulose	Crl/%	IG∕ mmol g⁻¹	Potencial ζ/ mV	L/ nm	$DP_{v}$	Rendimento/%
Folhas	AH-CNCs	76	0,62 ± 0,05	$-50 \pm 2$	148 ± 49	113 ± 19	70 ± 2
	TO-CNCs	71	1,95 ± 0,07	- 72 ± 1	183 ± 72	106 ± 11	65 ± 2
	AH-CNFs	60	0,10 ± 0,01	$-38 \pm 2$	1100 ± 300	340 ± 2	22 ± 4
	TO-CNFs	67	1,59 ± 0,12	$-66 \pm 1$	600 ± 300	190 ± 4	65± 2
Colmos	AH-CNCs	75	0,47 ± 0,01	$-44 \pm 2$	268 ± 92	198 ± 3	28 ± 2
	TO-CNCs	69	1,90 ± 0,14	$-74 \pm 1$	272 ± 109	201 ± 34	72 ± 3
	AH-CNFs	56	0,12 ± 0,01	$-40 \pm 1$	1300 ± 400	478 ± 18	37 ± 2
	TO-CNFs	64	1,43 ± 0,11	$-76 \pm 3$	1000 ± 300	254 ± 2	72 ± 3

Em diferentes níveis, o método de produção afetou todas as propriedades, especialmente a cristalinidade, o potencial zeta, assim como a concentração e o tipo de grupos ionizáveis na superfície das nanoceluloses. Independentemente da origem anatômica da celulose de partida, o índice de cristalinidade dos CNCs foi maior do que o das CNFs. Além disso, os CNCs hidrolisados apresentaram-se mais cristalinos do que os CNCs oxidados por TEMPO e, por isso, os AH-CNCs foram utilizados nos nanocompósitos estudados nos capítulos 2 e 3 desta tese. Em contraste, ainda que todas as nanoestruturas tenham apresentado elevada estabilidade coloidal em água, aquelas oxidadas possuíam maior conteúdo de grupos ionizáveis
na superfície e, por consequência, maior magnitude de potenciais zeta em uma ampla faixa de pH (2–13).

O rendimento de produção, a morfologia e o grau de polimerização das nanoceluloses foram duplamente influenciados pelo método de preparo e pela origem anatômica. Devido à biossíntese da celulose, CNCs e CNFs de colmos apresentaram maiores comprimentos e DP<sub>v</sub> do que as nanoestruturas de folhas. Além disso, o comprimento médio, diâmetro e DP<sub>v</sub> das CNFs hidrolisadas foram maiores do que os das CNFs oxidados por TEMPO. A presença de elevado teor de lignina residual resultou em uma coloração amarronzada nas AH-CNFs, o que deve ser considerado para aplicações finais desse nanomaterial. Apesar da coloração, nanofibrilas contendo lignina podem ser muito interessantes, pois potencialmente possuem capacidade de absorção UV, atividade antioxidante e antimicrobiana.

Ademais, a importante relação entre propriedades e função no caso das nanoceluloses foi exemplificada pelo aperfeiçoamento do comportamento mecânico de tração de filmes finos monocomponentes de TO-CNFs. A combinação de CNFs oxidadas de folha e colmos lançou mão das diferentes morfologias, comprimentos e emaranhamentos dessas nanoestruturas, resultando em maior resistência à tração e rigidez. Tal combinação de TO-CNFs também foi empregada na elaboração dos filmes e revestimentos nanocompósitos avaliados nos capítulos 2 e 3. Concluiu-se que as propriedades dependentes da morfologia em CNCs e CNFs podem ser moduladas através do uso de diferentes partes de uma única fonte lignocelulósica. Esse fator pode ser explorado juntamente a fatores de produção, como métodos e condições reacionais, para a obtenção de nanopartículas com uma miríade de propriedades morfológicas, físico-químicas e coloidais.

# Capítulo 5

## Obtenção de nanopartículas de lignina por diferentes rotas

Nas plataformas *Web of Science*<sup>™</sup> e *Scopus*<sup>®</sup>, a busca pelos termos "nanolignin" ou "lignin nanoparticle" ou "lignin nanosphere" retorna cerca de 400 resultados cada. A emergência do estudo dessas nanopartículas é ainda muito recente, com as primeiras publicações pertinentes datando de 2008. Ademais, mais de 40% do total de documentos foi publicado em 2020 e 2021, evidenciando a tendência de crescimento dessa vertente de pesquisas.

Neste capítulo, que é o último desta tese, serão apresentados e discutidos resultados pertinentes a dois métodos utilizados para o preparo de nanopartículas de lignina (LNPs), isto é, (1) a adição de água como anti-solvente (gerando nanoesferas auto-organizadas) e (2) a ultrassonicação em meio aquoso (gerando agregados globulares/irregulares nanométricos). Serão consideradas propriedades físico-químicas, morfológicas e coloidais das nanopartículas, além do impacto da oxidação da lignina precursora e dos métodos de conversão à nanoescala sobre as propriedades intrínsecas da lignina, como capacidade antioxidante e fotoabsorção UV. Ademais, similarmente à abordagem apresentada no capítulo 4, também serão apontadas as implicações do uso de lignina oriunda de diferentes partes anatômicas da planta (folhas e colmos).

#### 5.1 Contextualização

A lignina é a fonte renovável de estruturas aromáticas mais abundante na natureza (D. Wang et al., 2020). Em geral, ela corresponde a 20–30% da massa seca de biomassas lignocelulósicas (Anwar et al., 2014), de modo que a valorização da lignina é de extrema relevância para a utilização integral de biomassas vegetais. De fato, essa macromolécula fenólica é um subproduto da indústria de papel (Kai et al., 2016) e da produção de bioetanol (Cotana et al., 2014). Anualmente, a polpação de celulose produz até 70 milhões de toneladas de lignina (Bruijnincx et al., 2015; Kai et al., 2016) enquanto estima-se que as biorrefinarias de etanol celulósico podem gerar aproximadamente 62 milhões de toneladas de resíduos de lignina (H. Wang et al., 2019). A maior parte da lignina produzida atualmente é simplesmente descartada ou queimada para fornecer energia (Duval & Lawoko, 2014; Kai et al., 2016). Apenas cerca de 5% do subproduto é explorado em aplicações de maior valor agregado (Schneider et al., 2021), tais quais o uso como estabilizantes (Cerrutti et al., 2012), agentes de reforço (Jiang et al., 2014), aditivos antioxidantes (Domenek et al., 2013), dispersantes (Ouyang et al., 2009) e surfactantes (M. Zhou et al., 2015).

Além disso, as valiosas propriedades da lignina, como capacidade de fotoabsorção, estabilidade térmica, atividades antioxidante e antimicrobiana, podem ser potencializadas na nanoescala (Trevisan & Rezende, 2020). Desta forma, a produção de LNPs também desponta como uma estratégia promissora para promover a utilização da lignina como um interessante coproduto de processos usualmente focados no aproveitamento da celulose (Camargos et al., 2019; Tian, Hu, Bao, et al., 2017; Zikeli et al., 2019).

#### 5.1.1 Métodos de produção de LNPs

LNPs podem ser produzidas por metodologias *bottom-up* ou *top-down* (Figura 5.5). Abordagens *bottom-up* compreendem a auto-organização das macromoléculas de lignina previamente solubilizadas (Beisl et al., 2017; Iravani & Varma, 2020; P. K. Mishra & Ekielski, 2019) através de um mecanismo desencadeado por troca de solventes ou precipitação por adição de anti-solvente (Schneider et al., 2021). A troca de solvente geralmente é conduzida por diálise, enquanto o método solvente-anti-solvente consiste na adição de excesso de água deionizada (anti-solvente) à lignina anteriormente solubilizada em um solvente orgânico miscível em água (Beisl et al., 2017). A presença do anti-solvente induz a auto-organização em nanoesferas, principalmente por efeito de interações hidrofóbicas. Como são macromoléculas anfifílicas (**Figura 1.4**), os fragmentos de lignina interagem entre si por ligação de hidrogênio, forças van der Waals e interações  $\pi$ - $\pi$  (Xiong et al., 2017). Essas interações intermoleculares, concomitantemente às interações hidrofóbicas, são as forças motrizes para a agregação da lignina, em água, no formato de nanoesferas com aproximadamente 100 nm de diâmetro. As frações macromoleculares mais hidrofóbicas se confinam no interior, enquanto os grupos funcionais mais hidrofílicos ficam principalmente expostos na superfície das esferas (P. K. Mishra & Ekielski, 2019).

Por sua vez, as abordagens *top-down* incluem a fragmentação mecânica ou a desintegração de agregados macro/micrométricos da lignina bruta, resultando em LNPs ou nanoagregados de lignina com forma irregular/globular (Agustin et al., 2019; Gilca et al., 2015; Gonzalez et al., 2017; Nair et al., 2014). Esses processos são geralmente realizados utilizando suspensões aquosas de lignina. A homogeneização e tratamento mecânico por cisalhamento durante 4 h resultou em LNPs menores do que 100 nm (Nair et al., 2014). A sonicação em ultrassom de sonda, por meio da cavitação e de fortes colisões entre agregados, reduziu agregados de lignina a tamanhos tão pequenos quanto 10–50 nm após um tratamento de 60 minutos (Gilca et al., 2015). Além disso, Agustin e colaboradores (2019) reportaram recentemente um método eficiente e rápido para produzir LNPs com diâmetros menores do que 100 nm. Os autores ultrassonicaram a lignina alcalina de bétula (nunca seca) por 5 min, ou seja, a lignina presente no licor do pré-tratamento da biomassa que foi precipitada, purificada e mantida em suspensão aquosa até a conversão a nanopartículas.

Como revisado na literatura, o tamanho, a forma, as propriedades químicas e a estabilidade de LNPs são propriedades que dependem dos seguintes fatores (Gao & Fatehi, 2019):

- Tipo de lignina, por exemplo, lignina alcalina, lignina kraft, lignina remanescente da hidrólise enzimática etc.;
- Origem botânica da lignina, como gramíneas, coníferas, folhosas etc.;
- Métodos de extração, como hidrólise ácida, alcalina, processo organossolve etc.;
- Métodos e condições de preparação das nanopartículas.

A maioria das publicações concernentes às LNP se concentra nas propriedades de nanoestruturas produzidas a partir da lignina oriunda de uma ou múltiplas fontes vegetais, empregando-se um método de produção único (Camargos et al., 2019; Gilca et al., 2015; Lievonen et al., 2016; Nair et al., 2014; Zikeli et al., 2019). Alguns trabalhos empregam, ainda, condições de produção variáveis, como duração do processo de fragmentação mecânica ou o teor de umidade da lignina precursora (Agustin et al., 2019), além do controle da taxa e do método de troca de solvente (Matsakas et al., 2020). Ademais, ainda são escassos os trabalhos que versam sobre a contribuição da química de superfície da lignina para as características das LNPs, o que é importante para as aplicações finais das nanopartículas.

A funcionalização da lignina bruta confere diferentes propriedades às LNPs, como a redução da atividade antioxidante e da absorção UV devido à acetilação (Trevisan & Rezende, 2020) e a maior cito-compatibilidade observada para a lignina substituída com grupos funcionais carboxilato (Figueiredo et al., 2017). Contudo, o impacto da oxidação da lignina antes da produção de LNPs ainda não foi reportado. Apenas a oxidação direta de LNPs já formadas foi estudada por Mattinen et al. (2018). A oxidação química e enzimática de LNPs auto-organizadas foi conduzida para promover a descoloração das nanopartículas e reforçá-las através de ligações cruzadas, respectivamente. Ao diminuir a intensidade da cor das LNPs e torná-las resistentes ao tetrahidrofurano (THF), a funcionalização aumentou a sua atratividade como um biomaterial para aplicações em medicina, alimentos e cosméticos (Henn & Mattinen, 2019; Mattinen, Valle-Delgado, et al., 2018). A funcionalização prévia pode garantir maior homogeneidade e uniformidade à estrutura interna e externa das nanopartículas funcionalizadas, diferente da funcionalização posterior, quando as substituições podem se concentrar prioritariamente na superfície das LNPs já formadas.

### **5.2 Experimental**

## 5.2.1 Isolamento de lignina a partir do licor da etapa alcalina do pré-tratamento

Como esquematizado na **Figura 5.1**, os licores oriundos da etapa alcalina do prétratamento de folhas ou colmos de capim elefante (*item 4.2.1*, p. 120) foram utilizados neste procedimento. As soluções alcalinas ricas em lignina, as quais apresentavam uma concentração de cerca de 1,2% (m/v), foram acidificadas até pH 2 sob agitação constante (400 rpm) com a adição gota-a-gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (Kim et al., 2017; Trevisan & Rezende, 2020). A precipitação de partículas de lignina bruta foi confirmada pelo aumento da turbidez dos sistemas. O precipitado foi abundantemente lavado com água deionizada e filtrado a vácuo até pH 6–7. Parte da lignina recuperada foi seca em estufa a 40 °C por 12 h e outra parte foi mantida e armazenada na forma de suspensão aquosa (fração nunca seca).



**Figura 5.1** Representação esquemática do (A) pré-tratamento executado em folhas e colmos de capim elefante para o isolamento de (B) substratos ricos em celulose. (C) A fração líquida recuperada após a etapa alcalina do pré-tratamento contém de 22 a 35% da massa inicial de biomassa e consiste em um licor alcalino rico em lignina (50–70% m/m da massa seca). Esse licor é acidificado até pH 2 com a adição gota-a-gota de ácido sulfúrico concentrado para que (D) a lignina sólida seja precipitada. O sólido precipitado, purificado por lavagens e filtração, é constituído por mais de 95% (m/m) de lignina.

A análise composicional dos licores de folhas e colmos foi realizada de acordo com protocolos do NREL (A. Sluiter et al., 2006; J. B. Sluiter et al., 2010), considerando as mesmas técnicas analíticas descritas no *item 4.2.1*, p. 120. A composição química do licor alcalino de folhas e colmos, respectivamente, foi determinada como sendo: celulose ( $8 \pm 1 e 16 \pm 4\%$  m/m), hemicelulose ( $7,5 \pm 0,3 e 10 \pm 4\%$  m/m), lignina ( $67 \pm 2 e 54 \pm 3\%$  m/m) e cinzas ( $7 \pm 1 e 2 \pm 1\%$ m/m). A composição dos licores ácidos pode ser consultada no **Apêndice D** (**Tabela D1**).

#### 5.2.2 Oxidação da lignina

A lignina de folhas e colmos foi oxidada através de um método adaptado, utilizando-se NaOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (W. He et al., 2017). 50 ml de NaOH 2% (m/v) foram adicionados a outros 50 ml de uma suspensão aquosa de lignina 2% (m/v, nunca seca). O sistema foi mantido a 60 °C sob agitação constante (400 rpm) por 10 minutos até que o aspecto turvo fosse substituído pela translucidez característica de soluções. Então, 30 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 29% (m/m) foram adicionados durante 1 h, gota-a-gota, para evitar a produção excessiva de bolhas e espuma. A reação foi conduzida por um período total de 2 h. Em seguida, o sistema foi acidificado até pH 2 e as ligninas oxidadas foram precipitadas e lavadas, como descrito no item anterior.

#### 5.2.3 Caracterização da lignina e da lignina oxidada

**Microscopia óptica (OM):** amostras de lignina seca e em suspensão aquosa (nunca seca) foram depositadas em lâminas de vidro e analisadas por OM em um microscópio Nikon Eclipse E800 acoplado com uma câmera Nikon DS-Ri1 (Tóquio, Japão). Utilizou-se modo de campo claro e objetivas com magnificação de 4x, 10x, 20x e 40x.

**Microscopia eletrônica de varredura (SEM):** a morfologia da lignina em pó foi avaliada usando um microscópio eletrônico de varredura Quanta FEG 250 (FEI, Hillsboro, EUA), operando a uma voltagem de aceleração de 5 kV, com detector de elétrons secundários. As amostras sólidas foram aderidas aos *stubs* de SEM com fita de carbono e recobertas com Ir em um metalizador Baltec MED 020 (Balzers, Liechtenstein), utilizando-se uma corrente de 11,3 A por 120 s.

Medida do teor de lignina solúvel em brometo de acetila (ABSL): o conteúdo de ABSL nas amostras de ligninas sólidas isoladas foi quantificado, utilizando-se o método colorimétrico

indireto descrito no *item 4.2.3* (p. 124). Para comparação, também foi realizada a análise composicional descrita no *item 4.2.1*, p. 120.

**Espectroscopia UV-Vis:** espectros de absorção UV-Vis das ligninas não oxidadas e oxidadas foram coletados em um espectrofotômetro UV-Vis Agilent Cary 50 Probe Varian<sup>®</sup> (Santa Clara, CA, USA), utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Para delinear as curvas de calibração da lignina, analisaram-se os espectros de absorção de soluções alcalinas (NaOH 2 mol l<sup>-1</sup>) contendo 5 a 80 mg l<sup>-1</sup> de ligninas brutas ou ligninas oxidadas. Para comparação, analisou-se como referência uma lignina alcalina comercial com baixo teor de sulfonatos. O coeficiente de extinção (ou absorção molar,  $\boldsymbol{\varepsilon}$ ) foi calculado considerando a Lei de Lambert-Beer (**Equação 5.1**):

$$A = \varepsilon bC \tag{5.1}$$

em que A é absorbância, b é o caminho óptico e C é a concentração da solução de lignina. O resultado de  $\boldsymbol{\varepsilon}$  foi expresso como a média e desvio-padrão de pelo menos triplicatas em diferentes concentrações.

**Cromatografia de permeação em gel (GPC):** foi empregada para analisar a massa molar das amostras de lignina oxidada e não oxidada em duplicatas. Adaptando-se uma metodologia prévia (Sameni et al., 2017), a lignina seca foi acetilada em uma mistura 1:1 (v/v) de piridina e anidrido acético sob agitação constante (400 rpm), sob proteção da luz e à temperatura ambiente por 120 h. A seguir, a lignina acetilada foi re-precipitada com a adição de água deionizada gelada (pH 2 ajustado com a adição de HCl concentrado) e filtrada a vácuo antes do uso. A acetilação é importante para aumentar a solubilidade da lignina em THF, permitindo a realização de medidas de GPC. A lignina acetilada foi solubilizada em THF na concentração de 3 mg ml<sup>-1</sup>, filtrada em uma seringa de vidro através de um filtro de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com poros de 0,22 µm e analisada em um cromatógrafo Waters 1525 Binary HPLC Pump (Milford, Massachusetts, EUA). As análises foram conduzidas à temperatura ambiente, utilizando-se detector de índice de refração, THF como eluente, volume de injeção de 20 µL e corridas com duração de 30 min. Os resultados de massa molar foram reportados como: M<sub>n</sub> (massa molar numérica média), que indica a massa molar média de todas as macromoléculas, as quais são tratadas como iguais, independentemente de distinções de tamanho e formato;  $M_w$  (massa molar ponderal média), que considera a distribuição da massa molar medida e, por isso, é o resultado mais usualmente citado na literatura; e dispersidade da massa molar (Đ), que consiste na razão  $M_w/M_n$  e indica a polidispersidade da macromolécula (Agilent Technologies, 2015).

**Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR):** foi empregada para analisar o perfil químico das ligninas brutas oxidadas e não oxidadas. Os espectros de FTIR em modo de refletância total atenuada (ATR-FTIR) foram obtidos em um espectrômetro FTIR Agilent Cary 630 com uma resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup> e 128 varreduras por corrida.

**Difração de raios-X (XRD):** difratogramas de raios-X da lignina de folhas e colmos em pó foram coletados em um difratômetro Shimadzu XRD-6000 (Quioto, Japão) operando com radiação CuKα gerada a 40 kV e 30 mA, na faixa angular 2θ de 5° a 50°, com uma velocidade de varredura de 2° min<sup>-1</sup>.

#### 5.2.4 Produção de nanopartículas de lignina

LNPs foram preparadas por duas rotas distintas, configurando metodologias *bottom-up* ou *top-down* (Figura 5.5).

