

Daniele Bueno dos Santos

**PROPRIEDADES ÓPTICAS DE SUSPENSÕES COLOIDAIIS
E FILMES À BASE DE NANOCELULOSE**

**Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre em
Química.**

Orientador: Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro

**Araraquara
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, Daniele Bueno dos

S237p Propriedades ópticas de suspensões coloidais e filmes à base
de nanocelulose / Daniele Bueno dos Santos. - Araraquara :
[s.n], 2012
82 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Sidney José Lima Ribeiro

1. Química de materiais. 2. Celulose bacteriana. 3. Cristal
líquido. 4. Nanocristais de celulose. 5. Filmes iridescentes.

I. Título.

DADOS CURRICULARES

Daniele Bueno dos Santos

DADOS PESSOAIS

Nascimento: 09/06/1985

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Jundiaí-SP

Estado civil: Solteira

Filiação: Antonio Bueno dos Santos e Maria Célia Saldanha dos Santos

Profissão: Química

Endereço: Rua Pernambuco, 194, Vila Popular, Várzea Paulista-SP

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Licenciatura em Química – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (IQ-UNESP/Araraquara) – 2009.

DANIELE BUENO DOS SANTOS

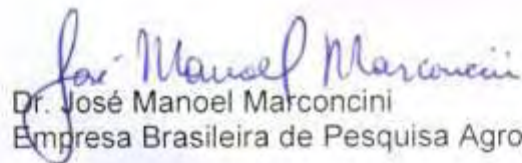
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 27 de fevereiro de 2012.

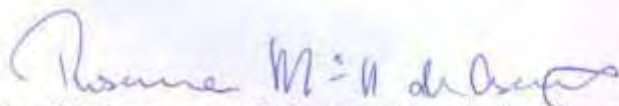
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Dr. José Manoel Marconcini
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, São Carlos



Profª Drª Rosana Maria Nascimento de Assunção
Universidade federal de Uberlândia – UFU / Uberlândia

**Dedico essa dissertação aos meus pais
Antonio e Maria Célia, pelo esforço para me
oferecer uma boa educação.**

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Sidney José Lima Ribeiro pela orientação, confiança, paciência e oportunidades oferecidas.

Ao Professor Doutor Younes Messaddeq pelo incentivo e oportunidades oferecidas.

Ao Doutor Hernane da Silva Barud pela amizade, por abrir portas, pelo incentivo e confiança.

Ao Professor Doutor Daniel Pasquini pelas contribuições.

A Laís Roncalho da Silva pela dedicação e trabalhos juntas.

Aos meus colegas de grupo do Laboratório de Materiais Fotônicos, em especial Andréia, Molíria e Tâmara, pela amizade e cooperação.

Aos funcionários e professores do Instituto de Química de Araraquara, em especial do Departamento de Química Geral e Inorgânica, que deram suporte para a realização deste trabalho.

Às minhas melhores amigas que conquistei na graduação, Ana Carolina, Nádia, Fernanda Mattioli, Fernanda Camassari e Luciana pelos momentos de alegria, pelo ombro amigo nos momentos difíceis e por acreditarem na minha capacidade quando eu mesma não acreditava.

A Luís Antônio Uemura, pelo carinho, companheirismo, amor e exemplo.

A minha família pelo apoio, amor e suporte.

À CAPES pela bolsa de mestrado.

"Não se mede o valor de um homem pelas suas roupas ou pelos bens que ele possui. O verdadeiro valor de um homem é o seu caráter, suas idéias e a nobreza de seus ideais."

(Charles Chaplin)

RESUMO

A celulose bacteriana (CB), produzida na superfície do meio de cultura da bactéria *Gluconacetobacter xylinus* foi utilizada para a produção de nanocristais de celulose, ou seja, cristalitos de celulose de dimensões nanométricas isolados por meio de hidrólise ácida, que em suspensão aquosa podem se auto-organizar para a formação de fase líquido cristalina nemática quiral. Foi realizada a hidrólise ácida da CB usando ácido sulfúrico 64% (m/m) a uma temperatura de 50 °C, o tempo de hidrólise foi variado de 5 a 90 minutos e sua influência na formação dos nanocristais de celulose bacteriana (NCCB) foi avaliada. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Força Atômica mostraram a formação de estruturas nanométricas semelhantes a agulhas. Medidas de Espectroscopia de Correlação de Fótons forneceram uma estimativa da variação do tamanho dos NCCB em relação ao tempo de hidrólise, que apresenta uma diminuição do tamanho até 15 minutos de reação, com populações de poucos nanômetros a 700nm, acima deste tempo não existe mudança significativa quanto a população de tamanhos. As curvas TG mostraram uma diminuição na estabilidade térmica das amostras NCCB, com início do processo de degradação cerca de 120 °C inferior ao da CB. Através da Difração de Raio-X e da equação de Segal o índice de cristalinidade da CB e dos NCCB foi calculado revelando um aumento de até dezesseis pontos percentuais na cristalinidade dos NCCB quando comparados a CB. Através da evaporação do solvente das suspensões de NCCB, filmes iridescentes foram formados. As Microscopias Óptica de Luz Polarizada dos filmes de NCCB revelaram texturas de “impressões digitais”, características dos cristais líquidos nemáticos quirais. Foram estudados a influência do tratamento de ultrassom e da adição de cloreto de sódio no passo nemático quiral e na cor refletida dos filmes. A caracterização óptica revelou que o aumento da energia de ultrassom aumenta o passo nemático quiral e induz um deslocamento do comprimento de onda refletido dos filmes em direção ao vermelho. Em contrapartida, a adição de cloreto de sódio causa um deslocamento em direção ao azul.

Palavras-chave: celulose bacteriana, nanocristais de celulose, filmes iridescentes, cristal líquido colestérico.

ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) produced from *Gluconacetobacter xilinus* on the surface of culture medium was used in order to produce cellulose nanocrystals, ie cellulose crystallites of nanometric dimensions isolated by acid hydrolysis, which in aqueous suspension can be self-organize to form chiral nematic liquid crystalline phase. Acid hydrolysis of BC was performed using sulfuric acid 64 % (w/w) at 50 °C. The hydrolysis time was varied from 5 to 90 minutes and its influence on the bacterial cellulose nanocrystals (BCNC) formation was evaluated. Scanning Electron Microscopy and Atomic Force Microscopy images showed the formations of nanometric needle-like structures. The Photon Correlation Spectroscopy provided an estimate of the size variation of BCNC with respect to hydrolysis time, it's shows a decrease in size up to 15 minutes of reaction, with populations from few nanometers to 700 nm. Above this time there is no significant change in the population size. TG curves of BCNC samples revealed a decreasing on thermal stability (about 120 °C) when compared to pure BC membrane. Solid iridescent films were prepared by casting of the nanocrystals suspension. The Polarized Light Optical Microscopy revealed textures of "fingerprint", characteristic of chiral nematic liquid crystals. The influence of the ultrasound treatment and addition of sodium chloride in the chiral nematic pitch in the reflected color of the solids films were also evaluated. The optical characterization revealed that increasing ultrasound energy increases the chiral nematic pitch and induces a red-shif of the reflected wavelenght of the films. In contrast, the addition of sodium chloride causes a towards blue-shift.

Keywords: bacterial cellulose, cellulose nanocrystals, iridescent films, cholesteric liquid crystal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química da celulose. ⁶	17
Figura 2 - Esquema da celulose da parede celular das células vegetais e organização das microfibrilas. ⁵	18
Figura 3 - Estruturas propostas para a celulose nativa: (a) Triclínica, I α , e (b) Monoclínica, I β . ¹⁰	19
Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície do gel liofilizado de celulose bacteriana. ³	20
Figura 5 - Cultura estática com membrana de celulose entre o meio de cultura e o ar após 8 dias de cultivo a 28°C. ¹⁴	21
Figura 6 - Formação de nanocristais de celulose pela hidrólise seletiva das regiões amorfas. ¹⁸	26
Figura 7 - Mecanismo de hidrólise ácida da celulose com ácido sulfúrico. ¹⁹	27
Figura 8 - Esterificação da celulose com ácido sulfúrico. ²⁰	27
Figura 9 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos NCC obtidos a partir de (a) celulose microcristalina, (b) tunicado, (c) algodão, (d) rami, (e) sisal, (f) palha de trigo, (g) celulose bacteriana e (h) beterraba. ²	29
Figura 10 - Imagem de uma suspensão (0,63% em massa) de NCC de celulose bacteriana, observada entre polarizadores cruzados. ²⁷	31
Figura 11 - Representação esquemática dos NCC e o empacotamento máximo alcançado devido a torção ao longo do seu eixo. ¹⁶	32
Figura 12 - Representação esquemática da ordem nemática quiral exibida por cristalitos de celulose. O diretor (n) é indicado para girar ao longo do eixo colestérico entre planos consecutivos de cristais de celulose paralelos. ³¹	33
Figura 13 - Textura nemática quiral da fase anisotrópica de uma suspensão de nanocristais de celulose bacteriana de concentração 3%. ³²	34
Figura 14 - Fotografia da suspensão de nanocristais de celulose bacteriana de concentração 1% (m/m).....	44
Figura 15 - Distribuição de tamanhos das amostras das suspensões de nanocristais de CB obtidos em diferentes tempos de hidrólise ácida: (a) NCCB5, (b) NCCB10, (c) NCCB15, (d) NCCB30, (e) NCCB70 e (f) NCCB90.	45
Figura 16 - MEV da suspensão de NCCB50.	47