Abordagem bottom-up: adaptando-se procedimentos previamente reportados, nanopartículas de lignina auto-organizadas (SA-LNPs) e nanopartículas de lignina oxidada auto-organizadas (o-SA-LNPs) foram preparadas pela adição de água como anti-solvente (Camargos et al., 2019; Richter et al., 2016; Trevisan & Rezende, 2020). A lignina bruta ou oxidada (seca) foi solubilizada em acetona/água 9:1 (v/v) para formar uma solução de lignina 0,5% (m/v) à temperatura ambiente sob agitação magnética constante (400 rpm). Em seguida, a solução foi rapidamente diluída com a adição de excesso de água deionizada (1:100), resultando em dispersões aquosas de SA-LNPs ou o-SA-LNPs (Camargos & Rezende, 2021b).

Abordagem top-down: adaptando-se métodos reportados anteriormente, nanopartículas de lignina ultrassonicadas (US-LNPs) e nanopartículas de lignina oxidada ultrassonicadas (o-US-LNPs) foram preparadas pela sonicação de suspensões de lignina bruta ou oxidada (nunca secas) (Agustin et al., 2019; Gilca et al., 2015). As suspensões foram inicialmente diluídas com a adição de água deionizada (1:10 v/v). Empregou-se um ultrassom equipado com sonda/ponteira (macro ponta de titânio com 13 mm de diâmetro) e uma amplitude de 60% (frequência de 20 kHz e potência de operação de 330 W). Foram realizados tratamentos de cavitação em volumes fixos de suspensão (50 ml) em um banho de gelo por 15, 30, 60 e 90 minutos (Camargos & Rezende, 2021b). Avaliou-se também o comportamento de tais sistemas quando sonicados na presença de um surfactante. Para tanto, às suspensões de lignina adicionou-se dodecil sulfato de sódio (SDS) em sua concentração micelar crítica (0,2% m/v) (Hammouda, 2013) e então procedeu-se à sonicação.

Após o preparo, as dispersões foram filtradas a vácuo para remover agregados maiores e os rendimentos da produção de nanopartículas foram estimados em triplicata usando uma balança de infravermelho.

#### 5.2.5 Caracterização das nanopartículas de lignina

Análise morfológica: a morfologia das LNPs foi estudada por SEM e AFM. Em ambos os casos, antes das análises, 10  $\mu$ L de dispersões de LNPs (5–10  $\mu$ g ml<sup>-1</sup>) foram depositados em um substrato de mica e depois secos à temperatura ambiente por pelo menos 4 h. As imagens de SEM foram analisadas com o software ImageJ (imagej.nih.gov/ij/) para a medida da dimensão lateral (diâmetro) das nanopartículas. Imagens de altura, fase e amplitude obtidas por AFM em um microscópio Shimadzu WET – SPM (Quioto, Japão) foram tratadas (nivelamento e ajuste de histograma da escala de cor) e analisadas com o software Gwyddion 2.56 (Gwyddion.net). Nas análises de AFM, os diâmetros foram medidos em imagens topográficas como a altura para nanopartículas esféricas individuais (SA-LNPs) e como a dimensão lateral (sempre a maior largura) em agregados com formato irregular/globular (US-LNPs). Pelo menos 130 LNPs foram medidas em imagens de SEM ou AFM para delinear os histogramas de distribuição de tamanho.

Análise do conteúdo de grupos ionizáveis (IG): o teor de grupos aniônicos na superfície da lignina bruta e das LNPs (oxidadas ou não) foi medido em triplicata por titulação condutimétrica, usando um pHmetro/condutivímetro OHAUS Starter 3100M (Parsippany, EUA). 2,5 ml de HCl 0,05 mol l<sup>-1</sup> foram adicionados a 50 ml de suspensões de lignina ou dispersões de LNPs 0,01–0,1% (m/m) para mensurar o conteúdo de ácidos fracos (ácidos carboxílicos e hidroxilas fenólicas). As medidas foram expressas em mmol g<sup>-1</sup>, ou seja, a concentração molar de grupos ionizáveis por grama de nanoestrutura. Os resultados foram

calculados considerando o volume de NaOH adicionado entre os pontos de equivalência enquanto a condutividade do sistema se mantinha constante.

**Espalhamento de luz dinâmico (DLS) e medidas de potencial zeta (ζ):** o potencial zeta e o diâmetro hidrodinâmico médio foram medidos em um equipamento Malvern Zetasizer® Nano ZS-Zen 3600 (Malvern, Reino Unido). Dispersões de LNPs 0,1–0,5 mg ml<sup>-1</sup> foram analisadas em cubeta capilar descartável DTS1070. Os valores de pH na faixa de 2 a 12 foram ajustados adicionando-se HCI ou NaOH 1 mol l<sup>-1</sup> às dispersões, considerando um pH inicial de 5–6. Diferentes dispersões foram empregadas na avaliação de faixas de pH 5–2 e pH 6–12. Todas as medidas de DLS e potencial zeta foram feitas em triplicatas, compreendendo ao menos 11 varreduras cada e utilizando-se um ângulo fixo de 173°. Os diâmetros hidrodinâmicos médios de SA-LNPs e US-LNPs foram reportados, respectivamente, como o diâmetro médio por número (adequado para partículas esféricas e pouco polidispersas) e o diâmetro médio por intensidade.

**Avaliação da atividade antioxidante**: procedimento similar ao descrito no capítulo 2 (*item 2.2.5*, p. 51) e a **Equação 2.5** foram empregados para a medida da capacidade antioxidante da lignina e das LNPs. Adaptando-se procedimentos da literatura, a atividade de supressão de radical DPPH foi medida em ensaio colorimétrico para a lignina em solução ou LNPs em dispersão aquosa (C. M. Noronha et al., 2014; Pan et al., 2006; Trevisan & Rezende, 2020). Aqui, 2 ml de DPPH• 65 µmol I<sup>-1</sup> em metanol foram adicionados a 1 ml de lignina 0,15 mg ml<sup>-1</sup> em dioxano 90% (v/v) ou a 1 ml de LNPs 0,15 mg ml<sup>-1</sup> em dispersão aquosa. A concentração de DPPH• imediatamente no início (0 min) e após 16 e 30 min foi examinada, longe da luz direta, usando a intensidade relativa da banda de absorção em 515 nm ( $\lambda_{máx}$ ) medida por espectroscopia UV-Vis. Para a referência (branco) foram preparados sistemas contendo 2 ml de solução de DPPH• e 1 ml de dioxano 90% (v/v) ou 1 ml de água, respectivamente para a avaliação da capacidade antioxidante da lignina em solução e das LNPs em dispersão. Todas as medições foram realizadas em duplicata, à temperatura ambiente.

#### 5.2.6 Preparo e avaliação de filmes compósitos PVA/LNP

Uma suspensão aquosa de PVA 1% (m/m) foi aquecida em banho de silicone a 90 °C sob agitação constante (400 rpm) por 2 h. Em seguida, foram adicionadas dispersões aquosas de LNPs à solução resfriada de PVA. Filmes de PVA contendo 10% (m/m) de LNPs foram preparados por *casting* em placas de Petri de polipropileno. A evaporação da água ocorreu em estufa a 40 °C por 12 h, produzindo filmes com uma razão massa/área de 2 mg cm<sup>-2</sup> e espessura média de 109 ± 7  $\mu$ m. Os espectros de DRS dos filmes na faixa de 200 a 800 nm foram coletados em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2450 (Quioto, Japão), operando em modo de transmitância, na faixa de 200–800 nm com uma resolução espectral de 0,5 nm.

#### 5.3 Resultados e discussão

#### 5.3.1 Propriedades das ligninas extraídas de folhas e colmos

O pré-tratamento ácido-alcalino conduzido, permitiu o isolamento de lignina com elevada pureza a partir do licor alcalino extraído de folhas e colmos (Figura 5.1). Inicialmente, a biomassa era composta por mais de 30% (m/m) de celulose, cerca de 20% (m/m) de hemicelulose, além de 21% e 28% (m/m) de lignina, respectivamente, em folhas e colmos (Tabela C1, Apêndice C). Com a acidificação do licor alcalino, recuperou-se a lignina Klason, ou seja, as frações de lignina insolúveis em ácido. Cerca de 70% da quantidade total de lignina contida no licor alcalino foi precipitada na forma de agregados de lignina com dimensões de centenas de micrômetros (Figuras D1, Apêndice D). Essa extração correspondeu a uma eficiência de extração de 42 e 44% do conteúdo inicial de lignina nas folhas e colmos, respectivamente. Rendimentos de recuperação similares foram reportados anteriormente para a lignina extraída das folhas de capim elefante (Trevisan & Rezende, 2020).

As ligninas isoladas de folhas ou colmos apresentaram coloração marrom característica (**Figura 5.2A, C**), embora com tonalidades diferentes. A cor marrom da lignina está relacionada à estrutura química condensada da macromolécula e à presença de grupos cromóforos que promovem alta capacidade de absorção na região ultravioleta/visível (Huang et al., 2019; Kai et al., 2016; Lähdetie et al., 2009). As ligações  $\pi$  conjugadas contribuem para uma maior absorção em comprimentos de onda na região do ultravioleta próximo e do azul, resultando em uma cor entre o alaranjado e o marrom (Laskin et al., 2014; H. Sun et al., 2007).

Os espectros UV-Vis mostraram o perfil característico da macromolécula em solução alcalina, com uma absorção máxima em cerca de 285 nm para lignina de colmos e 288 nm para a lignina de folhas e a lignina comercial (**Figura D2**, **Apêndice D**). Essa banda característica em cerca de 280 nm pode ser atribuída à absorção de álcoois sinapílico, coniferílico e cumarílico, os monolignóis que participam da biossíntese da lignina (R. Sun et al., 2001). A intensidade relativa da banda característica dependeu linearmente da concentração de lignina ( $R^2 \ge 0,99$ ).

A alta pureza da lignina foi estimada em 95,0 ± 0,4%, usando as curvas de calibração obtidas por UV-Vis e tomando como referência a curva para uma lignina alcalina cuja pureza era conhecida (>99%). A análise composicional (protocolo NREL, compreendendo a hidrólise com  $H_2SO_4$  72% m/m, a separação de carboidratos por filtração e a posterior calcinação da lignina) também indicou um teor estatisticamente equivalente de lignina insolúvel em ácido, 94,4 ± 0,2%. O método ABSL, por sua vez, resultou em concentrações totais de 98 ± 1% e 99 ± 1% para a lignina de folhas e colmos, respectivamente. O último método pode fornecer resultados superestimados devido à degradação oxidativa simultânea de carboidratos estruturais residuais durante a incubação da amostra em ácido (Moreira-Vilar et al., 2014).



**Figura 5.2** Fotografias sob luz visível de lignina não oxidada e oxidada oriunda de (A, B) folhas e (C, D) colmos, assim como de (E–L) dispersões aquosas de LNPs não oxidadas e oxidadas. O espalhamento do laser vermelho em (F, J) demonstra o efeito Tyndall, presente em todas as dispersões de LNPs.

De fato, como mostrado na **Figura D3 (Apêndice D)**, os difratogramas de raios-X para as amostras de lignina de folhas e colmos apresentaram o perfil típico de analitos amorfos, embora existisse uma contribuição cristalina em torno de 21,5°. Este pico pode ser atribuído à presença de impurezas e pequenos fragmentos cristalinos nos agregados de lignina (Alzagameem et al., 2018), como resíduos de celulose.

As ligninas foram submetidas a uma oxidação branda com solução diluída de NaOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A lignina oxidada apresentou coloração diferente da tonalidade amarronzada das ligninas brutas não oxidadas. A lignina oxidada de folhas apresentou coloração esverdeada (**Figura 5.2B**), enquanto a de colmos apresentou cor amarelada (**Figura 5.2D**).

Espectros de ATR-FTIR confirmaram as mudanças na estrutura química da lignina após a oxidação (**Figura 5.3**). O surgimento da banda de absorção em 1715 cm<sup>-1</sup> foi um indício do incremento da quantidade de vibrações de estiramento C=O, típicas da oxidação (Fernandes

et al., 2019). O aumento da intensidade relativa de absorção em 2845 cm<sup>-1</sup>, referente ao estiramento de grupos metil e metileno das cadeias laterais da lignina (Popescu et al., 2007; F. Xu et al., 2013), por sua vez, foi um indício da fragmentação da macromolécula, com o aumento proporcional de grupos terminais e laterais. Medidas de GPC corroboraram com essa hipótese, evidenciando que a massa molar (M<sub>w</sub>) decresceu de 7000–8000 g mol<sup>-1</sup> nas ligninas brutas para cerca de 5000 g mol<sup>-1</sup> nas ligninas oxidadas (**Figuras 5.4**, **D4** e **Tabela D2**, **Apêndice D**).



**Figura 5.3** Espectros de ATR-FTIR de lignina bruta não oxidada e oxidada, extraída de (A) folhas e (B) colmos. O surgimento da banda de absorção em 1715 cm<sup>-1</sup> é um indício do incremento da quantidade de vibrações de estiramento -C=O, típicas da oxidação (Fernandes et al., 2019).



**Figura 5.4** M<sub>w</sub> medidas para ligninas de folhas e colmos não oxidadas e oxidadas. Valores expressos como médias e desvios-padrão de duplicatas.

Além disso, os espectros de FTIR (**Figura 5.3**) indicaram a manutenção ou diminuição não significativa da intensidade relativa de bandas referentes às vibrações de anéis aromáticos, como aquelas centradas em 2920 cm<sup>-1</sup>, atribuída ao estiramento C–H de grupos metoxil aromáticos, em 1503 cm<sup>-1</sup>, atribuída ao estiramento assimétrico de anéis arila (Pavia et al., 2012) e em 1116 cm<sup>-1</sup>, relativa à deformação aromática C–H no plano (Popescu et al., 2007). Tal resultado sugere que a estrutura aromática das ligninas se preservou consideravelmente, isto é, a clivagem de ligações covalentes entre as unidades de fenilpropano não perturbou a estrutura aromática da lignina. Coerentemente, embora a intensidade relativa tenha decrescido, os espectros UV-Vis das ligninas oxidadas também mostraram a banda de absorção característica da lignina em cerca de 280 nm (**Figura D5**, **Apêndice D**). Os coeficientes de absorção molar (extinção) diminuíram de 22,54 e 25,84 L g<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, respectivamente, na lignina não oxidada de folhas e colmos para 17,35 e 14,13 L g<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> nos seus análogos oxidados.

#### 5.3.2 Abordagens *bottom-up* e *top-down* para produzir LNPs

Duas metodologias distintas foram utilizadas para a conversão de lignina (não oxidada e oxidada) de folhas e colmos a LNPs. Conforme representação na **Figura 5.5**, o método *bottom-up* consistiu em adicionar água como anti-solvente a soluções de lignina em acetona. As LNPs auto-organizadas (SA-LNPs) foram recuperados com um rendimento de 93 ± 4% em relação à lignina de partida. Resultados equivalentes foram obtidos anteriormente para a lignina de folhas de capim elefante, 93 ± 3% (Trevisan & Rezende, 2020), e de biomassa de milho, 93 ± 6% (Camargos et al., 2019).

No método *top-down*, suspensões aquosas de lignina bruta nunca secas foram tratadas por ultrassonicação. As taxas de recuperação das US-LNPs aumentaram à medida que a incidência ultrassônica se prolongou. O tratamento por 15, 30 e 60 min resultou em rendimentos de 18  $\pm$  4%, 45  $\pm$  3% e 85  $\pm$  3%, respectivamente. O aumento do tempo de sonicação para 90 min proporcionou um rendimento de 90  $\pm$  2%, mas não foi investigado em profundidade, pois o modesto incremento da taxa de conversão não justificaria o gasto energético associado a tal procedimento.

A origem anatômica das plantas e o método de produção, bem como o grau de oxidação da lignina precursora conferiram diferentes aspectos visuais às dispersões de LNPs. As dispersões aquosas de SA-LNPs apresentaram coloração clara e amarelada (**Figura 5.2E, I**), enquanto as US-LNPs apresentaram tonalidade amarronzada (Figura 5.2F, J). Além disso, as dispersões de o-SA-LNPs e o-US-LNPs apresentaram cor mais clara do que seus análogos não oxidados. As LNPs oxidadas derivadas da lignina de folhas são mais esverdeadas (Figura 5.2G, H), ao passo que as LNPs oxidadas oriundas de colmos são mais amareladas (Figura 5.2K, L). Todas as dispersões exibiram efeito Tyndall, isto é, um feixe de laser sofreu espalhamento de luz ao passar através desses sistemas coloidais (Figura 5.2F, J). A cor da lignina e das LNPs não é um tópico frequentemente discutido na literatura, mas pode ter consequências importantes para as aplicações finais (como no caso dos revestimentos estudados nos capítulos 2 e 3 desta tese), sendo altamente dependente da origem anatômica e do grau de oxidação da lignina, como demonstrado aqui.



**Figura 5.5** Após a precipitação da lignina através da acidificação do licor alcalino do pré-tratamento de folhas ou colmos, duas metodologias distintas foram empregadas para a preparação de LNPs. (A) Na abordagem *bottom-up*, a suspensão aquosa de lignina precipitada foi filtrada e seca, resultando em lignina sólida, a qual foi solubilizada em acetona. Então, à solução de lignina foi adicionada água em excesso, resultando em uma dispersão aquosa de nanopartículas auto-organizadas (SA-LNPs). (B) Na abordagem *top-down*, a suspensão aquosa de lignina precipitada foi utilizada diretamente, sem qualquer etapa de secagem. A suspensão foi diluída e sonicada em ultrassom de ponteira por 15, 30 ou 60 min, resultando em dispersões aquosas de nanopartículas ultrassonicadas (US-LNPs).

#### 5.3.3 Morfologia das LNPs

Como mostrado pelas micrografias de SEM e AFM nas **Figuras 5.6**, **5.7**, **5.10A** e **D6** (**Apêndice D**), as nanoligninas auto-organizadas SA-LNPs e o-SA-LNPs apresentaram morfologia esférica característica (Beisl et al., 2017; H. Li et al., 2016; Xiong et al., 2017). Ademais, verificouse que a oxidação prévia da lignina não impediu que as macromoléculas se agregassem em nanoesferas.



**Figura 5.6** Imagens de (A) SEM e (B, C) AFM de amostras de SA-LNPs e o-SA-LNPs de folhas. Setas amarelas em (A) indicam buracos nas nanoesferas. Histogramas de distribuição de diâmetros obtidos por (D) SEM e (E, F) AFM (topografia). O diâmetro foi medido como a dimensão lateral por SEM e como a altura por AFM. Pelo menos 130 nanopartículas em 4 diferentes imagens foram medidas por técnica.



**Figura 5.7** Imagens de (A) SEM e (B, C) AFM de amostras de SA-LNPs e o-SA-LNPs de colmos. Setas amarelas em (A) indicam buracos nas nanoesferas. Histogramas de distribuição de diâmetros obtidos por (D) SEM e (E, F) AFM (topografia). O diâmetro foi medido como a dimensão lateral por SEM e como a altura por AFM. Pelo menos 130 nanopartículas em 4 diferentes imagens foram medidas por técnica.

Imagens de SEM (**Figuras 5.6A** e **5.7A**) indicam a presença de furos singulares na superfície de algumas das nanoesferas oriundas de folhas e colmos. Este é provavelmente um efeito da evaporação do solvente (água e acetona aprisionadas no interior das nanopartículas) sob alto vácuo durante o preparo de amostras e da ação do feixe a altas temperaturas durante

a análise de SEM. Xiong et al. (2017) atribuíram a existência de tais buracos ao efeito da projeção de solvente através da superfície de SA-LNPs quando essas são submetidas a temperaturas elevadas. De fato, esses buracos não foram observados nas imagens de AFM (**Figuras 5.6B, C** e **5.7B, C**). Nessa técnica, tanto o preparo da amostra quanto a aquisição das imagens são conduzidos em condições ambientais.