Figura 17 - AFM da suspensão dos nanocristais de celulose bacteriana obtidos em 50 minutos de hidrólise ácida.....	47
Figura 18 - Curvas termogravimétricas da CB pura e das amostras de nanocristais de CB obtidas em diferentes tempos de hidrólise.	48
Figura 19 - Curva TG (curva a) e DTG (curva b) das amostras : (a) CB, (b) NCCB5, (c) NCCB10, (d) NCCB15, (e) NCCB30, (f) NCCB50, (g) NCCB70 e (h) NCCB90.....	50
Figura 20 - Difratograma de Raios X da Celulose Bacteriana pura e dos nanocristais de CB obtidos em diferentes tempos de hidrólise ácida.	52
Figura 21 - Suspensão de nanocristais de celulose bacteriana (concentração 0,6%) vista sob polarizadores cruzados mostrando a formação de domínios birrefringentes.	54
Figura 22 - Fotografia do filme obtido através da secagem ao ar da suspensão de NCCB de concentração de 1,3% (esquerda). Esquema do arranjo estrutural de uma mesofase colestérica líquido cristalina (direita).....	55
Figura 23 - MOLP (a) e MEV (b) do filme de nanocristais de celulose abtidos em 15 minutos de hidrólise.....	56
Figura 24 - Distribuição do tamanho de partículas das suspensões de NCC (a) AM1 – 0 J/g, (b) AM6 - 1800 J/g, (c) AM7 - 2500 J/g, e (d) AM8 - 7200 J/g.....	58
Figura 25- Distribuição do tamanho de partículas das suspensões de NCC (a) AM1 – 0 J/g, (b) AM6 - 1800 J/g, (c) AM7 - 2500 J/g, e (d) AM8 - 7200 J/g.....	59
Figura 26 - Espectro de transmissão das amostras obtidas após diferentes tratamentos de ultrassom (a) e gráfico da energia de ultrassom aplicada a suspensão de NCC em função do comprimento de onda refletido (b).....	60
Figura 27 - Esquema da camada limite de água ao redor dos nanocristais de celulose que contém íons originados a partir do processo de hidrólise e que não foram removidos durante as etapas de purificação. Esses íons comprimem a dupla camada elétrica e oculta as repulsões eletrostáticas entre os NCC. A sonicação ejeta alguns desses íons para dentro da fase volume da suspensão, resultando em uma maior dupla camada elétrica e interações quírais mais fracas entre as partículas. ³⁵	62
Figura 28 - Espectros de reflectância especular dos filmes de NCC produzidos com o aumento das energias de ultrassom aplicada. a) 0 J/g, b) 700 J/g, c) 2500J/g e d) 7200 de NCC.....	63
Figura 29 - Gráficos da (a) variação do comprimento de onda refletido da luz em função do ângulo de incidência, e (b) do comprimento de onda refletido em função da energia de ultrassom aplicada em joules por grama de NCCB.....	64

Figura 30 - Microscopias ópticas de luz polarizada dos filmes de NCCB feitos a partir de suspensões de NCCB com aplicação de diferentes energias de ultrassom em J/g de NCCB: (a) AM1, (b) AM2, (c) AM3, (d) AM4, (e) AM5, (f) AM6, (g) AM7, e (h) AM8.	66
Figura 31 - Esquema do ordenamento líquido cristalino neático quiral e textura padrão de “impressão digital” dos nanocristais de celulose com ordenamento cristalino nemático quiral normal a superfície. O espaçamento entre as linhas corresponde à metade do passo nemático quiral.....	68
Figura 32 - Microscopia eletrônica de varredura dos filmes (a) AM1 - 0 J/g e (b) AM 8 – 7200 J/g NCC.	69
Figura 33 - Filmes de NCC produzidos a partir de suspensões sonicadas com energias de 1800 J/g e com diferentes concentrações de cloreto de sódio; (a) 0 mM, (b) 0,25 mM, (c) 0,75 mM, (d) 1,3 mM, (e) 2,0 mM, (f) 2,75 mM e (g) 5 mM. O ângulo de visão é normal à superfície sob luz polarizada.	70
Figura 34 - (a) Espectros de transmissão dos filmes de NCC com adição de NaCl em diferentes concentrações e (b) gráfico da comprimento de onda refletido em função da concentração de sal adicionada à suspensão de NCCB.	72
Figura 35 - Espectro de reflectância especular dos filmes de NCC contendo diferentes concentrações de NaCl; (a) sem NaCl, (b) 0,25 mM; (c) 1,3 mM; (d) 5 mM.	74
Figura 36 - Microscopia óptica de luz polarizada dos filmes de NCC produzidos a partir de suspensões sonicadas com energias de 1800 J/g e com diferentes concentrações de cloreto de sódio; (a) 0 mM, (b) 0,25 mM, (c) 0,75 mM, (d) 1,3 mM, (e) 2,0 mM, (f) 2,75 mM e (g) 5 mM.....	75
Figura 37 - Microscopia eletrônica de varredura do filme de NCC contendo 0,25 mM de NaCl (a) e 5 mM de NaCl (b).....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Grau de polimerização de celulose de diferentes fontes naturais. ⁷	17
Tabela 2 - Propriedades mecânicas da celulose bacteriana e outros materiais orgânicos. ¹⁴	23
Tabela 3 - Aplicações da celulose produzida por <i>Gluconacetobacter xilinus</i> . ^{3,15}	24
Tabela 4 -Exemplos de comprimento (L) e diâmetro (D) dos nanocristais de celulose a partir de várias fontes por diferentes técnicas de análise. ²³	30
Tabela 5 - Tempos de hidrólise e respectivos nomes das amostras.....	38
Tabela 6 - Nomes das amostras e respectivas energias de ultrassom aplicada.	39
Tabela 7 - Nomes das amostras e respectivas concentrações de NaCl adicionado.	40
Tabela 8 - Análise elementar das amostras de nanocristais de celulose bacteriana obtidas em diferentes tempos de hidrólise.	48
Tabela 9 - Índice de cristalinidade das CB pura e dos NCCB de diferentes tempos de hidrólise.	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM	Microscopia de Força Atômica
CB	celulose bacteriana
CP	celulose das plantas
CrI	índice de cristalinidade
D	diâmetro
DNA	ácido desoxirribonucléico
DRX	Difração de Raio-X
DTG	derivada da análise termogravimétrica
GP	grau de polimerização
GUD	glicose uridina difosfato
L	comprimento
m	massa
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MOLP	Microscopia Óptica de Luz Polarizada
n	vetor diretor
NCC	nanocristais de celulose
NCCB	nanocristais de celulose bacteriana
P	passo colestérico
PCS	Espectroscopia de Correlação de Fótons
PET	Poli(tereftalato de etileno)
PP	Polipropileno
SAXS	sigla do inglês de espalhamento de raios-X a baixo ângulo – “Small Angle X-ray Scattering”
TG	Análise Termogravimétrica
v	volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Celulose	16
1.2 Celulose Bacteriana	20
1.2.1 Propriedades, Morfologia e Aplicações da CB	22
1.3 - Nanocristais de Celulose.....	24
1.3.1 Preparação e Isolação dos Nanocristais de Celulose	25
1.3.2 Auto-organização e Propriedades Ópticas dos Nanocristais de Celulose.....	31
2 OBJETIVO.....	37
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	38
3.1 Influência da variação do tempo de hidrólise.....	38
3.2 Influência da Variação da Energia de Ultrassom e da Adição de Sal (NaCl).....	39
3.3 Técnicas Empregadas na Caracterização das Suspensões e Filmes de Nanocristais de Celulose Bacteriana	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	43
4.1 Caracterizações das Suspensões de Nanocristais de Celulose Bacteriana (NCCB)	43
4.1.1 Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS).....	44
4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Força Atômica (AFM)	46
4.1.3 Análise elementar	47
4.1.4 Análise Termogravimétrica (TG/DTG).....	48
4.1.5 Difração de Raio-X (DRX).....	51
4.1.6 Comportamento Líquido Cristalino dos Nanocristais de CB.....	53
4.1.7 Microscopia Óptica de Luz Polarizada (MOLP) e Eletrônica de Varredura (MEV) ..	55
4.2 Estudo da Variação da Energia de Ultrassom	56
4.2.1 Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS).....	56
4.2.2 Caracterização dos filmes preparados com diferentes energias de ultrassom.....	58

4.2.2.1 Espectroscopia de Transmissão.....	59
4.2.2.2 Espectroscopia de Reflectância Especular na Região do Visível.....	62
4.2.2.3 Microscopia Óptica de Luz Polarizada (MOLP)	66
4.2.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	68
4.3 Influência da adição de sal (NaCl).....	70
4.3.1 Caracterização dos filmes preparados com diferentes concentrações de NaCl	70
4.3.1.1 Espectroscopia de Transmissão na Região do UV/Visível	71
4.3.1.2 Espectroscopia de Reflectância Especular na Região do UV/Visível	73
4.3.1.3 Microscopia Óptica de Luz Polarizada	74
4.3.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura	76
5 CONCLUSÕES.....	77
REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

1.1 Celulose

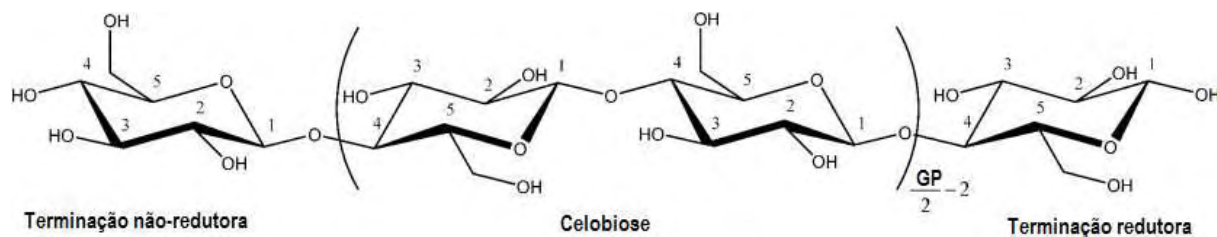
Nos últimos anos tem surgido uma maior preocupação mundial com o meio ambiente e com a crescente escassez de recursos derivados do petróleo. Com efeito, intensivos estudos têm sido realizados em busca de novos materiais obtidos a partir de fontes renováveis e compatíveis com o meio ambiente.