Todas as LNPs auto-organizadas apresentaram distribuição assimétrica de diâmetros (Figuras 5.6D–F e 5.7D–F). Para as SA-LNPs de folhas e colmos, os diâmetros médios determinados por SEM (Figuras 5.6D e 5.7D) e AFM (Figuras 5.6E e 5.7E) divergiram ligeiramente, uma vez que o tamanho foi medido como a largura por SEM e altura das nanoesferas por AFM. Ademais, enquanto os diâmetros das SA-LNPs de folhas e colmos foram muito semelhantes entre si, os diâmetros das o-SA-LNPs foram significativamente menores (Figuras 5.6F e 5.7F). O tamanho médio diminuiu de cerca de 50 nm nas SA-LNPs para cerca de 25 nm nas o-SA-LNPs. Esta diferença pode ser atribuída à clivagem da lignina após a oxidação, o que resultou em fragmentos macromoleculares menores (M<sub>w</sub> até 3000 g mol<sup>-1</sup> menor), os quais se auto-organizaram em nanoesferas menores. Especificamente para amostras de lignina de abeto, Pylypchuk et al. (2021) observaram uma tendência de aumento do tamanho de SA-LNPs diretamente relacionada a diminuições da M<sub>w</sub>, exceto para o caso de ligninas com massas molares mais elevadas. Frações de lignina com M<sub>w</sub> de 3080 g mol<sup>-1</sup> formaram SA-LNPs com tamanho médio de 80 nm, enquanto frações com M<sub>w</sub> de 6360 g mol<sup>-1</sup> formaram SA-LNPs com tamanho médio de cerca de 100 nm. Os autores também argumentaram que fragmentos macromoleculares com M<sub>w</sub> muito pequenas (~1000 g mol<sup>-1</sup>) possuem maior conteúdo de hidroxilas fenólicas, que favorecem o crescimento de nanopartículas maiores. Aqui, para além da diminuição da M<sub>w</sub> e da dispersidade da macromolécula, a oxidação da lignina pode ter conferido um efeito de carga associado à produção de o-SA-LNPs menores do que as SA-LNPs correspondentes, devido à introdução de grupos carbonila e ácido carboxílico.

Como mostrado pelas micrografias nas **Figuras 5.8**, **5.9** e **5.10B**, as nanoligninas ultrassonicadas US-LNPs e o-US-LNPs, apresentaram morfologia de micro/nanoagregados fragmentados, com um formato achatado e globular. Micrografias de SEM (**Figura D7**, **Apêndice D**) revelaram que, após 15 min de sonicação, ocorreu o descolamento de placas de lignina a partir de fragmentos maiores. Imagens de OM das ligninas em suspensão (sem qualquer etapa de secagem) evidenciaram que essa morfologia de camadas achatadas já estava presente nas

partículas micrométricas da lignina precipitada durante a acidificação do licor alcalino (Figura D8, Apêndice D). Tais observações sugerem que a cavitação e as colisões agregado-agregado provavelmente ditaram a redução do tamanho dos agregados de lignina através de um mecanismo mecânico semelhante à esfoliação, gerando partículas globulares/irregulares. Estudos anteriores também reportaram morfologia irregular para as nanopartículas obtidas por sonicação (Gilca et al., 2015; Gonzalez et al., 2017). Como mostrado pelas imagens de AFM (fase) (Figuras 5.10 e D9, D10, Apêndice D), em geral, a morfologia das US-LNPs é muito distinta da morfologia das SA-LNPs. Nas imagens de topografia (Figuras 5.8 e 5.9), verificou-se que a altura é menor do que a dimensão lateral para a maioria das partículas e/ou aglomerados observados. Portanto, a largura (dimensão lateral) foi medida como o diâmetro de todas as US-LNPs.

15 min foi tempo suficiente para reduzir a dimensão dos agregados de lignina de folhas e colmos à nanoescala, com tamanhos médios de cerca de 350 a 430 nm (Figuras 5.8A, E e 5.8A, E). Conforme o tempo de incidência aumentou, o diâmetro médio diminuiu e a homogeneidade morfológica aparente aumentou, especialmente no caso das US-LNPs de colmos (Figura D10, Apêndice D). Entretanto, o diâmetro médio e a distribuição de tamanhos das US-LNPs só mudaram significativamente quando o tempo de sonicação aumentou para 60 min (Figuras 5.6C, D e 5.7C, D). Então, os aglomerados de US-LNPs e o-US-LNPs apresentaram diâmetros significativamente menores (aproximadamente 170 a 230 nm) e distribuições de tamanho mais estreitas, com algumas partículas exibindo morfologia quase-esféricas, possivelmente em virtude da quebra exaustiva dos fragmentos de lignina, remanescendo as estruturas mais compactadas e menos agregadas (Figuras 5.6G, H e 5.7G, H). Resultado semelhante, com a redução da agregação interpartículas provocada pelo aumento do tempo de sonicação foi reportado anteriormente (Gonzalez et al., 2017).

Para averiguar se os nanoagregados globulares de lignina (US-LNPs) se originam realmente no processo de sonicação ou advêm do processo de secagem prévio à realização de microscopias, investigou-se o comportamento dos sistemas sonicados na presença de um surfactante. Sabendo que a lignina em suspensão aquosa apresenta potencial zeta bastante negativo, utilizou-se o SDS, um surfactante aniônico que, por meio de mecanismos eletrostáticos e estéricos, poderia evitar a formação de agregados durante a preparação e a análise das nanopartículas.



**Figura 5.8** (A–D) Imagens de AFM de amostras de US-LNPs e o-US-LNPs de folhas. (E–H) Histogramas de distribuição de diâmetros obtidos por AFM (topografia). Como as nanopartículas são achatadas (a altura é menor do que a largura das mesmas), o diâmetro foi medido como a dimensão lateral por AFM. Desse modo, pode haver nas medidas um erro associado à convolução da ponteira (raio de curvatura menor do que 8 nm). Pelo menos 130 nanopartículas foram medidas por amostra.



**Figura 5.9** (A–D) Imagens de AFM de amostras de US-LNPs e o-US-LNPs de colmos. (E–H) Histogramas de distribuição de diâmetros obtidos por AFM (topografia). Como as nanopartículas são achatadas (a altura é menor do que a largura das mesmas), o diâmetro foi medido como a dimensão lateral por AFM. Desse modo, pode haver nas medidas um erro associado à convolução da ponteira (raio de curvatura menor do que 8 nm). Pelo menos 130 nanopartículas foram medidas por amostra.

Na presença de SDS, os rendimentos de conversão da suspensão de lignina a US-LNPs foram de 71 ± 3%, 79 ± 3%, 85 ± 1% e 91 ± 2%, respectivamente em tratamentos ultrassônicos com duração de 15, 30, 60 e 90 min. Esse resultado sugere que, em certa medida e em tempos menores do que 30 min, o surfactante favoreceu a separação dos agregados em partículas menores e/ou evitou que tais partículas floculassem devido às colisões durante a sonicação. Em tempos maiores do que 30 min, os resultados foram muito semelhantes e a presença do SDS não influenciou significativamente o comportamento dos sistemas. A morfologia não sofreu grandes mudanças (**Figura D11**, **Apêndice D**) e não obstante os diâmetros médios das nanopartículas produzidas com SDS sejam menores (até 148 nm) do que os das US-LNPs produzidas na ausência de surfactante (até 180 nm), observou-se a presença de nanoagregados grandes em ambos os casos. Assim, existem indícios experimentais de que a morfologia observada para as US-LNPs é principalmente oriunda do método de produção.



**Figura 5.10** Imagens de AFM (fase) representativas, mostrando a morfologia de (A) SA-LNPs e (B) US-LNPs (15 min). Barras de escala: 200 nm.

Em oposição ao comportamento observado para as nanopartículas autoorganizadas, a oxidação prévia da lignina não causou diferença entre o diâmetro médio das US-LNPs e o-US-LNPs. No caso da auto-organização, os mecanismos de agregação e formação de nanoesferas dependem do tamanho e da química de superfície dos fragmentos macromoleculares de lignina que originarão as SA-LNPs e o-SA-LNPs, por isso as segundas foram menores do que as primeiras. No caso da ultrassonicação, os agregados formados durante a precipitação da lignina são simplesmente fragmentados mecanicamente. Por isso, os resultados desse processo dependem mais do tratamento ultrassônico e da conformação dos agregados em si, do que de fatores como tamanho das macromoléculas e química de superfície. Ademais, observou-se que na abordagem *top-down* foram produzidas partículas maiores do que pelo método *bottom-up*.

#### 5.3.4 Estabilidade coloidal das LNPs

A titulação condutimétrica de ácidos fracos indicou que todas as LNPs (oxidadas ou não) apresentavam maior conteúdo proporcional de grupos ionizáveis superficiais do que suas ligninas precursoras (**Figura 5.11**). Esse resultado é congruente com o aumento da área específica superficial resultante da conversão do material bruto a nanoestruturas. Além disso, a oxidação aumentou o conteúdo de grupos ionizáveis na superfície de 0,21 ± 0,05 mmol g<sup>-1</sup> de lignina de folhas e 0,16 ± 0,04 mmol g<sup>-1</sup> de lignina de colmos, respectivamente para 2,3 ± 0,1 mmol g<sup>-1</sup> e 3,0 ± 0,3 mmol g<sup>-1</sup> de ligninas oxidadas. Do mesmo modo, as o-SA-LNPs apresentaram a maior quantidade de grupos ionizáveis dentre as amostras, devido à exposição de grupos hidrofílicos (grupos funcionais hidroxila e ácido carboxílico) na superfície, durante a auto-organização, para interagir com a água (Österberg et al., 2020). A presença predominante de grupos hidroxila fenólicos na superfície também pode explicar o alto conteúdo de grupos ionizáveis mas SA-LNPs. Frações mais hidrofóbicas da lignina se agregam no interior das nanoesferas por interações aromáticas  $\pi$ – $\pi$  (Xiong et al., 2017), enquanto grupos funcionais mais hidrofílicos (como as hidroxilas fenólicas mencionadas) ficam expostos na superfície das nanoesferas (Beisl et al., 2017; Trevisan & Rezende, 2020).



**Figura 5.11** Conteúdo de grupos ionizáveis medido por titulação condutimétrica de suspensões aquosas de lignina bruta ou lignina oxidada, bem como de dispersões de LNPs e o-LNPs de folhas e colmos.

No caso das US-LNPs, o procedimento de cavitação aumentou a temperatura e pressão local do sistema, gerando espécies radicais de hidroxilas em meio aquoso na presença de ar (Gilca et al., 2015). Agustin et al. (2019) sugeriram que a ultrassonicação pode induzir mudanças na carga superficial de US-LNPs, expondo grupos carboxílicos ou fenólicos na superfície. Além disso, a irradiação ultrassônica pode causar a clivagem homolítica de ligações alquil-aril éter β-O-4, produzindo espécies reativas na superfície de nanopartículas (Seino et al., 2001). Portanto, a sonicação também aumentou o conteúdo de grupos ionizáveis nas US-LNPs, mas não contribuiu significativamente para a densidade de carga das o-US-LNPs, pois a lignina oxidada possuía de antemão uma grande quantidade de ácidos fracos na superfície.

Como confirmado pelas medições de potencial zeta e DLS, todas as LNPs apresentaram elevada estabilidade coloidal (**Figura 5.12**). Potenciais zeta mais negativos do que – 30 mV (Hiemenz & Rajagopalan, 1997) indicaram que as nanopartículas foram estabilizadas em água através da repulsão eletrostática da dupla camada difusa (Österberg et al., 2020) em uma ampla faixa de pH. Este mecanismo de estabilização é sensível ao pH do meio aquoso e geralmente prevalece apenas acima de pH 3, devido à protonação de grupos fenólicos e carboxílicos da lignina em condições de pH muito baixo (Duval & Lawoko, 2014). Aqui, a estabilização em termos de potencial zeta (com magnitude variável, mas sempre superior a  $|\pm 30|$  mV) e diâmetro hidrodinâmico médio das partículas estendeu-se na faixa de pH 5 a 10/11 para LNPs não oxidadas (**Figura 5.12A–D**). Comportamento semelhante foi reportado para SA-LNPs produzidas a partir de capim elefante (Trevisan & Rezende, 2020) e biomassa de milho (Camargos et al., 2019; Tian, Hu, Chandra, et al., 2017). Adicionalmente, as LNPs oxidadas, que apresentavam maior conteúdo de grupos ionizáveis na superfície, mostraram estabilidade coloidal na faixa de pH 4 a 12 (**Figura 5.12E–F**) e pH 3/4 a 11 (**Figura 5.12G–H**), respectivamente para o-SA-LNPs e o-US-LNPs.



**Figura 5.12** Diâmetro hidrodinâmico médio (eixo esquerdo) e potencial zeta (eixo direito) como uma função do pH (1–13) para amostras de diferentes LNPs e LNPs oxidadas de (A, C, E, G) folhas e (B, D, F, H) colmos.

#### 5.3.5 Atividade antioxidante das LNPs

A atividade antioxidante das ligninas de folhas e colmos ou de seus análogos oxidados em solução, bem como das LNPs em dispersão aquosa, foi avaliada por meio de um ensaio de supressão do radical DPPH. Em concentração fixa, as SA-LNPs e US-LNPs consumiram até 56% da quantidade inicial de DPPH• imediatamente ao início do experimento (**Figura 5.13**). Após 30 minutos, a atividade de supressão de DPPH• alcançou até 76%. Em contraste, as ligninas brutas em solução consumiram no máximo 7% do DPPH• imediatamente após o início do ensaio e 60% após 30 minutos. Como discutido no capítulo 2 (*item 2.3.4*, p. 66), a atividade antioxidante de SA-LNPs confinadas em filmes nanocompósitos foi de até 40%, evidenciando como a supressão de radicais se processa mediante o contato entre as espécies e é favorecida quando as nanopartículas estão livres em dispersão.



**Figura 5.13** % Supressão de DPPH• após 0, 16 e 30 min de contato com lignina ou lignina oxidada em solução e dispersões aquosas de LNPs e o-LNPs de (A) folhas e (B) colmos.

A oxidação reduziu drasticamente a capacidade antioxidante das ligninas de folhas e colmos em solução. A atividade de supressão de radical das ligninas oxidadas foi até oito vezes menor do que a de seus análogos não oxidados. Embora o-SA-LNPs e o-US-LNPs apresentassem maior atividade antioxidante do que as ligninas oxidadas em solução, esta propriedade foi até quatro vezes menor do que a das LNPs não oxidadas. Kaur et al. (2017) e Kaur & Uppal (2015) atribuíram comportamento similar à redução da quantidade proporcional de grupos hidroxila fenólicos na lignina após o processo de oxidação.

A capacidade da lignina de suprimir radicais livres depende de sua capacidade de gerar radicais fenoxil estáveis. Esta propriedade é comprometida na lignina oxidada devido à diminuição da concentração de grupos fenólicos e à presença de grupos carbonila conjugados que não contribuem para a estabilização da estrutura de ressonância (Kaur & Uppal, 2015). Ainda assim, a auto-organização e a sonicação, ao aumentaram a área de superfície específica e a exposição proporcional de grupos hidroxila e ácido carboxílico na superfície, provavelmente colaboraram para uma melhoria marginal da atividade de supressão de DPPH• das o-SA-LNPs e o-US-LNPs.

## 5.3.6 Capacidade fotoabsorvedora no UV das LNPs incorporadas em uma matriz de PVA

LNPs foram incorporados a uma matriz de PVA para formar filmes transparentes coloridos (Figura 5.14). Análises de DRS mostraram que a presença de LNPs não oxidadas ou oxidadas na concentração de 10% (m/m) aumentou a capacidade dos filmes poliméricos de absorver a radiação luminosa na região ultravioleta/visível (Figura 5.15). Além da transmitância quase zero em 200–300 nm, os filmes de PVA incorporados com LNPs apresentaram menor transmitância na faixa do visível do que o PVA puro.

Como observado para a atividade antioxidante, as SA-LNPs e US-LNPs de folhas e colmos conferiram maior capacidade de absorber a radiação UV aos filmes de PVA do que as o-SA-LNPs e o-US-LNPs. As LNPs oxidadas foram menos eficientes para blindar na faixa do UVA (320–400 nm). A lignina possui grupos funcionais cromóforos na região do UV, incluindo quinonas (grupos aromáticos) e grupos metoxila substituídos (Sadeghifar & Ragauskas, 2020), os quais provavelmente foram alterados durante o processo de oxidação. Além disso, grupos

funcionais insaturados, tais como carbonila conjugadas, anéis aromáticos e C=C, que também são cromóforos na faixa do visível (Sadeghifar & Ragauskas, 2020), são propensos a serem degradados durante a oxidação. Simultaneamente, as nanopartículas oxidadas geraram compósitos mais transparentes na região do visível do que os nanocompósitos incorporados com nanopartículas não oxidadas. Portanto, a oxidação mudou a coloração característica da lignina e promoveu a redução da sua capacidade de absorver a radiação UV.



**Figura 5.14** Fotografia sob luz visível de filmes autossustentados de PVA e compósitos de PVA incorporado com LNPs ou o-LNPs.



**Figura 5.15** Espectros de DRS mostrando a transmitância em função do comprimento de onda na faixa de 200–800 nm para os filmes autossustentados de PVA monocomponente e compósitos incorporado com LNPs ou o-LNPs.

#### 5.4 Panorama de resultados e conclusões

Os resultados centrais do estudo sobre as nanoestruturas de lignina foram compilados na **Tabela 5.1**. Foram elencadas as principais características das LNPs autoorganizadas e ultrassonicadas, oriundas de ligninas oxidadas ou não. O estudo evidenciou que a origem anatômica da lignina, para além da coloração e da massa molar da macromolécula em si, não influencia significativamente as propriedades das nanopartículas produzidas.

**Tabela 5.1** Compilação das características principais (diâmetro, D; conteúdo de grupos ionizáveis, IG; potencial zeta ( $\zeta$ ) em pH 7; atividade antioxidante após 60 min de ensaio, AA; absorbância em 280 nm, A<sub>280</sub>, e em 500 nm, A<sub>500</sub>, de filmes de PVA incorporados) das nanoligninas obtidas a partir de folhas e colmos de capim elefante. As US-LNPs consideradas foram obtidas após 60 min de ultrassonicação.

	Nanolignina	D/nm	IG/ mmol g <sup>-1</sup>	Potencial ζ/ mV	AA/ %	A <sub>280</sub> / %	A <sub>500</sub> / %
Folhas	SA-LNPs	50 ± 24	1,63 ± 0,18	$-46 \pm 6$	78 ± 0,2	2	70
	o-SA-LNPs	21 ± 11	4,99 ± 0,44	$-48 \pm 4$	17 ± 1	18	85
	US-LNPs	178 ± 91	1,87 ± 0,53	$-41 \pm 2$	76 ± 1	0,6	70
	o-US-LNPs	170 ± 60	2,37 ± 0,18	$-40 \pm 1$	26 ± 0,1	4	80
Colmos	SA-LNPs	52 ± 28	$1,60 \pm 0,10$	$-39 \pm 1$	82 ± 0,5	2	76
	o-SA-LNPs	25 ± 8	4,69 ± 0,02	$-34 \pm 3$	25 ± 0,2	6	82
	US-LNPs	228 ± 77	1,30 ± 0,10	- 32 ± 2	76 ± 1	0	61
	o-US-LNPs	214 ± 105	2,62 ± 0,50	- 45 ± 6	28 ± 1	3	81

A lignina nativa é um biopolímero altamente reticulado. Para removê-la, a estrutura da macromolécula é fragmentada, especialmente durante a etapa alcalina do pré-tratamento. Os fatores que mais afetam as propriedades de LNPs, assim, estão correlacionados às etapas de extração da lignina, existência ou não de funcionalização (oxidação) e procedimentos para conversão à nanoescala.