Nesse contexto, a celulose tem merecido destaque por ser o polímero natural mais abundante da terra e obtidos a partir de fontes renováveis, com produção anual de mais de 50 bilhões de toneladas.¹

A fonte natural de celulose mais explorada comercialmente é a madeira, devido sua grande disponibilidade que atende as demandas da indústria do papel. Porém, uma variedade de plantas também contém grande quantidade de celulose, como o cânhamo, linho, juta, rami e algodão. Além dessas fontes, a celulose pode ser produzida por algumas espécies de bactérias (*Acetobacter*, *Rhizobium* e *Agrobacterium*), algas marinhas, musgos e animais marinhos como os tunicados.^{2,3}

A celulose, $(C_6H_{10}O_5)_n$, é classificada como um carboidrato, isto é, uma substância que contém carbono, hidrogênio e oxigênio. Ela consiste de um homopolissacarídeo linear composto de β -D-glicopirranose unidos entre si por ligações β -1,4-glicosídicas. A unidade repetitiva da celulose, conhecida como celobiose, contém seis grupos hidroxila que estabelecem interações do tipo ligações de hidrogênio intra e intermolecular. Estas interações supramoleculares são responsáveis pela rigidez da cadeia, pela formação de fibras retas e estáveis, que levam a elevada resistência mecânica e fazem com que a celulose seja insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos.^{4,5}

A estrutura química básica da celulose está representada na figura 1.⁶

Figura 1 - Estrutura química da celulose.⁶

O número de unidades de anidroglicose repetidas numa cadeia de celulose é designada Grau de Polimerização (GP). Portanto, a massa molecular da celulose pode ser calculada multiplicando o GP pela massa molecular de cada unidade de anidroglicose (162 g mol^{-1}). Na natureza, o GP da celulose varia de acordo com a origem, alguns desses valores são apresentados na tabela 1.⁷

Tabela 1 - Grau de polimerização de celulose de diferentes fontes naturais.⁷

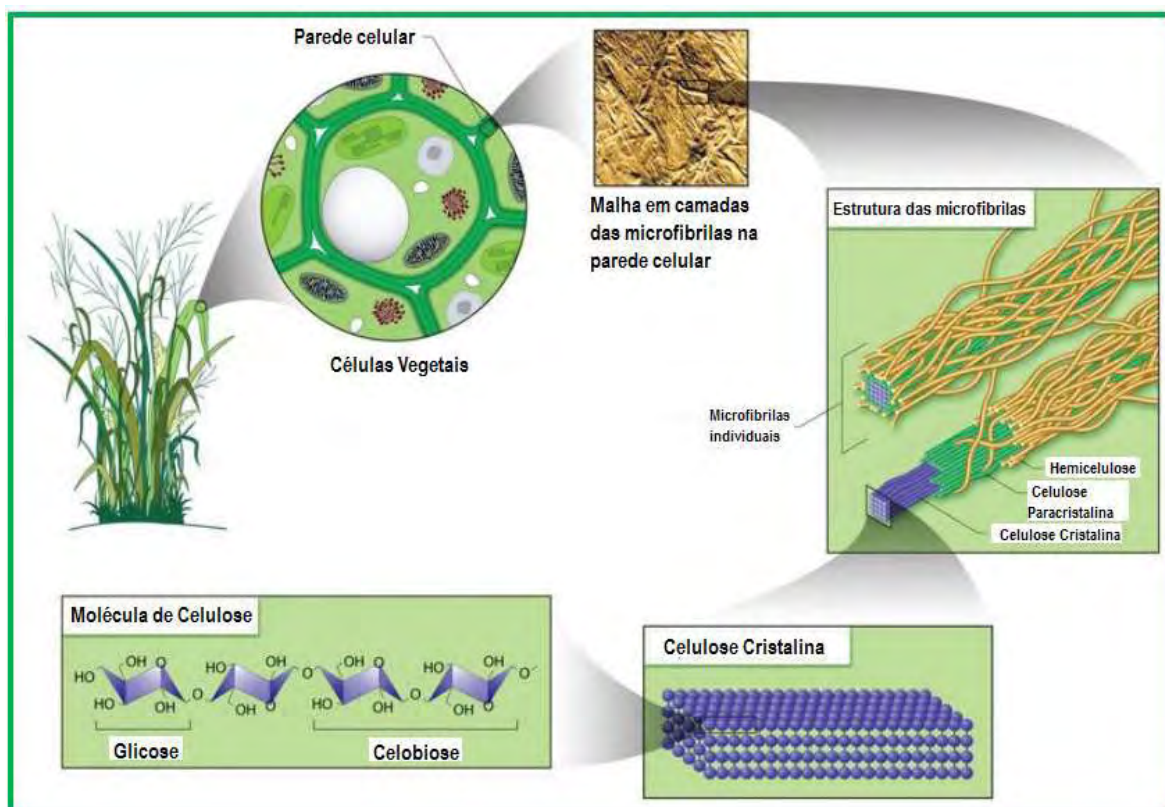
Fonte de celulose	Grau de Polimerização (GP)
Bactéria	2000-6000
Bagaço	700-900
Algodão	8000-15000
Linho	7000-8000
Madeira	8000-9000
Rami	9000-11000