Comparativamente, nanoesferas foram obtidas pelo método *bottom-up* (baseado na adição de água como anti-solvente) com rendimentos maiores do que os agregados globulares/irregulares produzidos por ultrassonicação. As LNPs auto-organizadas foram menores e apresentaram mais grupos ionizáveis superficiais do que as LNPs ultrassonicadas. Ainda que todas as LNPs tenham apresentado maior densidade de carga e potencial zeta do que as ligninas brutas precursoras, a oxidação prévia foi determinante para a obtenção de nanopartículas com maior conteúdo de grupos ionizáveis. A oxidação, porém, implicou em redução da atividade antioxidante e do bloqueio UV das LNPs.

Considerando a regularidade, os menores tamanhos, as elevadas atividade antioxidante e capacidade de proteção UV, as SA-LNPs de folhas foram selecionadas e utilizadas nos nanocompósitos estudados nos capítulos 2 e 3 desta tese.

## Capítul<mark>o 6 - Perspectivas</mark>

Levando em conta as realizações abarcadas por esta tese, estão elencadas a seguir algumas perspectivas e sugestões para aprofundamento em trabalhos futuros:

- Escalonamento dos processos relativos à obtenção das nanoestruturas de celulose e lignina, bem como das formulações de revestimentos nanocompósitos;
- Avaliação das propriedades protetivas de nanocompósitos formulados com outras concentrações intermediárias de nanopartículas de lignina (entre 1 e 10% m/m), objetivando estabelecer um delineamento criterioso do balanço entre proteção (frente ao envelhecimento e à radiação UV) e cor/transparência dos revestimentos;
- Aplicação dos revestimentos nanocompósitos em substratos de média ou grande dimensão e em réplicas/artefatos, a fim de avaliar-se mais apuradamente a viabilidade do novo material para aplicações comerciais;
- Aplicação em substratos coloridos e/ou envelhecidos, a fim de avaliar-se a influência estética e protetiva dos revestimentos desenvolvidos em peças com características específicas;
- Reprodução dos processos de revestimento, utilizando-se nanoestruturas comerciais e/ou extraídas de outras biomassas, a fim de avaliar-se o comportamento de revestimentos formulados de modo equivalente;
- Substituição parcial da água por etanol, pleiteando-se a aplicação em substratos fragilizados e sensíveis à umidade;
- Investigação sistemática da interface e da adesão revestimento/substrato, a fim de entender o balanço coesivo/adesivo do tratamento desenvolvido;
- Avaliação da resistência dos revestimentos à abrasão;
- Avaliação sistemática do tempo de prateleira das formulações, pleiteando também a disponibilização comercial do revestimento sustentável introduzido aqui.

## Capítulo 7 - Conclusões gerais

Ao decorrer dos trabalhos realizados para a elaboração da presente tese, duas frentes principais de atuação foram abarcadas: (1) a obtenção de nanoceluloses e nanoligninas a partir de folhas e colmos de capim elefante; (2) a seleção e combinação de tais nanoestruturas em nanocompósitos, os quais foram aplicados como revestimentos protetivos em substratos celulósicos. Considerando os resultados apresentados, conclui-se que os objetivos prioritários e auxiliares do projeto de doutorado foram alcançados com êxito, culminando na preparação de novos materiais (revestimentos) de proteção em base aquosa.

As diferentes propriedades das nanoestruturas de celulose (morfologia, transparência, estabilidade coloidal, propriedades mecânicas de tração de filmes finos, entre outras) e de lignina (capacidade fotoabsorvedora no UV, atividade antioxidante, estabilidade coloidal, entre outras) contribuem para que, ao serem combinadas, resultem em revestimentos nanocompósitos sustentáveis muito adequados à proteção de superfícies, inclusive a superfície de bens culturais baseados em madeira, papel e tecido. De modo ainda mais marcante para o caso dos substratos de madeira, os revestimentos protetivos alteram pouco a cor, a apresentação estética, a topografia superficial e a permeabilidade ao vapor de água. Adicionalmente, tais revestimentos protegem os materiais revestidos frente à radiação UV, ao envelhecimento hidrotérmico e à ação direta da umidade. Muito compatíveis por compartilharem a mesma natureza química (celulose e lignina), substratos e revestimentos se aderem favoravelmente, ainda que o tratamento seja reversível, isto é, possa ser removido se necessário.

Finalmente, lançou-se luz sobre a potencialidade de se empregar nanoestruturas advindas de fontes renováveis para o desenvolvimento de materiais avançados destinados a aplicações de proteção. Convencionalmente, tais produtos são baseados em resinas sintéticas e/ou derivados do petróleo, implicando também no uso de solventes tóxicos. Consistindo em sistemas aquosos, os nanomateriais preparados possuem vantagens ambientais, econômicas e socioculturais, haja vista a valorização de resíduos e excedentes agroindustriais para a produção das nanoestruturas e a sua promissora destinação à proteção de bens culturais.

### Referências

- Abitbol, T., Kloser, E., & Gray, D. G. (2013). Estimation of the surface sulfur content of cellulose nanocrystals prepared by sulfuric acid hydrolysis. *Cellulose*, *20*(2), 785–794. https://doi.org/10.1007/s10570-013-9871-0
- Abitbol, T., Rivkin, A., Cao, Y., Nevo, Y., Abraham, E., Ben-Shalom, T., Lapidot, S., & Shoseyov, O. (2016). Nanocellulose, a tiny fiber with huge applications. *Current Opinion in Biotechnology*, *39*, 76–88. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.01.002
- Agilent Technologies. (2015). Polymer Molecular Weight Distribution and Definitions of MW Averages. In *Technical Overview*. www.agilent.com/chem/gpc-sec
- Ago, M., Tardy, B. L., Wang, L., Guo, J., Khakalo, A., & Rojas, O. J. (2017). Supramolecular assemblies of lignin into nano- and microparticles. *MRS Bulletin*, 42(5), 371–378. https://doi.org/10.1557/mrs.2017.88
- Agustin, M. B., Penttilä, P. A., Lahtinen, M., & Mikkonen, K. S. (2019). Rapid and Direct Preparation of Lignin Nanoparticles from Alkaline Pulping Liquor by Mild Ultrasonication. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 7(24), 19925–19934. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b05445
- Ahn, K., Zaccaron, S., Zwirchmayr, N. S., Hettegger, H., Hofinger, A., Bacher, M., Henniges, U., Hosoya, T., Potthast, A., & Rosenau, T. (2019). Yellowing and brightness reversion of celluloses: CO or COOH, who is the culprit? *Cellulose*, *26*(1), 429–444. https://doi.org/10.1007/s10570-018-2200-x
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). The plant cell wall. In *Molecular Biology of the Cell* (4th editio, p. 1616). Garland Science. https://doi.org/10.1111/jipb.12351
- Allegretti, O., & Raffaelli, F. (2009). External resistance to water vapour transfer of varnishes on wood. Wood Science for Conservation of Cultural Heritage, Florence 2007: Proceedings of the International Conference Held by COST Action IE0601 in Florence (Italy), 8-10 November 2007, 93– 99.
- Alzagameem, A., Khaldi-hansen, B. El, Büchner, D., Larkins, M., Kamm, B., Witzleben, S., & Schulze, M. (2018). Lignocellulosic Biomass as Source for Lignin-Based Environmentally Benign Antioxidants. *Molecules*, 23(2664). https://doi.org/10.3390/molecules23102664
- Antonelli, F., Galotta, G., Sidoti, G., Zikeli, F., Nisi, R., Davidde Petriaggi, B., & Romagnoli, M. (2020). Cellulose and Lignin Nano-Scale Consolidants for Waterlogged Archaeological Wood. *Frontiers in Chemistry*, *8*, 32. https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00032
- Anwar, Z., Gulfraz, M., & Irshad, M. (2014). Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7(2), 163– 173. https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.02.003
- Appelbaum, B. (1987). Criteria for treatment: Reversibility. *Journal of the American Institute for Conservation*, *26*(2), 65–73. https://doi.org/10.1179/019713687806027852

- ASTM. (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International. In *www.astm.org* (Vol. 14). https://doi.org/10.1520/D0882-18
- ASTM E96-00. (2002). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. https://reference.globalspec.com/standard/3806345/astm-e96-00
- Aulin, C., & Ström, G. (2013). Multilayered alkyd resin/nanocellulose coatings for use in renewable packaging solutions with a high level of moisture resistance. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, *52*(7), 2582–2589. https://doi.org/10.1021/ie301785a
- Baglioni, M., Rengstl, D., Berti, D., Bonini, M., Giorgi, R., & Baglioni, P. (2010). Removal of acrylic coatings from works of art by means of nanofluids: understanding the mechanism at the nanoscale. *Nanoscale*, *2*, 1723–1732. https://doi.org/10.1039/c0nr00255k
- Baglioni, P., Chelazzi, D., Giorgi, R., & Poggi, G. (2013). Colloid and materials science for the conservation of cultural heritage: Cleaning, consolidation, and deacidification. *Langmuir*, 29(FEBRUARY 2013), 5110–5122. https://doi.org/10.1021/la304456n
- Baglioni, P., & Giorgi, R. (2006). Soft and hard nanomaterials for restoration and conservation of cultural heritage. In *Soft Matter* (Vol. 2, Issue 4, pp. 293–303). https://doi.org/10.1039/b516442g
- Baglioni, P., Giorgi, R., & Chelazzi, D. (2012). Nano-Materials for the Conservation and Preservation of Movable and Immovable Artworks. In *International Journal of Heritage in the Digital Era* (Vol. 1, pp. 313–318). https://doi.org/10.1260/2047-4970.1.0.313
- Battista, A., Coppicic, S., Howsmon, J. A., Morehead, F. F., & Sisson, W. A. (1956). Level-Off Degree of Polymerization. Industrial & Engineering Chemistry, 48, 333–335. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/ie50554a046
- Beck, S., Méthot, M., & Bouchard, J. (2015). General procedure for determining cellulose nanocrystal sulfate half-ester content by conductometric titration. *Cellulose*, 22(1), 101–116. https://doi.org/10.1007/s10570-014-0513-y
- Bégin, P., Deschâtelets, S., Grattan, D., Gurnagul, N., Iraci, J., Kaminska, E., Woods, D., & Zou, X. (1998).
  The Impact of Lignin on Paper. Permanence A Comprehensive Study of the Ageing Behaviour of Handsheets and Commercial Paper Samples. *Restaurator*, 19, 135–154.
- Beisl, S., Miltner, A., & Friedl, A. (2017). Lignin from Micro- to Nanosize: Production Methods. *International Journal of Molecular Sciences, 18*(1244), 1–30. https://doi.org/10.3390/ijms18061244
- Bilbao-Sainz, C., Bras, J., Williams, T., Sénechal, T., & Orts, W. (2011). HPMC reinforced with different cellulose nano-particles. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1549–1557. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.060
- Boelsums, M., de Figueiredo Junior, J. C. D., & Cruz Souza, L. A. (2020). Low Toxicity Solvent Compositions for Varnishes Formulations for Use in Art Conservation. *Conservar Património*. https://doi.org/10.14568/cp2020041
- Brandi, C. (2008). Teoria da restauração (3ª). Ateliê Editorial.
- Brandt, A., Gräsvik, J., Hallett, J. P., & Welton, T. (2013). Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *Green Chemistry*, *15*(3), 550–583. https://doi.org/10.1039/c2gc36364j
- Bregado, J. L., Secchi, A. R., Tavares, F. W., de Sousa Rodrigues, D., & Gambetta, R. (2019). Amorphous paracrystalline structures from native crystalline cellulose: A molecular dynamics protocol. *Fluid Phase Equilibria*, 491, 56–76. https://doi.org/10.1016/j.fluid.2019.03.011
- Brown, R. M. (2004). Cellulose structure and biosynthesis: What is in store for the 21st century? *Journal* of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 42(3), 487–495. https://doi.org/10.1002/pola.10877
- Bruijnincx, P. C. A., Rinaldi, R., & Weckhuysen, B. M. (2015). Unlocking the potential of a sleeping giant: lignins as sustainable raw materials for renewable fuels, chemicals and materials. In *Green Chemistry* (Vol. 17, Issue 11, pp. 4860–4861). Royal Society of Chemistry. https://doi.org/10.1039/c5gc90055g
- Bukovský, V. (2000). The influence of light on ageing of newsprint paper. *Restaurator*, 21(2), 55–76. https://doi.org/10.1515/REST.2000.55
- Buxton, D. R., & Redfearn, D. D. (1997). Plant Limitations to Fiber Digestion and Utilization. *The Journal of Nutrition*, 127(5), 814S-818S. https://doi.org/10.1093/jn/127.5.814s
- Callister, W., & Rethwisch, D. (2007). Materials science and engineering: an introduction. In *Materials Science and Engineering* (7th ed., Vol. 94). John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1016/0025-5416(87)90343-0
- Camargos, C. H. M. (2016). Compósitos de Nanocristais e Nanofibrilas de Celulose: Preparação, Caracterização e Potenciais Aplicações em Processos de Restauração de Documentos e Obras de Arte sobre Papel. UFMG.
- Camargos, C. H. M., Figueiredo, J. C. D., & Pereira, F. V. (2017). Cellulose nanocrystal-based composite for restoration of lacunae on damaged documents and artworks on paper. *Journal of Cultural Heritage*, 23, 170–175. https://doi.org/10.1016/j.culher.2016.10.007
- Camargos, C. H. M., Figueiredo, J. C. D., & Pereira, F. V. (2016). Nanocellulose for conservation and restoration of graphic documents. *Experience and Evidence : , ICOM-CC Graphic Documents Working Group, Interim Meeting*, 14.
- Camargos, C. H. M., & Rezende, C. A. (2021a). Structure–Property Relationships of Cellulose Nanocrystals and Nanofibrils: Implications for the Design and Performance of Nanocomposites and All-Nanocellulose Systems. ACS Applied Nano Materials, 4(10), 10505–10518. https://doi.org/10.1021/acsanm.1c02008
- Camargos, C. H. M., & Rezende, C. A. (2021b). Antisolvent versus ultrasonication: Bottom-up and topdown approaches to produce lignin nanoparticles (LNPs) with tailored properties. *International Journal of Biological Macromolecules, 193,* 647–660. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.10.094
- Camargos, C. H. M., Silva, R. A. P., Csordas, Y., Silva, L. L., & Rezende, C. A. (2019). Experimentally designed corn biomass fractionation to obtain lignin nanoparticles and fermentable sugars. *Industrial Crops and Products*, *140*, 111649. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111649
- Cataldi, A., Dorigato, A., Deflorian, F., & Pegoretti, A. (2014a). Effect of the Water Sorption on the Mechanical Response of Microcrystalline Cellulose-Based Composites for Art Protection and Restoration. *Journal of Applied Polymer Science*, 40741, 1–6. https://doi.org/10.1002/app.40741

- Cataldi, A., Dorigato, A., Deflorian, F., & Pegoretti, A. (2014b). Thermo-mechanical properties of innovative microcrystalline cellulose filled composites for art protection and restoration. *Journal of Materials Science*, *49*, 2035–2044. https://doi.org/10.1007/s10853-013-7892-6
- Cerrutti, B. M., de Souza, C. S., Castellan, A., Ruggiero, R., & Frollini, E. (2012). Carboxymethyl lignin as stabilizing agent in aqueous ceramic suspensions. *Industrial Crops and Products*, *36*(1), 108–115. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.08.015
- Chauhan, P. S. (2020). Lignin nanoparticles: Eco-friendly and versatile tool for new era. *Bioresource Technology Reports*, 9. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100374
- Chen, L., Wang, Q., Hirth, K., Baez, C., Agarwal, U. P., & Zhu, J. Y. (2015). Tailoring the yield and characteristics of wood cellulose nanocrystals (CNC) using concentrated acid hydrolysis. *Cellulose*, *22*(3), 1753–1762. https://doi.org/10.1007/s10570-015-0615-1
- Chieng, B. W., Lee, S. H., Ibrahim, N. A., Then, Y. Y., & Loo, Y. Y. (2017). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from oil palm mesocarp fiber. *Polymers*. https://doi.org/10.3390/polym9080355
- Clare, T. L., & Swartz, N. A. (2015). Characterization of High Performance Protective Coatings for Use on Culturally Significant Works. In *Intelligent Coatings for Corrosion Control* (pp. 641–671). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411467-8.00019-2
- Cogulet, A., Blanchet, P., & Landry, V. (2016). Wood degradation under UV irradiation: A lignin characterization. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *158*, 184–191. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.02.030
- Coseri, S., Biliuta, G., Zemljič, L. F., Srndovic, J. S., Larsson, P. T., Strnad, S., Kreže, T., Naderi, A., & Lindström, T. (2015). One-shot carboxylation of microcrystalline cellulose in the presence of nitroxyl radicals and sodium periodate. *RSC Advances, 5*(104), 85889–85897. https://doi.org/10.1039/c5ra16183e
- Cotana, F., Cavalaglio, G., Nicolini, A., Gelosia, M., Coccia, V., Petrozzi, A., & Brinchi, L. (2014). Lignin as co-product of second generation bioethanol production from ligno-cellulosic biomass. *Energy Procedia*, *45*, 52–60. https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.01.007
- Crespo, C., & Viñas, V. (1985). The Preservation and Restoration of Paper Records and Books: A RAMP Study with Guidelines. Unesco.
- Csoka, L., Hoeger, I. C., Rojas, O. J., Peszlen, I., Pawlak, J. J., & Peralta, P. N. (2012). *Piezoelectric Effect of Cellulose Nanocrystals Thin Films*. https://doi.org/10.1021/mz300234a
- Cusola, O., Kivistö, S., Vierros, S., Batys, P., Ago, M., Tardy, B. L., Greca, L. G., Roncero, M. B., Sammalkorpi, M., & Rojas, O. J. (2018). Particulate Coatings via Evaporation-Induced Self-Assembly of Polydisperse Colloidal Lignin on Solid Interfaces. *Langmuir*, *34*(20), 5759–5771. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b00650
- Cusola, O., Rojas, O. J., & Roncero, M. B. (2019). Lignin Particles for Multifunctional Membranes, Antioxidative Microfiltration, Patterning, and 3D Structuring. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11(48), 45226–45236. https://doi.org/10.1021/acsami.9b16931

- da Silva, L. C. E., Cassago, A., Battirola, L. C., Gonçalves, M. do C., & Portugal, R. V. (2020). Specimen preparation optimization for size and morphology characterization of nanocellulose by TEM. *Cellulose*, *27*(9), 5435–5444. https://doi.org/10.1007/s10570-020-03116-7
- De Ferri, L., Lottici, P. P., Lorenzi, A., Montenero, A., & Vezzalini, G. (2013). Hybrid sol-gel based coatings for the protection of historical window glass. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, *66*(2), 253–263. https://doi.org/10.1007/s10971-013-3002-0
- Debeaufort, F., & Voilley, A. (1997). Methylcellulose-Based Edible Films and Coatings: 2. Mechanical and Thermal Properties as a Function of Plasticizer Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3), 685–689. https://doi.org/10.1021/jf9606621
- Ding, H. Z., & Wang, Z. D. (2007). Time Temperature superposition method for predicting the permanence of paper by extrapolating accelerated ageing data to ambient conditions. *Cellulose*, *14*, 171–181. https://doi.org/10.1007/s10570-007-9114-3
- Ding, S. Y., & Himmel, M. E. (2006). The maize primary cell wall microfibril: A new model derived from direct visualization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. https://doi.org/10.1021/jf051851z
- Domenek, S., Louaifi, A., Guinault, A., & Baumberger, S. (2013). Potential of Lignins as Antioxidant Additive in Active Biodegradable Packaging Materials. *Journal of Polymers and the Environment*, 21(3), 692–701. https://doi.org/10.1007/s10924-013-0570-6
- Donhowe, I. G., & Fennema, O. (1993). The effects of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of Food Processing and Preservation*, *17*(4), 247–257. https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1993.tb00729.x
- Dreyfuss-Deseigne, R. (2017). Nanocellulose Films in Art Conservation. *Journal of Paper Conservation*, *18*(1), 18–29. https://doi.org/10.1080/18680860.2017.1334422
- Du, H., Liu, W., Zhang, M., Si, C., Zhang, X., & Li, B. (2019). Cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils based hydrogels for biomedical applications. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 209, pp. 130–144). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.020
- Dufresne, A. (2012). Nanocellulose: From nature to high performance tailored materials. In *Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials*. https://doi.org/10.1515/hf-2013-0027
- Dunlop, M. J., Clemons, C., Reiner, R., Sabo, R., Agarwal, U. P., Bissessur, R., Sojoudiasli, H., Carreau, P. J., & Acharya, B. (2020). Towards the scalable isolation of cellulose nanocrystals from tunicates. *Scientific Reports*, 10(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-020-76144-9
- Dupont, A. L., Egasse, C., Morin, A., & Vasseur, F. (2007). Comprehensive characterisation of celluloseand lignocellulose-degradation products in aged papers: Capillary zone electrophoresis of lowmolar mass organic acids, carbohydrates, and aromatic lignin derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 68(1), 1–16. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.07.005
- Duval, A., & Lawoko, M. (2014). A review on lignin-based polymeric, micro- and nano-structured materials. *Reactive and Functional Polymers*, 85, 78–96. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.017

- El-Feky, O. M., Hassan, E. a., Fadel, S. M., & Hassan, M. L. (2014). Use of ZnO nanoparticles for protecting oil paintings on paper support against dirt, fungal attack, and UV aging. *Journal of Cultural Heritage*, *15*(2), 165–172. https://doi.org/10.1016/j.culher.2013.01.012
- Emsley, A., Heywood, R. J., Ali, M., & Eley, C. (1997). On the kinetics of degradation of cellulose. *Cellulose*, *4*(1), 1–5. https://doi.org/10.1023/A:1018408515574
- Espinosa, E., Bascón-Villegas, I., Rosal, A., Pérez-Rodríguez, F., Chinga-Carrasco, G., & Rodríguez, A. (2019). PVA/(ligno)nanocellulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 197–206. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.262
- Fan, J. S., & Li, Y. H. (2012). Maximizing the yield of nanocrystalline cellulose from cotton pulp fiber. *Carbohydrate Polymers*, *88*(4), 1184–1188. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.081
- Farooq, M., Tao, Z., Valle-Delgado, J. J., Sipponen, M. H., Morits, M., & Österberg, M. (2020). Well-Defined Lignin Model Films from Colloidal Lignin Particles. *Langmuir*, 36(51), 15592–15602. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c02970
- Farooq, M., Zou, T., Riviere, G., Sipponen, M. H., & Österberg, M. (2019). Strong, Ductile, and Waterproof Cellulose Nanofibril Composite Films with Colloidal Lignin Particles. *Biomacromolecules*, 20(2), 693–704. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b01364
- Feldman, D. (2016). Lignin nanocomposites. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 53(6), 382–387. https://doi.org/10.1080/10601325.2016.1166006
- Fellers, C., Iversen, T., Lindstrom, T., Nilsson, T., & Rigdahl, M. (1989). Ageing/degradation of paper, a literature survey. *FoU- Projektet for Papperskonservering*, 1.
- Feng, Y., Zhang, J., He, J., & Zhang, J. (2016). Transparent cellulose/polyhedral oligomeric silsesquioxane nanocomposites with enhanced UV-shielding properties. *Carbohydrate Polymers*, 147, 171–177. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.003
- Fernandes, M. R. C., Huang, X., Abbenhuis, H. C. L., & Hensen, E. J. M. (2019). Lignin oxidation with an organic peroxide and subsequent aromatic ring opening. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 1044–1051. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.105
- Figueiredo Junior, J. C. D. de. (2012). *Química aplicada à conservação e restauração de bens culturais móveis: uma introdução.* São Jerônimo.
- Figueiredo, P., Ferro, C., Kemell, M., Liu, Z., Kiriazis, A., Lintinen, K., Florindo, H. F., Yli-Kauhaluoma, J., Hirvonen, J., Kostiainen, M. A., & Santos, H. A. (2017). Functionalization of carboxylated lignin nanoparticles for targeted and pH-responsive delivery of anticancer drugs. *Nanomedicine*, 12(21), 2581–2596. https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0219
- Forney, C. F., & Brandl, D. G. (1992). Control of Humidity in Small Controlled-environment Chambers using Glycerol-Water Solutions. *HortTechnology*, 2(1), 52–54. https://doi.org/10.21273/horttech.2.1.52
- Fortunati, E., Puglia, D., Luzi, F., Santulli, C., Kenny, J. M., & Torre, L. (2013). Binary PVA bionanocomposites containing cellulose nanocrystals extracted from different natural sources: Part I. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 825–836. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.075

- Fortunati, E., Puglia, D., Monti, M., Peponi, L., Santulli, C., Kenny, J. M., & Torre, L. (2013). Extraction of Cellulose Nanocrystals from Phormium tenax Fibres. *Journal of Polymers and the Environment*, 21(2), 319–328. https://doi.org/10.1007/s10924-012-0543-1
- Foster, E. J., Moon, R. J., Agarwal, U. P., Bortner, M. J., Bras, J., Camarero-Espinosa, S., Chan, K. J., Clift, M. J. D., Cranston, E. D., Eichhorn, S. J., Fox, D. M., Hamad, W. Y., Heux, L., Jean, B., Korey, M., Nieh, W., Ong, K. J., Reid, M. S., Renneckar, S., ... Youngblood, J. (2018). Current characterization methods for cellulose nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 47(8), 2609–2679. https://doi.org/10.1039/c6cs00895j
- French, A. D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose*, *21*(2), 885–896. https://doi.org/10.1007/s10570-013-0030-4
- French, A. D. (2017). Glucose, not cellobiose, is the repeating unit of cellulose and why that is important. *Cellulose*, 24(11), 4605–4609. https://doi.org/10.1007/s10570-017-1450-3
- Froner, Y.-A., & Souza, L. A. C. S. (2008). Preservação de bens patrimoniais: conceitos e critérios. LACICOR - EBA - UFMG.
- Fukuzumi, H., Saito, T., & Isogai, A. (2013). Influence of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril length on film properties. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 172–177. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.069
- Fukuzumi, H., Saito, T., Iwata, T., Kumamoto, Y., & Isogai, A. (2009). Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation. *Biomacromolecules*, 10(1), 162–165. https://doi.org/10.1021/bm801065u
- Fukuzumi, H., Saito, T., Okita, Y., & Isogai, A. (2010). Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose.PolymerDegradationandStability,95,1502–1508.https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.015
- Furushima, Y., Schick, C., & Toda, A. (2018). Crystallization, recrystallization, and melting of polymer crystals on heating and cooling examined with fast scanning calorimetry. *Polymer Crystallization*, 1(2), e10005. https://doi.org/10.1002/PCR2.10005
- Gan, P. G., Sam, S. T., Abdullah, M. F. bin, & Omar, M. F. (2020). Thermal properties of nanocellulose-reinforced composites: A review. In *Journal of Applied Polymer Science* (Vol. 137, Issue 11, p. 48544). John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1002/app.48544
- Gao, W., & Fatehi, P. (2019). Lignin for polymer and nanoparticle production: Current status and challenges. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, *97*(11), 2827–2842. https://doi.org/10.1002/CJCE.23620
- Garusinghe, U. M., Varanasi, S., Raghuwanshi, V. S., Garnier, G., & Batchelor, W. (2018). Nanocellulosemontmorillonite composites of low water vapour permeability. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 540, 233–241. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.01.010
- Gilca, I. A., Popa, V. I., & Crestini, C. (2015). Obtaining lignin nanoparticles by sonication. *Ultrasonics* Sonochemistry, 23, 369–375. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.08.021

- Giorgi, R., Baglioni, M., Berti, D., & Baglioni, P. (2010). New Methodologies for the conservation of cultural heritage: Micellar solutions, microemulsions, and hydroxide nanoparticles. *Accounts of Chemical Research*, *43*(6), 695–704. https://doi.org/10.1021/ar900193h
- Giorgi, R., Dei, L., Ceccato, M., Schettino, C., & Baglioni, P. (2002). Nanotechnologies for conservation of cultural heritage: Paper and canvas deacidification. *Langmuir*, 18(7), 8198–8203. https://doi.org/10.1021/la025964d
- Glasser, W. G. (2019). About Making Lignin Great Again—Some Lessons From the Past. *Frontiers in Chemistry*, 7, 565. https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00565
- Gonzalez, M. N. G., Levi, M., Turri, S., & Griffini, G. (2017). Lignin nanoparticles by ultrasonication and their incorporation in waterborne polymer nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, *134*, 1–10. https://doi.org/10.1002/app.45318
- Guo, S., Li, X., Kuang, Y., Liao, J., Liu, K., Li, J., Mo, L., He, S., Zhu, W., Song, J., Song, T., & Rojas, O. J. (2021). Residual lignin in cellulose nanofibrils enhances the interfacial stabilization of Pickering emulsions. *Carbohydrate Polymers*, 253, 117223. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117223
- Guo, Z., Sparks, L. E., Tichenor, B. A., & Chang, J. C. S. (1998). Predicting the emissions of individual VOCs from petroleum-based indoor coatings. *Atmospheric Environment*, *32*(2), 231–237. https://doi.org/10.1016/S1352-2310(96)00353-6
- Habibi, Y., Lucia, L. a., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and<br/>applications.*ChemicalReviews*,110,3479–3500.https://doi.org/https://doi.org/10.1021/cr900339w
- Halloin, J. M. (1982). LOCALIZATION AND CHANGES IN CATECHIN AND TANNINS DURING DEVELOPMENT AND RIPENING OF COTTONSEED. *New Phytologist*, *90*(4), 651–657. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1982.tb03274.x
- Hambardzumyan, A., Foulon, L., Chabbert, B., & Aguié-Béghin, V. (2012). Natural organic UV-absorbent coatings based on cellulose and lignin: Designed effects on spectroscopic properties. *Biomacromolecules*, *13*(12), 4081–4088. https://doi.org/10.1021/bm301373b
- Hamed, S. A. A. K. M., & Hassan, M. L. (2018). A new mixture of hydroxypropyl cellulose and nanocellulose for wood consolidation. *Journal of Cultural Heritage*. https://doi.org/10.1016/j.culher.2018.07.001
- Hammouda, B. (2013). Temperature Effect on the Nanostructure of SDS Micelles in Water. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*, 118, 151. https://doi.org/10.6028/JRES.118.008
- Hatfield, R. D., Rancour, D. M., & Marita, J. M. (2017). Grass cell walls: A story of cross-linking. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 2056. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02056
- He, W., Gao, W., & Fatehi, P. (2017). Oxidation of Kraft Lignin with Hydrogen Peroxide and its Application as a Dispersant for Kaolin Suspensions. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 5(11), 10597– 10605. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b02582

- He, X., Luzi, F., Hao, X., Yang, W., Torre, L., Xiao, Z., Xie, Y., & Puglia, D. (2019). Thermal, antioxidant and swelling behaviour of transparent polyvinyl (alcohol) films in presence of hydrophobic citric acidmodified lignin nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 127, 665–676. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.202
- Henn, A., & Mattinen, M. L. (2019). Chemo-enzymatically prepared lignin nanoparticles for value-added applications. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 35, Issue 8, pp. 125–126). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/s11274-019-2697-7
- Henriksson, M., Berglund, L. A., Isaksson, P., Lindström, T., & Nishino, T. (2008). Cellulose nanopaper structures of high toughness. *Biomacromolecules*, *9*(6), 1579–1585. https://doi.org/10.1021/bm800038n
- Hergert, H. L. (1960). Infrared Spectra of Lignin and Related Compounds. II. Conifer Lignin and Model Compounds1,2. *Journal of Organic Chemistry*. https://doi.org/10.1021/jo01073a026
- Herrera, M. A., Sirviö, J. A., Mathew, A. P., & Oksman, K. (2016). Environmental friendly and sustainable gas barrier on porous materials: Nanocellulose coatings prepared using spin- and dip-coating. *Materials and Design*, *93*, 19–25. https://doi.org/10.1016/j.matdes.2015.12.127
- Hiemenz, P. C., & Rajagopalan, R. (1997). *Principles of Colloid and Surface Chemistry* (p. 650). CRC Press. https://doi.org/10.1016/0021-9797(79)90045-6
- Himmel, M. E., Ding, S. Y., Johnson, D. K., Adney, W. S., Nimlos, M. R., Brady, J. W., & Foust, T. D. (2007).
  Biomass recalcitrance: Engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science*, 315(5813), 804–807. https://doi.org/10.1126/science.1137016
- Hölling, H. (2017). The technique of conservation: on realms of theory and cultures of practice. *Journal of the Institute of Conservation*, 40(2), 87–96. https://doi.org/10.1080/19455224.2017.1322114
- Huang, J., Fu, S., & Gan, L. (2019). Lignin chemistry and applications. In *Lignin Chemistry and Applications*. https://doi.org/10.1016/C2016-0-04708-3
- Iravani, S., & Varma, R. S. (2020). Greener synthesis of lignin nanoparticles and their applications. *Green Chemistry*, 22(3), 612–636. https://doi.org/10.1039/c9gc02835h
- ISO 4618. (2014). Paints and varnishes Terms and definitions. https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:4618:ed-1:v1:en
- ISO 5351. (2010). Pulps Determination of limiting viscosity number in cupri-ethylenediamine (CED) solution. 1199(50), 23. https://www.iso.org/standard/51093.html
- ISO 5630-2. (1985). Paper and board Accelerated ageing. Part 2: Moist heat treatment at 90 °C and 25% relative humidity. https://www.iso.org/standard/11710.html
- Isogai, A., & Saito, T. (2015). US 8992728 B2 Cellulose nanofiber, production method of same and cellulose nanofiber dispersion. https://patents.google.com/patent/US8992728B2/en
- Isogai, A., Saito, T., & Fukuzumi, H. (2011). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, *3*(1), 71–85. https://doi.org/10.1039/c0nr00583e
- Isogai, A., & Zhou, Y. (2019). Diverse nanocelluloses prepared from TEMPO-oxidized wood cellulose fibers: Nanonetworks, nanofibers, and nanocrystals. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, *23*(2), 101–106. https://doi.org/10.1016/j.cossms.2019.01.001

- Isogai, T., Saito, T., & Isogai, A. (2011). Wood cellulose nanofibrils prepared by TEMPO electro-mediated oxidation. *Cellulose*, *18*(2), 421–431. https://doi.org/10.1007/s10570-010-9484-9
- IUPAC. (2019). The IUPAC Compendium of Chemical Terminology. In *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). https://doi.org/10.1351/goldbook
- Ivanov, V. I., Lenshina, N. Y., & Ivanova, V. S. (1961). Oxidative transformations in cellulose molecules. *Journal of Polymer Science*, *53*(158), 93–97. https://doi.org/10.1002/pol.12005315814
- Jackson, J. C., Camargos, C. H. M., Noronha, V. T., Paula, A. J., Rezende, C. A., & Faria, A. F. (2021). Sustainable Cellulose Nanocrystals for Improved Antimicrobial Properties of Thin Film Composite Membranes. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 9(19), 6534–6540. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c02389
- Jiang, C., He, H., Jiang, H., Ma, L., & Jia, D. M. (2013). Nano-lignin filled natural rubber composites: Preparation and characterization. *Express Polymer Letters*, 7(5), 480–493. https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2013.44
- Jiang, C., He, H., Yu, P., Wang, D. K., Zhou, L., & Jia, D. M. (2014). *Plane-interface-induced lignin-based nanosheets and its reinforcing effect on styrene-butadiene rubber*. *8*(9), 619–634. https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2014.66
- Jin, S. A., Facchine, E. G., Rojas, O. J., Khan, S. A., & Spontak, R. J. (2021). Cellulose nanofibers and the film-formation dilemma: Drying temperature and tunable optical, mechanical and wetting properties of nanocomposite films composed of waterborne sulfopolyesters. *Journal of Colloid and Interface Science*, *598*, 369–378. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.04.032
- Jung, S. J., Lee, S. J., Cho, W. J., & Ha, C. S. (1998). Synthesis and properties of UV-curable waterborne unsaturated polyester for wood coating. *Journal of Applied Polymer Science*, *69*(4), 695–708. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4628(19980725)69:4<695::aid-app8>3.0.co;2-e
- Kai, D., Tan, M. J., Chee, P. L., Chua, Y. K., Yap, Y. L., & Loh, X. J. (2016). Towards lignin-based functional materials in a sustainable world. *Green Chemistry*, 18(5), 1175–1200. https://doi.org/10.1039/c5gc02616d
- Kalashnikova, I., Bizot, H., Cathala, B., & Capron, I. (2012). Modulation of cellulose nanocrystals amphiphilic properties to stabilize oil/water interface. *Biomacromolecules*, *13*(1), 267–275. https://doi.org/10.1021/bm201599j
- Kassab, Z., Syafri, E., Tamraoui, Y., Hannache, H., Qaiss, A. E. K., & El Achaby, M. (2020). Characteristics of sulfated and carboxylated cellulose nanocrystals extracted from Juncus plant stems. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 1419–1425. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.023
- Kato, K. L., & Cameron, R. E. (1999). A review of the relationship between thermally-accelerated ageing of paper and hornification. *Cellulose*, *6*(1), 23–40. https://doi.org/10.1023/A:1009292120151
- Kaur, R., & Uppal, S. K. (2015). Structural characterization and antioxidant activity of lignin from sugarcane bagasse. *Colloid and Polymer Science*, 293(9), 2585–2592. https://doi.org/10.1007/s00396-015-3653-1

- Kaur, R., Uppal, S. K., & Sharma, P. (2017). Antioxidant and Antibacterial Activities of Sugarcane Bagasse Lignin and Chemically Modified Lignins. *Sugar Tech 2017 19:6*, *19*(6), 675–680. https://doi.org/10.1007/S12355-017-0513-Y
- Kim, D., Cheon, J., Kim, J., Hwang, D., Hong, I., Kwon, O. H., Park, W. H., & Cho, D. (2017). Extraction and characterization of lignin from black liquor and preparation of biomass-based activated carbon there- from. *Carbon Letters*, 22, 81–88. https://doi.org/10.5714/CL.2017.22.081
- Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., & Dorris, A. (2011). Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(24), 5438–5466. https://doi.org/10.1002/anie.201001273
- Kluge, M., Veigel, S., Pinkl, S., Henniges, U., Zollfrank, C., Rössler, A., & Gindl-Altmutter, W. (2017). Nanocellulosic fillers for waterborne wood coatings: reinforcement effect on free-standing coating films. *Wood Science and Technology*, *51*(3), 601–613. https://doi.org/10.1007/s00226-017-0892y
- Kolman, K., Nechyporchuk, O., Persson, M., Holmberg, K., & Bordes, R. (2018). Combined Nanocellulose/Nanosilica Approach for Multiscale Consolidation of Painting Canvases. ACS Applied Nano Materials, 1(5), 2036–2040. https://doi.org/10.1021/acsanm.8b00262
- Kubicki, J. D., Yang, H., Sawada, D., O'Neill, H., Oehme, D., & Cosgrove, D. (2018). The Shape of Native Plant Cellulose Microfibrils. *Scientific Reports*, 8(1), 13983. https://doi.org/10.1038/s41598-018-32211-w
- Kupczak, A., Bratasz, Ł., Kryściak-Czerwenka, J., & Kozłowski, R. (2018). Moisture sorption and diffusion in historical cellulose-based materials. *Cellulose*, 25(5), 2873–2884. https://doi.org/10.1007/s10570-018-1772-9
- Kvien, I., & Oksman, K. (2007). Orientation of cellulose nanowhiskers in polyvinyl alcohol. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, *87*(4), 641–643. https://doi.org/10.1007/s00339-007-3882-3
- La Russa, M. F., Ruffolo, S. a., Rovella, N., Belfiore, C. M., Palermo, A. M., Guzzi, M. T., & Crisci, G. M. (2012). Multifunctional TiO2 coatings for Cultural Heritage. *Progress in Organic Coatings*, 74, 186– 191. https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2011.12.008
- Lähdetie, A., Liitiä, T., Tamminen, T., & Jääskeläinen, A. (2009). Reflectance UV-Vis and UV resonance Raman spectroscopy in characterization of kraft pulps. *BioResources*, *4*, 1600–1619. https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/viewFile/BioRes\_04\_4\_1600\_Lahdetie\_LTJ\_Re flec\_UV\_Vis\_Raman\_Spec\_kraft\_pulps/464
- Laskin, J., Laskin, A., Nizkorodov, S. A., Roach, P., Eckert, P., Gilles, M. K., Wang, B., Lee, H. J., & Hu, Q. (2014). Molecular selectivity of brown carbon chromophores. *Environmental Science and Technology*, *48*(20), 12047–12055. https://doi.org/10.1021/es503432r
- Lattuati-Derieux, A., Bonnassies-Termes, S., & Lavédrine, B. (2006). Characterisation of compounds emitted during natural and artificial ageing of a book. Use of headspace-solid-phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Cultural Heritage*, 7, 123– 133. https://doi.org/10.1016/j.culher.2006.02.004