A celulose é o principal constituinte da parede celular vegetal, sendo a microfibrila o componente estrutural básico da celulose. Ela é um produto do processo da fotossíntese em plantas e árvores, obtida via polimerização de condensação da glicose. Durante este processo longas cadeias lineares de anidroglicose agregam-se em forma de fios originando uma fibrila, figura 2.⁸

As microfibrilas resultantes do arranjo das moléculas de celulose são constituídas de regiões cristalinas, altamente ordenadas, e regiões amorfas, desordenadas. As regiões cristalinas são resultados da ação combinada da biopolimerização e cristalização da celulose comandada por processos enzimáticos. As regiões amorfas são resultados da má formação da estrutura devido à alteração no processo de cristalização. Essas são

denominadas, por alguns autores, de regiões em que a cristalização ocorreu com defeito.⁹

Figura 2 - Esquema da celulose da parede celular das células vegetais e organização das microfibrilas.⁵

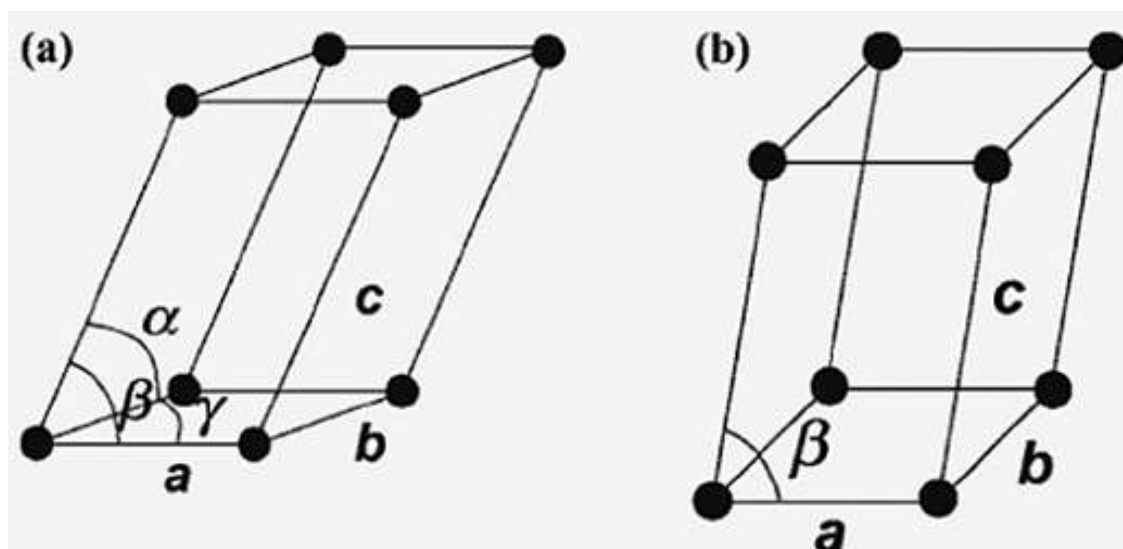


Nas regiões cristalinas, as cadeias de celulose são organizadas e estabilizadas por fortes e complexas redes de ligações de hidrogênio. A rede de ligações de hidrogênio e a orientação molecular da celulose podem variar amplamente, o que pode dar origem a alomorfos ou polimorfos de celulose, dependendo da fonte, do método de extração ou do tratamento. Seis polimorfos diferentes foram identificados, nomeados I, II, III_I, III_{II}, IV_I, e IV_{II} com a possibilidade de conversão de uma forma para a outra.⁶

A celulose tal como encontrada na natureza é conhecida como celulose nativa (celulose I). A celulose I é ainda formada por dois sub-alomorfos: celulose I α e celulose I β . As proporções entre as frações I α e I β em qualquer amostra de celulose nativa estão relacionadas com a origem. Segundo Klem et al. (2002) a celulose bacteriana e de alga contém grande quantidade da cela unitária I α , enquanto que as celuloses de algodão, rami e madeira predominam a cela unitária I β .^{8,10}

Em ambas estruturas $I\alpha$ e $I\beta$, as cadeias de celulose adotam configurações paralelas, mas elas diferem em seus padrões de ligações de hidrogênio, que implica numa diferença da estrutura cristalina, figura 3. De fato, o sub-alomorfo $I\alpha$ corresponde uma cela unitária triclinica $P1$ ($a = 6,717 \text{ \AA}$, $b = 5,962 \text{ \AA}$, $c = 10,400 \text{ \AA}$, $\alpha = 118,08^\circ$, $\beta = 114,80^\circ$ e $\gamma = 80,37^\circ$) contendo apenas uma cadeia por cela unitária, enquanto que a $I\beta$ existe em uma cela unitária monoclinica $P2_1$ tendo duas cadeias de celulose ($a = 7,784 \text{ \AA}$, $b = 8,201 \text{ \AA}$, $c = 10,38 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, e $\gamma = 96,5^\circ$). O sub-alomorfo $I\alpha$, uma fase metaestável, pode ser convertida irreversivelmente em $I\beta$, fase mais estável, por tratamento térmico.^{6,10}