- Lavoine, N., Bras, J., Saito, T., & Isogai, A. (2016). Improvement of the Thermal Stability of TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibrils by Heat-Induced Conversion of Ionic Bonds to Amide Bonds. *Macromolecular Rapid Communications, 37*(13), 1033–1039. https://doi.org/10.1002/marc.201600186
- Lavoine, N., Desloges, I., Dufresne, A., & Bras, J. (2012). Microfibrillated cellulose Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 90, Issue 2, pp. 735–764). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.026
- Li, F., Biagioni, P., Bollani, M., Maccagnan, A., & Piergiovanni, L. (2013). Multi-functional coating of cellulose nanocrystals for flexible packaging applications. *Cellulose*, 20(5), 2491–2504. https://doi.org/10.1007/s10570-013-0015-3
- Li, H., Deng, Y., Liang, J., Dai, Y., Liu, B., Ren, Y., Qiu, X., & Li, C. (2016). Direct preparation of hollow nanospheres with kraft lignin: A facile strategy for effective utilization of biomass waste. *BioResources*, *11*(2), 3073–3083. https://doi.org/10.15376/biores.11.2.3073-3083
- Lievonen, M., Valle-Delgado, J. J., Mattinen, M.-L., Hult, E.-L., Lintinen, K., Kostiainen, M. a., Paananen, A., Szilvay, G. R., Setälä, H., & Österberg, M. (2016). A simple process for lignin nanoparticle preparation. *Green Chem.*, *18*, 1416–1422. https://doi.org/10.1039/C5GC01436K
- Lin, N., Bruzzese, C., & Dufresne, A. (2012). TEMPO-oxidized nanocellulose participating as crosslinking aid for alginate-based sponges. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4(9), 4948–4959. https://doi.org/10.1021/am301325r
- Lintinen, K., Xiao, Y., Bangalore Ashok, R., Leskinen, T., Sakarinen, E., Sipponen, M., Muhammad, F., Oinas, P., Österberg, M., & Kostiainen, M. (2018). Closed cycle production of concentrated and dry redispersible colloidal lignin particles with a three solvent polarity exchange method. *Green Chemistry*, 20(4), 843–850. https://doi.org/10.1039/c7gc03465b
- Lionetto, F., Del Sole, R., Cannoletta, D., Vasapollo, G., & Maffezzoli, A. (2012). Monitoring Wood Degradation during Weathering by Cellulose Crystallinity. *Materials*, *5*(10), 1910–1922. https://doi.org/10.3390/ma5101910
- Liu, C., Li, M. C., Chen, W., Huang, R., Hong, S., Wu, Q., & Mei, C. (2020). Production of lignin-containing cellulose nanofibers using deep eutectic solvents for UV-absorbing polymer reinforcement. *Carbohydrate Polymers, 246*, 116548. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116548
- Liu, H., Gao, S. W., Cai, J. S., He, C. L., Mao, J. J., Zhu, T. X., Chen, Z., Huang, J. Y., Meng, K., Zhang, K. Q., Al-Deyab, S. S., & Lai, Y. K. (2016). Recent progress in fabrication and applications of superhydrophobic coating on cellulose-based substrates. In *Materials* (Vol. 9, Issue 3, pp. 86–512). https://doi.org/10.3390/ma9030124
- Łojewski, T., Zięba, K., Knapik, A., Bagniuk, J., Lubańska, A., & Łojewska, J. (2010). Evaluating paper degradation progress. Cross-linking between chromatographic, spectroscopic and chemical results. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 100(3), 809–821. https://doi.org/10.1007/s00339-010-5657-5
- Lozhechnikova, A., Bellanger, H., Michen, B., Burgert, I., & Österberg, M. (2017). Surfactant-free carnauba wax dispersion and its use for layer-by-layer assembled protective surface coatings on wood. *Applied Surface Science*, *396*, 1273–1281. https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.11.132

- Luzi, F., Puglia, D., Sarasini, F., Tirillò, J., Maffei, G., Zuorro, A., Lavecchia, R., Kenny, J. M., & Torre, L. (2019). Valorization and extraction of cellulose nanocrystals from North African grass: Ampelodesmos mauritanicus (Diss). *Carbohydrate Polymers*, 209, 328–337. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.048
- Małachowska, E., Dubowik, M., Boruszewski, P., Łojewska, J., & Przybysz, P. (2020). Influence of lignin content in cellulose pulp on paper durability. *Scientific Reports*, *10*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-77101-2
- Manso, M., & Carvalho, M. L. (2009). Application of spectroscopic techniques for the study of paper documents: A survey. *Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy*, *64*(6), 482–490. https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.01.009
- Mariano, M., El Kissi, N., & Dufresne, A. (2014). Cellulose nanocrystals and related nanocomposites: Review of some properties and challenges. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, *52*(12), 791–806. https://doi.org/10.1002/polb.23490
- Matsakas, L., Gerber, M., Yu, L., Rova, U., & Christakopoulos, P. (2020). Preparation of low carbon impact lignin nanoparticles with controllable size by using different strategies for particles recovery. *Industrial Crops and Products*, *147*, 112243. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112243
- Matsuo, M., Yokoyama, M., Umemura, K., Sugiyama, J., Kawai, S., Gril, J., Kubodera, S., Mitsutani, T., Ozaki, H., Sakamoto, M., & Imamura, M. (2011). Aging of wood: Analysis of color changes during natural aging and heat treatment. *Holzforschung*, 65(3), 361–368. https://doi.org/10.1515/HF.2011.040
- Matsuoka, S., Kawamoto, H., & Saka, S. (2011). Thermal glycosylation and degradation reactions occurring at the reducing ends of cellulose during low-temperature pyrolysis. *Carbohydrate Research*, 346(2), 272–279. https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.10.018
- Matsuoka, S., Kawamoto, H., & Saka, S. (2016). Reactivity of cellulose reducing end in pyrolysis as studied by methyl glucoside-impregnation. *Carbohydrate Research*, 420, 46–50. https://doi.org/10.1016/j.carres.2015.11.010
- Mattinen, M. L., Riviere, G., Henn, A., Nugroho, R., Leskinen, T., Nivala, O., Valle-Delgado, J., Kostiainen, M., & Österberg, M. (2018). Colloidal Lignin Particles as Adhesives for Soft Materials. Nanomaterials, 8(12), 1001. https://doi.org/10.3390/nano8121001
- Mattinen, M. L., Valle-Delgado, J. J., Leskinen, T., Anttila, T., Riviere, G., Sipponen, M., Paananen, A., Lintinen, K., Kostiainen, M., & Österberg, M. (2018). Enzymatically and chemically oxidized lignin nanoparticles for biomaterial applications. *Enzyme and Microbial Technology*, 111, 48–56. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.01.005
- Maverakis, E., Miyamura, Y., Bowen, M. P., Correa, G., Ono, Y., & Goodarzi, H. (2010). Light, including ultraviolet. *Journal of Autoimmunity*, *34*(3), J247. https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.11.011
- Medronho, B., Romano, A., Miguel, M. G., Stigsson, L., & Lindman, B. (2012). Rationalizing cellulose (in)solubility: Reviewing basic physicochemical aspects and role of hydrophobic interactions. *Cellulose*, *19*(3), 581–587. https://doi.org/10.1007/s10570-011-9644-6
- Melro, E., Alves, L., Antunes, F. E., & Medronho, B. (2018). A brief overview on lignin dissolution. In Journal of Molecular Liquids (Vol. 265, pp. 578–584). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.06.021

- Mičič, M., Jeremič, M., Radotič, K., Mavers, M., & Leblanc, R. M. (2000). Visualization of artificial lignin supramolecular structures. *Scanning*, *22*(5), 288–294. https://doi.org/10.1002/sca.4950220503
- Milanovic, J., Levic, S., Manojlovic, V., Nedovic, V., & Bugarski, B. (2011). Carnauba wax microparticles produced by melt dispersion technique. *Chemical Papers*, *65*(2), 213–220. https://doi.org/10.2478/s11696-011-0001-x
- Mishra, P. K., & Ekielski, A. (2019). The self-assembly of lignin and its application in nanoparticle synthesis: A short review. In *Nanomaterials* (Vol. 9, Issue 2). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/nano9020243
- Mishra, S. P., Manent, A. S., Chabot, B., & Daneault, C. (2012). The use of sodium chlorite in postoxidation of TEMPO-oxidized pulp: Effect on pulp characteristics and nanocellulose yield. *Journal of Wood Chemistry and Technology, 32*(2), 137–148. https://doi.org/10.1080/02773813.2011.624666
- Mo, W., Ke, K., Shen, X., & Li, B. (2020). The influence of "thermal drying pretreatment" on enzymatic hydrolysis of cellulose and xylan in poplar fibers with high lignin content. *Carbohydrate Polymers*, *228*(June 2019). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115400
- Mokrzycki, W. S., & Tatol, M. (2011). Color difference ΔE A survey. *Machine Graphics and Vision*, 20(4), 383–411.
- Montanari, S., Roumani, M., Heux, L., & Vignon, M. R. (2005). Topochemistry of carboxylated cellulose nanocrystals resulting from TEMPO-mediated oxidation. *Macromolecules*, *38*(5), 1665–1671. https://doi.org/10.1021/ma048396c
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., & Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, *40*, 3941–3994. https://doi.org/https://doi.org/10.1039/C0CS00108B
- Moreira-Vilar, F. C., Rdc, S.-S., Finger-Teixeira, A., Dmd, O., & Ferro, A. P. (2014). The Acetyl Bromide Method Is Faster, Simpler and Presents Best Recovery of Lignin in Different Herbaceous Tissues than Klason and Thioglycolic Acid Methods. *PLoS ONE*, *9*(10), 110000. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110000
- Muñoz Viñas, S. (2018). La restauración del papel. Editorial Tecnos.
- Nair, S. S., Sharma, S., Pu, Y., Sun, Q., Pan, S., Zhu, J. Y., Deng, Y., & Ragauskas, A. J. (2014). High Shear Homogenization of Lignin to Nanolignin and Thermal Stability of Nanolignin-Polyvinyl Alcohol Blends. *ChemSusChem*, 37996(12), 3513–3520. https://doi.org/10.1002/cssc.201402314
- Nascimento, S. A., & Rezende, C. A. (2018). Combined approaches to obtain cellulose nanocrystals, nanofibrils and fermentable sugars from elephant grass. *Carbohydrate Polymers*, *180*(August 2017), 38–45. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.099
- Natterodt, J. C., Sapkota, J., Foster, E. J., & Weder, C. (2017). Polymer Nanocomposites with Cellulose Nanocrystals Featuring Adaptive Surface Groups. *Biomacromolecules*, *18*(2), 517–525. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01639
- Nechyporchuk, O., Belgacem, M. N., & Bras, J. (2016). Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. In *Industrial Crops and Products* (Vol. 93, pp. 2–25). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.016

- Nechyporchuk, O., Kolman, K., Bridarolli, A., Odlyha, M., Bozec, L., Oriola, M., Campo-Francés, G., Persson, M., Holmberg, K., & Bordes, R. (2018). On the potential of using nanocellulose for consolidation of painting canvases. *Carbohydrate Polymers*, 194, 161–169. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.020
- Needles, H. L., & Nowak, K. C. J. (1990). Heat-induced ageing of linen. ACS Symp. Ser. 1988. Hist. Text. Pap. Mater. 2, 410, 159–167. https://doi.org/10.1021/bk-1989-0410.ch011
- Nikolic, M., Lawther, J. M., & Sanadi, A. R. (2015). Use of nanofillers in wood coatings: a scientific review. *Journal of Coatings Technology and Research*, *12*(3), 445–461. https://doi.org/10.1007/s11998-015-9659-2
- Noishiki, Y., Nishiyama, Y., Wada, M., Kuga, S., & Magoshi, J. (2002). Mechanical properties of silk fibroinmicrocrystalline cellulose composite films. *Journal of Applied Polymer Science*, *86*(13), 3425–3429. https://doi.org/10.1002/app.11370
- Noronha, C. M., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., & Barreto, P. L. M. (2014). Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α-tocopherol nanocapsules. *Food Chemistry*, *159*, 529–535. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.02.159
- Noronha, V. T., Camargos, C. H. M., Jackson, J. C., Souza Filho, A. G., Paula, A. J., Rezende, C. A., & Faria,
  A. F. (2021). Physical Membrane-Stress-Mediated Antimicrobial Properties of Cellulose
  Nanocrystals. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 9, 3203–3212.
  https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c08317
- Nuruddin, M., Chowdhury, R. A., Szeto, R., Howarter, J. A., Erk, K. A., Szczepanski, C. R., & Youngblood, J. P. (2021). Structure-Property Relationship of Cellulose Nanocrystal-Polyvinyl Alcohol Thin Films for High Barrier Coating Applications. ACS Applied Materials and Interfaces, 13(10), 12472–12482. https://doi.org/10.1021/acsami.0c21525
- Okahashi, K., Takeuchi, M., Zhou, Y., Ono, Y., Fujisawa, S., Saito, T., & Isogai, A. (2021). Nanocellulosecontaining cellulose ether composite films prepared from aqueous mixtures by casting and drying method. *Cellulose*, 1–15. https://doi.org/10.1007/s10570-021-03897-5
- 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. https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2006.03.002
- Olaru, A., Leon, A. L., Geba, M., Ursescu, M. C., Lisă, G., & Ciovica, S. (2013). Changes in cellulosic materials from heritage textiles during ageing treatments. *European Journal of Science and Theology*, 9(6), 179–187.
- Österberg, M., Sipponen, M. H., Mattos, B. D., & Rojas, O. J. (2020). Spherical lignin particles: A review on their sustainability and applications. In *Green Chemistry* (Vol. 22, Issue 9, pp. 2712–2733). Royal Society of Chemistry. https://doi.org/10.1039/d0gc00096e
- Österberg, M., Vartiainen, J., Lucenius, J., Hippi, U., Seppälä, J., Serimaa, R., & Laine, J. (2013). A fast method to produce strong NFC films as a platform for barrier and functional materials. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 5(11), 4640–4647. https://doi.org/10.1021/am401046x

- Otoni, C. G., Figueiredo, J. S. L., Capeletti, L. B., Cardoso, M. B., Bernardes, J. S., & Loh, W. (2019). Tailoring the Antimicrobial Response of Cationic Nanocellulose-Based Foams through Cryo-Templating. *ACS Applied Bio Materials*, *2*(5), 1975–1986. https://doi.org/10.1021/acsabm.9b00034
- Ouyang, X., Ke, L., Qiu, X., Guo, Y., & Pang, Y. (2009). Sulfonation of Alkali Lignin and Its Potential Use in Dispersant for Cement. *Journal of Dispersion Science and Technology*, *30*(1), 1–6. https://doi.org/10.1080/01932690802473560
- Pacaphol, K., & Aht-ong, D. (2017). The influences of silanes on interfacial adhesion and surface properties of nanocellulose film coating on glass and aluminum substrates. *Surface & Coatings Technology*. https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2017.01.111
- Padalkar, S., Capadona, J. R., Rowan, S. J., Weder, C., Moon, R. J., & Stanciu, L. A. (2011). *Self-assembly* and alignment of semiconductor nanoparticles on cellulose nanocrystals. https://doi.org/10.1007/s10853-011-5518-4
- Pan, X., Kadla, J. F., Ehara, K., Gilkes, N., & Saddler, J. N. (2006). Organosolv ethanol lignin from hybrid poplar as a radical scavenger: Relationship between lignin structure, extraction conditions, and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(16), 5806–5813. https://doi.org/10.1021/jf0605392
- Panchal, P., Ogunsona, E., & Mekonnen, T. (2019). Trends in advanced functional material applications of nanocellulose. *Processes*, 7(1), 10. https://doi.org/10.3390/pr7010010
- Parit, M., Saha, P., Davis, V. A., & Jiang, Z. (2018). Transparent and Homogenous Cellulose Nanocrystal/Lignin UV-Protection Films. *ACS Omega*, *3*(9), 10679–10691. https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01345
- Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G., & Vyvyan, J. (2012). Introdução à espectroscopia. *Cengage Learning*. https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000700048
- Pedersoli Jr., J. L., Antomarchi, C., & Michalski, S. (2016). A Guide to Risk Management of Cultural *Heritage*. ICCROM, Canadian Conservation Institute.
- Petridis, L., & Smith, J. C. (2018). Molecular-level driving forces in lignocellulosic biomass deconstruction for bioenergy. In *Nature Reviews Chemistry* (Vol. 2, Issue 11, pp. 382–389). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/s41570-018-0050-6
- Pinto, L. O., Bernardes, J. S., & Rezende, C. A. (2019). Low-energy preparation of cellulose nanofibers from sugarcane bagasse by modulating the surface charge density. *Carbohydrate Polymers*, 218, 145–153. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.070
- Podany, J., Garland, K. M. M., Freeman, W. R. R., & Rogers, J. (2001). Paraloid B-72 as a structural adhesive and as a barrier within structural adhesive bonds: Evaluations of strength and reversibility. *Journal of the American Institute for Conservation*, 40(1), 14–33. https://doi.org/https://doi.org/10.1179/019713601806113120
- Poggi, G., Toccafondi, N., Melita, L. N., Knowles, J. C., Bozec, L., Giorgi, R., & Baglioni, P. (2014). Calcium hydroxide nanoparticles for the conservation of cultural heritage: New formulations for the deacidification of cellulose-based artifacts. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 114, 685–693. https://doi.org/10.1007/s00339-013-8172-7

- Popescu, C. M., Popescu, M. C., Singurel, G., Vasile, C., Argyropoulos, D. S., & Willfor, S. (2007). Spectral characterization of eucalyptus wood. *Applied Spectroscopy*, 61(11), 1168–1177. https://doi.org/10.1366/000370207782597076
- Pouteau, C., Dole, P., Cathala, B., Averous, L., & Boquillon, N. (2003). Antioxidant properties of lignin in polypropylene. *Polymer Degradation and Stability*, 81(1), 9–18. https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00057-0
- Puceković, N., Hooimeijer, A., & Lozo, B. (2015). Cellulose nanocrystals coating A novel paper coating for use in the graphic industry. *Acta Graphica Znanstveni Časopis Za Tiskarstvo i Grafičke Komunikacije*, *26*(4), 21–26.
- Pylypchuk, I. V., Riazanova, A., Lindström, M. E., & Sevastyanova, O. (2021). Structural and molecularweight-dependency in the formation of lignin nanoparticles from fractionated soft- And hardwood lignins. *Green Chemistry*, 23(8), 3061–3072. https://doi.org/10.1039/d0gc04058d
- Qi, G., Yang, W., Puglia, D., Wang, H., Xu, P., Dong, W., Zheng, T., & Ma, P. (2020). Hydrophobic, UV resistant and dielectric polyurethane-nanolignin composites with good reprocessability. *Materials and Design*, *196*, 109150. https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.109150
- Qi, W., Yu, J., Zhang, Z., & Xu, H. N. (2019). Effect of pH on the aggregation behavior of cellulose nanocrystals in aqueous medium. *Materials Research Express*, 6(12), 125078. https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab5974
- Ralph, J., Lapierre, C., & Boerjan, W. (2019). Lignin structure and its engineering. In *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 56, pp. 240–249). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.02.019
- Ramaraju, B., Imae, T., & Destaye, A. G. (2015). Ag nanoparticle-immobilized cellulose nanofibril films for environmental conservation. *Applied Catalysis A: General*, 492, 184–189. https://doi.org/10.1016/j.apcata.2014.12.045
- Rao, X., Liu, Y., Zhang, Q., Chen, W., Liu, Y., & Yu, H. (2017). Assembly of Organosolv Lignin Residues into Submicron Spheres: The Effects of Granulating in Ethanol/Water Mixtures and Homogenization. ACS Omega, 2, 2858–2865. https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00285
- Rashid, T., Kait, C. F., & Murugesan, T. (2016). A "fourier Transformed Infrared" Compound Study of Lignin Recovered from a Formic Acid Process. *Procedia Engineering*. https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.06.547
- Rastogi, V. K., & Samyn, P. (2015). Bio-based coatings for paper applications. In *Coatings* (Vol. 5, Issue 4, pp. 887–930). https://doi.org/10.3390/coatings5040887
- Rezende, C. A., Atta, B. W., Breitkreitz, M. C., Simister, R., Gomez, L. D., & McQueen-Mason, S. J. (2018).
  Optimization of biomass pretreatments using fractional factorial experimental design.
  *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 206. https://doi.org/10.1186/s13068-018-1200-2
- Richter, A. P., Bharti, B., Armstrong, H. B., Brown, J. S., Plemmons, D., Paunov, V. N., Stoyanov, S. D., & Velev, O. D. (2016). Synthesis and characterization of biodegradable lignin nanoparticles with tunable surface properties. *Langmuir*, 32(25), 6468–6477. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b01088

- Rivière, G. N., Pion, F., Farooq, M., Sipponen, M. H., Koivula, H., Jayabalan, T., Pandard, P., Marlair, G., Liao, X., Baumberger, S., & Österberg, M. (2021). Toward waste valorization by converting bioethanol production residues into nanoparticles and nanocomposite films. *Sustainable Materials* and Technologies, 28, e00269. https://doi.org/10.1016/j.susmat.2021.e00269
- Rohaizu, R., & Wanrosli, W. D. (2017). Sono-assisted TEMPO oxidation of oil palm lignocellulosic biomass for isolation of nanocrystalline cellulose. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 631–639. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.040
- Sadeghifar, H., & Ragauskas, A. (2020). Lignin as a UV Light blocker-a review. *Polymers*, *12*(5), 1–10. https://doi.org/10.3390/POLYM12051134
- Salajkova, M., Valentini, L., Zhou, Q., & Berglund, L. A. (2013). Tough nanopaper structures based on cellulose nanofibers and carbon nanotubes. *Composites Science and Technology*, *87*, 103–110. https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2013.06.014
- Sameni, J., Krigstin, S., & Sain, M. (2017). Acetylation & lignin solubility. *BioResources*, *12*(1), 1548–1565. https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes\_12\_1\_1548\_Sameni\_Solubility\_Lignin\_Acetylated\_Lignin\_Organic\_Solvents/5048
- Saremi, R., Borodinov, N., Laradji, A. M., & Sharma, S. (2020). Adhesion and Stability of Nanocellulose Coatings. *Molecules*, *25*(3238), 17–21.
- Sarkar, P., Bosneaga, E., & Auer, M. (2009). Plant cell walls throughout evolution: Towards a molecular understanding of their design principles. *Journal of Experimental Botany*, *60*(13), 3615–3635. https://doi.org/10.1093/jxb/erp245
- Schneider, W. D. H., Dillon, A. J. P., & Camassola, M. (2021). Lignin nanoparticles enter the scene: A promising versatile green tool for multiple applications. *Biotechnology Advances*, 47, 107685. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107685
- Scopel, E., & Rezende, C. A. (2021). Biorefinery on-demand: Modulating pretreatments to recover lignin, hemicellulose, and extractives as co-products during ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 163, 113336. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113336
- Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E., & Conrad, C. M. (1959). An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Textile Research Journal*, 29(10), 786–794. https://doi.org/10.1177/004051755902901003
- Seino, T., Yoshioka, A., Fujiwara, M., Chen, K. L., Erata, T., Tabata, M., & Takai, M. (2001). ESR studies of radicals generated by ultrasonic irradiation of lignin solution. An application of the spin trapping method. Wood Science and Technology, 35(1–2), 97–106. https://doi.org/10.1007/s002260000080
- Shinoda, R., Saito, T., Okita, Y., & Isogai, A. (2012). Relationship between length and degree of polymerization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils. *Biomacromolecules*, *13*(3), 842–849. https://doi.org/10.1021/bm2017542
- Siqueira, G., Abdillahi, H., Bras, J., & Dufresne, A. (2010). High reinforcing capability cellulose nanocrystals extracted from Syngonanthus nitens (Capim Dourado). *Cellulose*, *17*(2), 289–298. https://doi.org/10.1007/s10570-009-9384-z

- Siqueira, G., Bras, J., & Dufresne, A. (2010). Cellulosic Bionanocomposites: A Review of Preparation, Properties and Applications. *Polymers*, *2*, 728–765. https://doi.org/10.3390/polym2040728
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2006). *Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples: Laboratory Analytical Procedure (LAP); Issue Date: 12/08/2006.* www.nrel.gov
- Sluiter, J. B., Ruiz, R. O., Scarlata, C. J., Sluiter, A. D., & Templeton, D. W. (2010). Compositional Analysis of Lignocellulosic Feedstocks . 1 . Review and Description of Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9043–9053. https://doi.org/10.1021/jf1008023
- Sluiter, J., & Sluiter, A. (2011). Summative Mass Closure: Laboratory Analytical Procedure (LAP) Review and Integration. NREL/TP-510-48087, Revised in July 2011. https://www.nrel.gov/docs/gen/fy11/48087.pdf
- Solala, I., Iglesias, M. C., & Peresin, M. S. (2020). On the potential of lignin-containing cellulose nanofibrils (LCNFs): a review on properties and applications. *Cellulose*, *27*(4), 1853–1877. https://doi.org/10.1007/s10570-019-02899-8
- Song, B., Zhao, S., Shen, W., Collings, C., & Ding, S. Y. (2020). Direct Measurement of Plant Cellulose Microfibril and Bundles in Native Cell Walls. *Frontiers in Plant Science*, 11, 479. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00479
- Stephens, C. H., Whitmore, P. M., Morris, H. R., & Bier, M. E. (2008). Hydrolysis of the amorphous cellulose in cotton-based paper. *Biomacromolecules*, 9(4), 1093–1099. https://doi.org/10.1021/bm800049w
- Strlič, M., & Kolar, J. (2005). Ageing and stabilisation of paper. National and University Library.
- Sun, H., Biedermann, L., & Bond, T. C. (2007). Color of brown carbon: A model for ultraviolet and visible light absorption by organic carbon aerosol. *Geophysical Research Letters*, 34(17), L17813. https://doi.org/10.1029/2007GL029797
- Sun, R., Tomkinson, J., Mao, F. C., & Sun, X. F. (2001). Physicochemical characterization of lignins from rice straw by hydrogen peroxide treatment. *Journal of Applied Polymer Science*, *79*(4), 719–732. https://doi.org/10.1002/1097-4628(20010124)79:4<719::AID-APP170>3.0.CO;2-3
- Svagan, A. J., Azizi Samir, M. A. S., & Berglund, L. A. (2007). Biomimetic polysaccharide nanocomposites of high cellulose content and high toughness. *Biomacromolecules*, 8(8), 2556–2563. https://doi.org/10.1021/bm0703160
- Takaichi, S., Saito, T., Tanaka, R., & Isogai, A. (2014). Improvement of nanodispersibility of oven-driedTEMPO-oxidizedcellulosesinwater.Cellulose,21(6),4093-4103.https://doi.org/10.1007/s10570-014-0444-7
- Tariqur, M., Bhuiyan, R., Hirai, N., & Sobue, N. (2000). *Changes of crystallinity in wood cellulose by heat treatment under dried and moist conditions*.
- Tarrés, Q., Delgado-Aguilar, M., Pèlach, M. A., González, I., Boufi, S., & Mutjé, P. (2016). Remarkable increase of paper strength by combining enzymatic cellulose nanofibers in bulk and TEMPOoxidized nanofibers as coating. *Cellulose*, 23(6), 3939–3950. https://doi.org/10.1007/s10570-016-1073-0

- Tayeb, A. H., Tajvidi, M., & Bousfield, D. (2020). Paper-based oil barrier packaging using lignin-containing cellulose nanofibrils. *Molecules*, *25*(6), 1344. https://doi.org/10.3390/molecules25061344
- Tian, D., Hu, J., Bao, J., Chandra, R. P., Saddler, J. N., & Lu, C. (2017). Lignin valorization: lignin nanoparticles as high-value bio-additive for multifunctional nanocomposites. *Biotechnology for Biofuels*, 10, 192. https://doi.org/10.1186/s13068-017-0876-z
- Tian, D., Hu, J., Chandra, R. P., Saddler, J. N., & Lu, C. (2017). Valorizing Recalcitrant Cellulolytic Enzyme Lignin via Lignin Nanoparticles Fabrication in an Integrated Biorefinery. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 5(3), 2702–2710. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b03043
- Tingaut, P., Zimmermann, T., & Sèbe, G. (2012). Cellulose nanocrystals and microfibrillated cellulose as building blocks for the design of hierarchical functional materials. *Journal of Materials Chemistry*, 22(38), 20105–20111. https://doi.org/10.1039/c2jm32956e
- Toniolo, L., Poli, T., Castelvetro, V., Manariti, A., Chiantore, O., & Lazzari, M. (2002). Tailoring new fluorinated acrylic copolymers as protective coatings for marble. *Journal of Cultural Heritage*, *3*(4), 309–316. https://doi.org/10.1016/S1296-2074(02)01240-2
- Trache, D., Tarchoun, A. F., Derradji, M., Hamidon, T. S., Masruchin, N., Brosse, N., & Hussin, M. H. (2020). Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications. *Frontiers in Chemistry*, 8, 392. https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00392
- Trevisan, H., & Rezende, C. A. (2020). Pure, stable and highly antioxidant lignin nanoparticles from elephant grass. *Industrial Crops and Products, 145,* 112105. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112105
- Tyufekchiev, M., Kolodziejczak, A., Duan, P., Foston, M., Schmidt-Rohr, K., & Timko, M. T. (2019). Reaction engineering implications of cellulose crystallinity and water-promoted recrystallization. *Green Chemistry*, *21*(20), 5541–5555. https://doi.org/10.1039/c9gc02466b
- Usov, I., Nyström, G., Adamcik, J., Handschin, S., Schütz, C., Fall, A., Bergström, L., & Mezzenga, R. (2015). Understanding nanocellulose chirality and structure-properties relationship at the single fibril level. *Nature Communications*, 6(1), 1–11. https://doi.org/10.1038/ncomms8564
- Valencia, L., Kumar, S., Nomena, E. M., Salazar-Alvarez, G., & Mathew, A. P. (2020). In-Situ Growth of Metal Oxide Nanoparticles on Cellulose Nanofibrils for Dye Removal and Antimicrobial Applications. ACS Applied Nano Materials, 3(7), 7172–7181. https://doi.org/10.1021/acsanm.0c01511
- Vänskä, E., Vihelä, T., Peresin, M. S., Vartiainen, J., Hummel, M., & Vuorinen, T. (2016). Residual lignin inhibits thermal degradation of cellulosic fiber sheets. *Cellulose*, *23*(1), 199–212. https://doi.org/10.1007/s10570-015-0791-z
- Vardanyan, V., Galstian, T., & Riedl, B. (2015). Effect of addition of cellulose nanocrystals to wood coatings on color changes and surface roughness due to accelerated weathering. *Journal of Coatings Technology and Research*, *12*(2), 247–258. https://doi.org/10.1007/s11998-014-9634-3
- Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K.-H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M., & Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2), 377–410. https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-12-04

- Vinçotte, A., Beauvoit, E., Boyard, N., & Guilminot, E. (2019). Effect of solvent on PARALOID<sup>®</sup> B72 and B44 acrylic resins used as adhesives in conservation. *Heritage Science*, 7(1), 42. https://doi.org/10.1186/s40494-019-0283-9
- Vitale, T., & Erhardt, D. (1993). Changes in paper color due to artificial aging and the effects of washing on color removal. In *ICOM Committee for Conservation 10th triennial meeting: Washington, DC, 22-27 August 1993: preprints* (pp. 507–515).
- Voisin, H., Bergström, L., Liu, P., & Mathew, A. (2017). Nanocellulose-Based Materials for Water Purification. *Nanomaterials*, 7(3), 57. https://doi.org/10.3390/nano7030057
- Völkel, L., Ahn, K., Hähner, U., Gindl-Altmutter, W., & Potthast, A. (2017). Nano meets the sheet: Adhesive-free application of nanocellulosic suspensions in paper conservation. *Heritage Science*, 5(1), 23. https://doi.org/10.1186/s40494-017-0134-5
- Wang, D., Lee, S. H., Kim, J., & Park, C. B. (2020). "Waste to Wealth": Lignin as a Renewable Building Block for Energy Harvesting/Storage and Environmental Remediation. *ChemSusChem*, 13(11), 2807–2827. https://doi.org/10.1002/cssc.202000394
- Wang, H., Pu, Y., Ragauskas, A., & Yang, B. (2019). From lignin to valuable products–strategies, challenges, and prospects. In *Bioresource Technology* (Vol. 271, pp. 449–461). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.072
- Wang, X., Ji, S. L., Wang, X. Q., Bian, H. Y., Lin, L. R., Dai, H. Q., & Xiao, H. (2019). Thermally conductive, super flexible and flame-retardant BN-OH/PVA composite film reinforced by lignin nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry C*, 7(45), 14159–14169. https://doi.org/10.1039/c9tc04961d
- Wang, Y., He, B., & Zhao, L. (2017). Fabrication of hydrophobic coating on filter paper from selfemulsifying carnauba wax-alcohol emulsions with nano-TiO2 particles for water/diesel separation. *BioResources*, 12(4), 7774–7783.
- Wei, L., Agarwal, U. P., Matuana, L., Sabo, R. C., & Stark, N. M. (2018). Performance of high lignin content cellulose nanocrystals in poly(lactic acid). *Polymer*, 135, 305–313. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.12.039
- Xia, J., Zhang, Z., Liu, W., Li, V. C. F., Cao, Y., Zhang, W., & Deng, Y. (2018). Highly transparent 100% cellulose nanofibril films with extremely high oxygen barriers in high relative humidity. *Cellulose*, 25(7), 4057–4066. https://doi.org/10.1007/s10570-018-1843-y
- Xiong, F., Han, Y., Wang, S., Li, G., Qin, T., Chen, Y., & Chu, F. (2017). Preparation and formation mechanism of size-controlled lignin nanospheres by self-assembly. *Industrial Crops and Products*, 100, 146–152. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.025
- Xu, C., Chen, W., Gao, H., Xie, X., & Chen, Y. (2020). Cellulose nanocrystal/silver (CNC/Ag) thin-film nanocomposite nanofiltration membranes with multifunctional properties. *Environmental Science: Nano*, 7(3), 803–816. https://doi.org/10.1039/c9en01367a
- Xu, F., Yu, J., Tesso, T., Dowell, F., & Wang, D. (2013). Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques : A mini review. *Applied Energy*, 104, 801–809. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.12.019

- Xu, M., Li, W., Ma, C., Yu, H., Wu, Y., Wang, Y., Chen, Z., Li, J., & Liu, S. (2018). Multifunctional chiral nematic cellulose nanocrystals/glycerol structural colored nanocomposites for intelligent responsive films, photonic inks and iridescent coatings. *Journal of Materials Chemistry C*, 6(20), 5391–5400. https://doi.org/10.1039/c8tc01321g
- Xu, Q., Poggi, G., Resta, C., Baglioni, M., & Baglioni, P. (2020). Grafted nanocellulose and alkaline nanoparticles for the strengthening and deacidification of cellulosic artworks. *Journal of Colloid* and Interface Science, 576, 147–157. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.05.018
- Yang, Q., Saito, T., Berglund, L. A., & Isogai, A. (2015). Cellulose nanofibrils improve the properties of allcellulose composites by the nano-reinforcement mechanism and nanofibril-induced crystallization. *Nanoscale*, 7(42), 17957–17963. https://doi.org/10.1039/c5nr05511c
- Yang, Weijun, Ding, H., Qi, G., Li, C., Xu, P., Zheng, T., Zhu, X., Kenny, J. M., Puglia, D., & Ma, P. (2021).
  Highly transparent PVA/nanolignin composite films with excellent UV shielding, antibacterial and antioxidant performance. *Reactive and Functional Polymers*, 162, 104873. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104873
- Yang, Weijun, Dominici, F., Fortunati, E., Kenny, J. M., & Puglia, D. (2015). Effect of lignin nanoparticles and masterbatch procedures on the final properties of glycidyl methacrylate-g-poly (lactic acid) films before and after accelerated UV weathering. *Industrial Crops and Products*, *77*, 833–844. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.057
- Yang, Weijun, Fortunati, E., Dominici, F., Giovanale, G., Mazzaglia, A., Balestra, G. M., Kenny, J. M., & Puglia, D. (2016). Synergic effect of cellulose and lignin nanostructures in PLA based systems for food antibacterial packaging. *European Polymer Journal*, 79, 1–12. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.04.003
- Yang, Weijun, Rallini, M., Wang, D. Y., Gao, D., Dominici, F., Torre, L., Kenny, J. M., & Puglia, D. (2018).
  Role of lignin nanoparticles in UV resistance, thermal and mechanical performance of PMMA nanocomposites prepared by a combined free-radical graft polymerization/masterbatch procedure. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 107, 61–69. https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2017.12.030
- Yang, Weisheng, Jiao, L., Liu, W., & Dai, H. (2019). Manufacture of Highly Transparent and Hazy Cellulose Nanofibril Films via Coating TEMPO-Oxidized Wood Fibers. *Nanomaterials*, 9(1), 107. https://doi.org/10.3390/nano9010107
- Yano, H., & Nakahara, S. (2004). Bio-composites produced from plant microfiber bundles with a nanometer unit web-like network. *Journal of Materials Science*, 39(5), 1635–1638. https://doi.org/10.1023/B:JMSC.0000016162.43897.0a
- Yearla, S. R., & Padmasree, K. (2016). Preparation and characterisation of lignin nanoparticles: evaluation of their potential as antioxidants and UV protectants. *Journal of Experimental Nanoscience*, *11*(4), 289–302. https://doi.org/10.1080/17458080.2015.1055842
- Yin, H., Liu, L., Wang, X., Wang, T., Zhou, Y., Liu, B., Shan, Y., Wang, L., & Lü, X. (2018). A novel flocculant prepared by lignin nanoparticles-gelatin complex from switchgrass for the capture of Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 545, 51–59. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.02.033