Figura 3 - Estruturas propostas para a celulose nativa: (a) Triclinica, $I\alpha$, e (b) Monoclinica, $I\beta$.¹⁰



Como citado anteriormente, todas as fontes de celulose, no entanto, não são completamente cristalinas. A presença de celulose amorfa é significativa e a proporção entre regiões cristalinas e amorfas varia de espécie para espécie. A desorganização e a baixa densidade das regiões amorfas torna a estrutura susceptível à hidrólise ácida e uma eventual quebra em cristalitos individuais dando origem a nanopartículas denominadas nanocristais de celulose (NCC).^{8,9,10}

Embora a celulose possa ser produzida por diversos organismos e os nanocristais de celulose serem extraídos de diversas fontes de celulose, a bactéria *Gluconacetobacter*

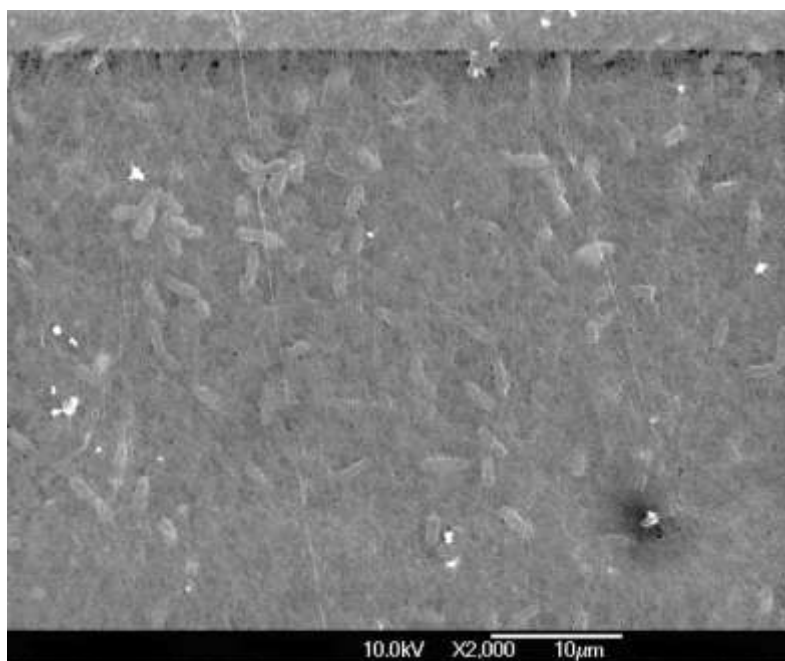
xilinus se destaca por produzir celulose em escalas comerciais com elevada cristalinidade e pureza.³

1.2 Celulose Bacteriana

A celulose bacteriana (CB), também chamada de biocelulose ou celulose microbiana, é sintetizada por bactérias aeróbicas, tais como a bactéria ácido acética do gênero *Gluconacetobacter*. As *Acetobacteraceae* são bactérias Gram-negativas em forma de bastão com alta tolerância a condições ácidas - a maioria das linhagens são capazes de crescer a valores de pH menores que 5,0.^{3,11}

A *Gluconacetobacter xilinus* (anteriormente chamada de *Acetobacter xilinum*) foi primeiro relatada por Brown em 1886 ao observar a formação de uma manta gelatinosa na superfície do caldo de fermentação do vinagre.^{3,12,13} Após análise microscópica da manta constatou-se a presença da bactéria, figura 4.³

Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície do gel liofilizado de celulose bacteriana.³



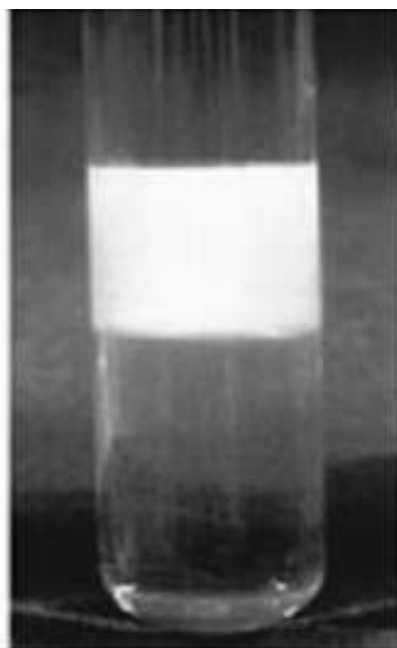
As bactérias do gênero *Gluconacetobacter* não são patogênicas e produzem celulose extracelular. Elas podem ser encontradas em todo lugar que ocorra a fermentação de açúcares e carboidratos das plantas, como por exemplo, nas frutas em

decomposição, flores, sucos, cervejas e vinhos não pasteurizados ou não esterilizados.^{14,15}

O motivo pelo qual as bactérias geram celulose não é claro, porém tem sido sugerida a hipótese de que é necessária para sua sobrevivência, como para proteger de raios ultravioletas ou para agir como uma barreira para fungos, leveduras e outros organismos.¹⁶