- Yu, H. Y., Qin, Z. Y., Sun, B., Yan, C. F., & Yao, J. M. (2014). One-pot green fabrication and antibacterial activity of thermally stable corn-like CNC/Ag nanocomposites. *Journal of Nanoparticle Research*, 16(1), 1–12. https://doi.org/10.1007/s11051-013-2202-4
- Zambuzi, G. C., Camargos, C. H. M., Ferreira, M. P., Rezende, C. A., de Freitas, O., & Francisco, K. R. (2021). Modulating the controlled release of hydroxychloroquine mobilized on pectin films through film-forming pH and incorporation of nanocellulose. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *2*, 100140. https://doi.org/10.1016/J.CARPTA.2021.100140
- Zergane, H., Abdi, S., Xu, H., Hemming, J., Wang, X., Willför, S., & Habibi, Y. (2020). Ampelodesmos mauritanicus a new sustainable source for nanocellulose substrates. *Industrial Crops and Products*, 144, 112044. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.112044
- Zervos, S. (2010). Natural and accelerated ageing of cellulose and paper: A literature review. In *Cellulose: Structure and Properties, Derivatives and Industrial Uses* (pp. 1–42). Nova Science Publishers.
- Zhang, L., Ge, H., Xu, M., Cao, J., & Dai, Y. (2017). Physicochemical properties, antioxidant and antibacterial activities of dialdehyde microcrystalline cellulose. *Cellulose*, *24*(5), 2287–2298. https://doi.org/10.1007/s10570-017-1255-4
- Zhang, X., Yang, W., & Blasiak, W. (2011). Modeling study of woody biomass: Interactions of cellulose, hemicellulose, and lignin. *Energy and Fuels*, 25(10), 4786–4795. https://doi.org/10.1021/ef201097d
- Zhang, Z., Terrasson, V., & Guénin, E. (2021). Lignin Nanoparticles and Their Nanocomposites. *Nanomaterials*, 11(5), 1336. https://doi.org/10.3390/nano11051336
- Zhou, M., Wang, W., Yang, D., & Qiu, X. (2015). Preparation of a new lignin-based anionic/cationic surfactant and its solution behaviour. *RSC Advances*, 5(4), 2441–2448. https://doi.org/10.1039/c4ra10524a
- Zhou, Y., Saito, T., Bergström, L., Isogai, A., Bergströ, L., & Isogai, A. (2018). Acid-Free Preparation of Cellulose Nanocrystals by TEMPO Oxidation and Subsequent Cavitation. *Biomacromolecules*, 19(2), 633–639. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01730
- Zhu, H., Fang, Z., Preston, C., Li, Y., & Hu, L. (2014). Transparent paper: Fabrications, properties, and device applications. In *Energy and Environmental Science* (Vol. 7, Issue 1, pp. 269–287). https://doi.org/10.1039/c3ee43024c
- Zikeli, F., Vinciguerra, V., D'Annibale, A., Capitani, D., Romagnoli, M., & Mugnozza, G. S. (2019). Preparation of lignin nanoparticles from wood waste for wood surface treatment. *Nanomaterials*, 9(2), 281. https://doi.org/10.3390/nano9020281
- Zimniewska, M., Kozłowski, R., & Batog, J. (2008). Nanolignin modified linen fabric as a multifunctional product. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 484, 43/[409]-50/[416]. https://doi.org/10.1080/15421400801903395
- Zou, T., Sipponen, M. H., Henn, A., & Österberg, M. (2021). Solvent-Resistant Lignin-Epoxy Hybrid Nanoparticles for Covalent Surface Modification and High-Strength Particulate Adhesives. ACS Nano, 15(3), 4811–4823. https://doi.org/10.1021/acsnano.0c09500
- Zou, X., Gurnagul, N., Uesaka, T., & Bouchard, J. (1994). Accelerated aging of papers of pure cellulose: mechanism of cellulose degradation and paper embrittlement. *Polymer Degradation and Stability*, 43(3), 393–402. https://doi.org/10.1016/0141-3910(94)90011-6



## Apêndices

## **Apêndice A**

Filme	Espessura/µm		
CNF	13 ± 1		
CNC	12 ± 1		
CNF/CNC	12 ± 1		
CNF/CNC/LNP1	14 ± 3		
CNF/CNC/LNP5	12 ± 1		
CNF/CNC/LNP10	13 ± 1		
CNF/CNC/LNP25	16 ± 5		

Tabela A1 Espessura média de filmes autossustentados monocomponentes e nanocompósitos.



**Figura A1** Espectros de DRS mostrando a transmitância em função do comprimento de onda na faixa de 200–800 nm para os filmes autossustentados constituídos unicamente por TO-CNFs e AH-CNCs comerciais.



**Figura A2** Parâmetros colorimétricos medidos no espaço de cor CIEL\*a\*b\* para os filmes monocomponentes de CNF e CNC comerciais. Expressou-se cada valor como a média e o desvio-padrão de ao menos 4 replicatas.



**Figura A3** Fotografias sob luz visível de filmes monocomponentes e nanocompósitos: não envelhecidos e envelhecidos a 40 ou 80 °C sob diversas umidades relativas por 168 h.



**Figura A4** Variação dos parâmetros colorimétricos (A)  $\Delta L^*$ , (B)  $\Delta a^* e$  (C)  $\Delta b^*$  em função da umidade relativa para filmes envelhecidos a 40 °C por 168 h. As linhas pontilhadas indicam região compreendida pelo limite de ±1, dentro do qual as variações nos parâmetros equivalem ao erro do espectrofotômetro.



**Figura A5** ΔE calculado a partir da variação dos parâmetros colorimétricos de filmes CNF e CNC (nanopartículas comerciais) antes e após 168 h de envelhecimento artificial em função da umidade relativa variável. Resultados para envelhecimento conduzido a: (A) 40 °C e (B) 80°C. As linhas pontilhadas delimitam o valor de 3,5 no eixo das ordenadas.



**Figura A6** Variação dos parâmetros colorimétricos (A)  $\Delta L^*$ , (B)  $\Delta a^* e$  (C)  $\Delta b^*$  em função da umidade relativa para filmes envelhecidos a 80 °C por 168 h. As linhas pontilhadas indicam região compreendida pelo limite de ±1, dentro do qual as variações nos parâmetros equivalem ao erro do espectrofotômetro.



**Figura A7** ΔE calculado a partir dos parâmetros colorimétricos de amostras envelhecidas: filmes monocomponentes de TO-CNFs ou AH-CNCs comerciais e filmes nanocompósitos binários contendo cada um dos tipos de nanocelulose e 1% ou 10% (m/m) de SA-LNPs. A diferença de cor foi calculada considerando os parâmetros colorimétricos das amostras anterior e posteriormente a 168 h de envelhecimento artificial a 80 °C e 75% de RH.



**Figura A8** Curvas de TGA (eixo esquerdo) e DTG correspondente (eixo direito) para filmes não envelhecidos e envelhecidos: (A) CNC e CNC comercial, (B) CNF comercial.



Figura A9 Difratogramas de raios-X para filmes não envelhecidos e envelhecidos: (A) CNF/CNC e (B) CNF/CNC/LNP1.



**Figura A10** Curvas de DSC do (A) primeiro aquecimento e resfriamento de todos os filmes estudados e do (B) primeiro resfriamento e segundo aquecimento do filme CNF/CNC/LNP10 (não envelhecido). As taxas de aquecimento e resfriamento foram de (A) 10 °C min<sup>-1</sup> e de (B) 10 °C min<sup>-1</sup> no aquecimento e 5 °C min<sup>-1</sup> no resfriamento. Temperaturas de perda de água estão indicadas em (A) e a temperatura de cristalização (T<sub>c</sub>) está indicada no detalhe em (B).



**Figura A11** Porcentagem de supressão de DPPH• de filmes nanocompósitos medidos pelo método colorimétrico após 30 min de ensaio, utilizando-se etanol como solvente.

**Tabela A2** Supressão de radical DPPH pelos filmes nanocompósitos, antes e após o envelhecimento artificial, em ensaios de 0, 16 e 30 min. Resultados expressos como a média e desvios-padrão de duplicatas.

	% Supressão de DPPH•						
Filme	0 min		16 min		30 min		
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após	
CNF/CNC	8,8±0,3	15 ± 4	6,7 ± 0,4	33,6 ± 0,5	6±1	42,8 ± 0,5	
CNF/CNC/LNP1	11,8 ± 0,2	25,7 ± 0,1	30 ± 1	33 ± 6	37 ± 3	37 ± 11	
CNF/CNC/LNP10	18 ± 1	27,4 ± 0,1	30 ± 2	29,9 ± 0,1	36 ± 2	34 ± 2	



**Figura A12** Curvas de TGA e DTG correspondente para filmes nanocompósitos preparados com TO-CNFs pós-tratadas em comparação aos filmes preparados com TO-CNFs originais (não pós-tratadas): (A, B) CNF/CNC e CNF/CNC pós-tratamento, (C, D) CNF/CNC/LNP1 e CNF/CNC/LNP1 pós-tratamento, (E, F) CNF/CNC/LNP10 e CNF/CNC/LNP10 pós-tratamento.



**Figura A13** Variação dos parâmetros colorimétricos ΔL\*,Δa\* e Δb\* para filmes monocomponentes e nanocompósitos preparados com TO-CNFs pós-tratadas após envelhecimento a 80 °C e 75% RH por 168 h.

## **Apêndice B**



**Figura B1** Fotografias sob luz visível dos suportes celulósicos prístinos e recobertos com camadas de Paraloid<sup>®</sup>B72 na razão massa/área de 1 mg cm<sup>-2</sup>.



**Figura B2** Espessura média dos revestimentos de Paraloid®B72 e nanocompósitos estimada como a diferença entre a espessura média de substratos revestidos e não revestidos.



**Figura B3** Variação dos parâmetros colorimétricos (A)  $\Delta L^*$ , (B)  $\Delta a^* e$  (C)  $\Delta b^*$  devido ao envelhecimento a 80 °C e 75% de RH por 168 h de substratos celulósicos não revestidos ou revestidos com Paraloid®B72 ou revestimentos nanocompósitos. Valores expressos como médias e desvios-padrão de pelo menos 4 replicatas. As linhas pontilhadas indicam a região compreendida pelo limite de ±1, dentro do qual a variação nos parâmetros equivale ao erro do espectrofotômetro.


**Figura B4** Espectros de DRS mostrando a transmitância em função do comprimento de onda na faixa de 200–800 nm para os filmes autossustentados de Paraloid®B72 e nanocompósitos.



**Figura B5** Imagens de SEM da superfície de substrato de tecido revestido com filme nanocompósito NFCL1 ao qual foi adicionado, antes da aplicação: glicerol (A, D) 1% e (G, J) 10% (m/m), poli(etileno glicol) (B, E) 1% e (H, K) 10% (m/m), poli(propileno glicol) (C, F) 1% e (I, L) 10% (m/m). As setas em vermelho em (C–D, H, I, L) indicam pontos de falha/rachaduras no revestimento nanocompósito.



Figura B6 Medidas da taxa de transmissão de vapor de água (WVTR, eixo esquerdo) e permeabilidade ao vapor de água (WVP, eixo direito) para filmes autossustentados de Paraloid®B72, CNF, CNC e nanocompósitos NFC, NFCL1 e NFCL10.



**Figura B7** Fotografias sob luz visível da gota de água na superfície de substratos não revestidos de madeira (no instante 0 s e 10 s), papel (no instante 0 s e 10 s) e tecido (no instante 30 s), com o ângulo de contato medido em cada caso.



**Figura B8** Gráfico do WCA aparente em função do tempo para substratos revestidos com Paraloid®B72. Fotografias da gota de água no tempo 30 s e medidas de WCA médios em substratos de madeira, papel e tecido revestidos inseridas no gráfico.



**Figura B9** Fotografias sob luz visível de (A) pellets de cera de carnaúba e (B) dispersão aquosa de partículas de cera de carnaúba. (C) Histograma de distribuição de diâmetros medidos a partir de imagens de AFM (150 partículas de cera de carnaúba foram medidas em cinco diferentes imagens). (D, E) Imagens de AFM (topografia) de nanopartículas de cera de carnaúba.



**Figura B10** Fotografias sob luz visível de madeira, papel e tecido recobertos com NFCL1 e quatro camadas adicionais de cera de carnaúba. No substrato de tecido de algodão cru, a aplicação adicional da dispersão aquosa de cera de carnaúba levou à lixiviação de compostos coloridos solúveis, como taninos naturalmente presentes na fibras de algodão (Halloin, 1982), gerando a mancha de água na interface entre o tecido sem revestimento e o tecido revestido.



**Figura B11** Micrografias ópticas sob luz visível (esquerda) e mapas 2D obtidos pela análise de micro-FTIR do papel (A) não revestido, (B, D, F) revestido com nanocompósitos e (C, E, G) depois do procedimento de limpeza e remoção do revestimento utilizando o hidrogel Nanorestore Gel<sup>®</sup> HWR. Barras de escala: 200 μm. Escala de falsa cor: menor intensidade de absorbância da banda integrada (1250–1155 cm<sup>-1</sup>) em azul e maior intensidade em vermelho. A resolução espacial do equipamento é de 5,5 μm, i.e., cada pixel corresponde a uma área amostrada de cerca de 30 μm<sup>2</sup>.



**Figura B12** Micrografias ópticas sob luz visível (esquerda) e mapas 2D obtidos pela análise de micro-FTIR do tecido (A) não revestido, (B, D, F) revestido com nanocompósitos e (C, E, G) depois do procedimento de limpeza e remoção do revestimento utilizando o hidrogel Nanorestore Gel<sup>®</sup> HWR. Barras de escala: 200 μm. Escala de falsa cor: menor intensidade de absorbância da banda integrada (1250–1155 cm<sup>-1</sup>) em azul e maior intensidade em vermelho. A resolução espacial do equipamento é de 5,5 μm, i.e., cada pixel corresponde a uma área amostrada de cerca de 30 μm<sup>2</sup>.

## **Apêndice C**

**Tabela C1.** Análise composicional e balanço de massa de folhas e colmos de capim elefante *in natura,* após a etapa ácida e após o pré-tratamento ácido-alcalino como um todo. A primeira etapa ácida acarretou uma perda de massa de aproximadamente 48% e 33% para folhas e colmos, respectivamente. O pré-tratamento ácido-alcalino em duas etapas, por sua vez, causou perdas de massa de cerca de 70% para folhas e 68% para colmos. Os resultados foram expressos como médias e desvios-padrão de duplicatas.

Amostra		Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Extrativos	
		% (m/m)					Total %
	In natura	36 ± 2	21,7 ± 0,3	21±1	3,0 ± 0,1	19,5 ± 0,2	101 ± 2
Folhas	Após etapa ácida	50 ± 1	4,8 ± 0,1	29 ± 1	3±1	14,9 ± 0,4	101 ± 2
	Após pré-tratamento ácido-alcalino	81 ± 2	4,0 ± 0,3	7,7 ± 0,4	0,8±0,3	8,2 ± 0,1	102 ± 2
	In natura	32 ± 1	19,0 ± 0,1	27,5 ± 0,2	2,8 ± 0,5	17 ± 1	98 ± 2
Colmos	Após etapa ácida	47 ± 1	9±1	32 ± 1	1,3 ± 0,2	12,2 ± 0,1	101 ± 2
	Após pré-tratamento ácido-alcalino	76,6 ± 0,2	3,1 ± 0,1	12 ± 1	0,5 ± 0,1	6,3 ± 0,3	99 ± 1

## In naturaApós pré-tratamento ácido-alcalinoImage: Solution of the s

**Figura C1** (A–D) Imagens de microscopia óptica de folhas de capim elefante: (A, B) *In natura* e (C, D) após o pré-tratamento sequencial. (E–H) Imagens de microscopia eletrônica de varredura de folhas: (E, F) *in natura* e (G, H) após pré-tratamento.



**Figura C2** Difratogramas de raios-X representativos para amostras de capim elefante (A) folhas *in natura* e pré-tratadas, (B) colmos *in natura* e pré-tratados, (C) TO-CNFs e TO-CNCs de folhas e (D) AH-CNFs e AH-CNCs de colmos. Picos característicos da celulose Iβ estão indicados em (A,B) (French, 2014).



**Figura C3** Histogramas de distribuição de tamanhos de diâmetro e comprimento calculados através de imagens de TEM de (A, B) AH-CNCs e (C, D) TO-CNCs de folhas. Pelo menos 150 nanopartículas foram medidas em quatro diferentes imagens por amostra.



Figura C4 (A, B) Imagens de AFM (topografia) e (C, D) TEM de TO-CNFs de folhas e colmos.



**Figura C5** Histogramas de distribuição de tamanhos de diâmetro e comprimento calculados através de imagens de TEM de TO-CNFs de (A, B) folhas e (C, D) colmos. Pelo menos 230 nanopartículas foram medidas em quatro diferentes imagens por amostra.



**Figura C6** Curvas de tensão versus deformação representativas para amostras de filme L-TO-CNF (nanofibrilas de folhas), S-TO-CNF (nanofibrilas de colmos) e LS-TO-CNF 2:1 (nanofibrilas de folhas e colmos combinadas na proporção de 2:1).

## **Apêndice D**

Tabela D1. Análise composicional dos licores das etapas ácida e alcalina. O licor ácido de folhas e colmos continha, respectivamente, cerca de 48% e 33% da massa inicial de biomassa. O licor alcalino, por sua vez, continha cerca de 22% da massa inicial de folhas e 35% da massa inicial de colmos. Os resultados foram expressos como médias e desvios-padrão de duplicatas.

	Amostro	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Total %
	Amostra					
las	Licor ácido	22 ± 2	53 ± 1	17 ± 1	3±1	95 ± 3
Folk	Licor alcalino	8±1	7,5 ± 0,3	67 ± 2	7 ± 1	90 ± 2
sol	Licor ácido	$14 \pm 1$	45 ± 5	22 ± 1	9 ± 3	90 ± 6
Colm	Licor alcalino	16 ± 4	$10 \pm 4$	54 ± 3	2 ± 1	82 ± 7



Figura D1 Imagens de (A) microscopia óptica e (b) microscopia eletrônica de varredura da lignina bruta seca.



**Figura D2** Espectros UV-Vis da lignina extraída de (A) folhas e (B) colmos, assim como de (C) lignina comercial (lignina alcalina com baixo teor de sulfonato) em diferentes concentrações (5 a 80 mg L<sup>-1</sup>) em solução alcalina (NaOH 2 mol l<sup>-1</sup>). As curvas de calibração para a absorbância da lignina em (A, C) 288 nm e (B) 285 nm estão inseridas nos gráficos principais.



Figura D3 Difratogramas de raios-X da lignina bruta extraída de folhas e colmos.



**Figura D4** Cromatogramas representativos da análise de GPC das amostras de acetato de lignina de folhas e colmos não oxidadas e oxidadas solubilizadas em THF.

**Tabela D2.** Massa molar numérica média (M<sub>n</sub>), massa molar ponderal média (M<sub>w</sub>) e dispersidade (Đ) para amostras de lignina oxidada e não oxidada.

	Lignina	Mn	Mw	Ð
	Lignina			
las	Não oxidada	5261 ± 18	6932 ± 37	1,32 ± 0,01
Folb	Oxidada	4605 ± 532	5229 ± 757	1,13 ± 0,03
sor	Não oxidada	5731 ± 35	8115 ± 93	1,42 ± 0,01
Colr	Oxidada	4615 ± 572	5141 ± 802	1,11 ± 0,04



**Figura D5** Espectros de UV-Vis de soluções alcalinas de lignina bruta não oxidada e oxidada (40 mg L<sup>-1</sup>) extraída de (A) folhas e (B) colmos. A absorbância máxima ( $\lambda_{máx}$ ) está indicada em cada espectro.



Figura D6 Imagens de AFM (topografia) de SA-LNPs e o-SA-LNPs oriundas de (A–D) folhas e (E–H) colmos.



**Figura D7** Imagens de SEM dos fragmentos maiores obtidos após a sonicação de lignina de folhas por 15 min.



**Figura D8** Imagens de OM das partículas de lignina precipitadas e conservadas em suspensão sem qualquer etapa de secagem: (A, B) lignina de folhas, (C, D) lignina de folhas oxidada, (E, F) lignina de colmos e (G, H) lignina de colmos oxidada.



**Figura D9** Imagens de AFM (topografia, amplitude e fase) de nanopartículas de lignina oriundas de folhas e obtidas por sonicação durante: (A, B) 15 min, (C) 30 min, (D) 60 min e (E) 60 min (lignina oxidada).



**Figura D10** Imagens de AFM (topografia e fase) de nanopartículas de lignina oriundas de colmos e obtidas por sonicação durante: (A) 15 min, (B) 60 min e (C) 60 min (lignina oxidada).



**Figura D11** Imagens de AFM (topografia e fase) de US-LNPs oriundas de folhas e obtidas na presença de SDS por sonicação durante: (A, B) 15 min, (C–E) 30 min e (F, G) 60 min. Histogramas de distribuição de diâmetro para US-LNPs/SDS sonicadas por (H) 15 min, (I) 30 min e (J) 60 min. Os diâmetros foram medidos como a dimensão lateral de 50 partículas em 2 imagens por amostra.