A produção de CB pode ser obtida em laboratório em meio de cultura estático, ou em cultivo agitado. A *G. xilinus* realiza oxidação incompleta de diversos açúcares e alcoóis, produzindo uma camada de celulose na interface líquido/ar, figura 5.¹⁴ A eficácia da produção de celulose é determinada pelo tipo de linhagem da *Gluconacetobacter*, os componentes do meio de cultura, a temperatura e, principalmente, pelo suprimento contínuo de oxigênio e carbono.³

Figura 5 - Cultura estática com membrana de celulose entre o meio de cultura e o ar após 8 dias de cultivo a 28°C.¹⁴



A síntese da CB ocorre entre as membranas externa e o plasma da célula por meio do complexo sintetizado de celulose (complexo terminal) iniciando com glicose uridina difosfato (GUD glicose). Este complexo é associado com os poros superficiais da célula bacteriana, com diâmetro de 3,5 nm. A celulose sintase catalisa a adição de GUD glicose

para o crescimento final da cadeia de celulose, que existem na célula como uma fibrila elementar, e posteriormente formam uma rede 3D com outras fibrilas elementares através da formação de microfibrilas e fitas. A cristalização e a polimerização das fibrilas estão intimamente ligadas. Uma única célula pode sintetizar por hora mais de 100 moléculas de glicose formando a celulose.¹⁴

1.2.1 Propriedades, Morfologia e Aplicações da CB

A celulose bacteriana produzida pela *G. xylinus* tem fórmula molecular idêntica a celulose das plantas (CP), porém suas propriedades mecânicas e físicas surgem de sua estrutura única que difere significativamente da CP.^{3,7}

As cadeias nascentes da CB se agregam para formar longas subfibrilas, que tem largura de aproximadamente 1,5 nm. As nanofibrilas de celulose bacteriana têm maior área superficial comparando-se com as fibrilas da CP. Por inferência, a CB tem uma maior capacidade de retenção de água, ao mesmo tempo em que apresenta grande elasticidade, alta resistência e flexibilidade.⁷

As subfibrilas são posteriormente cristalizadas em microfibrilas e depois formam feixes de microfibrilas ou microfibrilas. As microfibrilas são ultrafinas com largura de 1 a 9 nm, formando uma estrutura reticulada densa estabilizadas por várias ligações de hidrogênio. Essas redes apresentam um elevado índice de cristalinidade (60-90%) e elevado grau de polimerização, geralmente em torno de 2.000 a 6.000.^{7,14}

Por causa da sua estrutura de nano e microfibrilas cristalinas, a CB tem excelentes propriedades mecânicas, tabela 2. Portanto a CB pode ser adequada na utilização como um agente de reforço para papéis e fibras feitas a partir do vidro, carbono, resinas fenólicas e silicone em pequenas quantidades (5%).¹⁴

Tabela 2 - Propriedades mecânicas da celulose bacteriana e outros materiais orgânicos.¹⁴

Material	Módulo de Young (GPa)	Resistência à tração (MPa)	Deformação (%)
Celulose Bacteriana (CB)	15 - 35	200 - 300	1,5 - 2,0
Polipropileno (PP)	1 - 1,5	30 - 40	100 - 600
Poli(tereftalato de etileno) (PET)	3 - 4	50 - 70	50 - 300
Celofane	2 - 3	20 - 100	15 - 40

Outra vantagem da CB em relação à CP é sua pureza. A CB não contém lignina, hemiceluloses e outros constituintes dos materiais lignocelulósicos. Conseqüentemente, a CB é facilmente purificada utilizando NaOH, consumindo menos energia.⁷ Além disso, a CB possui alta resistência a tração, elasticidade, durabilidade, capacidade de retenção e absorção de água, biodegradabilidade, atóxica e não é alérgica. Devido a essas propriedades singulares a CB é aplicada nas mais diversas áreas, apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Aplicações da celulose produzida por *Gluconacetobacter xilinus*.^{3,15}

Áreas e aplicações da CB	
Alimentos	Sobremesa (nata de coco, sorvetes com baixa caloria, lanches, doces) Espessantes (sorvetes e temperos para saladas) Bases para redução de peso Bases para alimentos artificiais Tripas para embutidos Soro para redução de colesterol Elixir Kombicha ou chá Manchurian
Medicina	Curativos para ferimentos Agentes para produção de remédios orais e dermatológicos Substituto temporário da pele humana (Patente com nome BioFill, aplicações e propriedades descritas por Farah; Jonas (1998))
Cosméticos e estética	Adstringente Base para unhas artificiais Espessantes e fortificantes
Meio ambiente	Esponja para remover derramamento de óleos Base para remoção de materiais tóxicos
Petróleo e mineração	Recuperação de minérios e óleos (US Patents 5,011,596,797)
Vestimentas e calçados	Produtos de couro artificial
Esporte ao ar livre	Barraca e utensílios para acampamentos
Produtos para bebês	Fraldas descartáveis Pomadas (Johnson & Johnson)
Produtos de áudio	Diafragma de alto-falante e fones de ouvido (Sony Corporation)
Produtos florestais	Compensados Caixas de alta resistência

1.3 - Nanocristais de Celulose

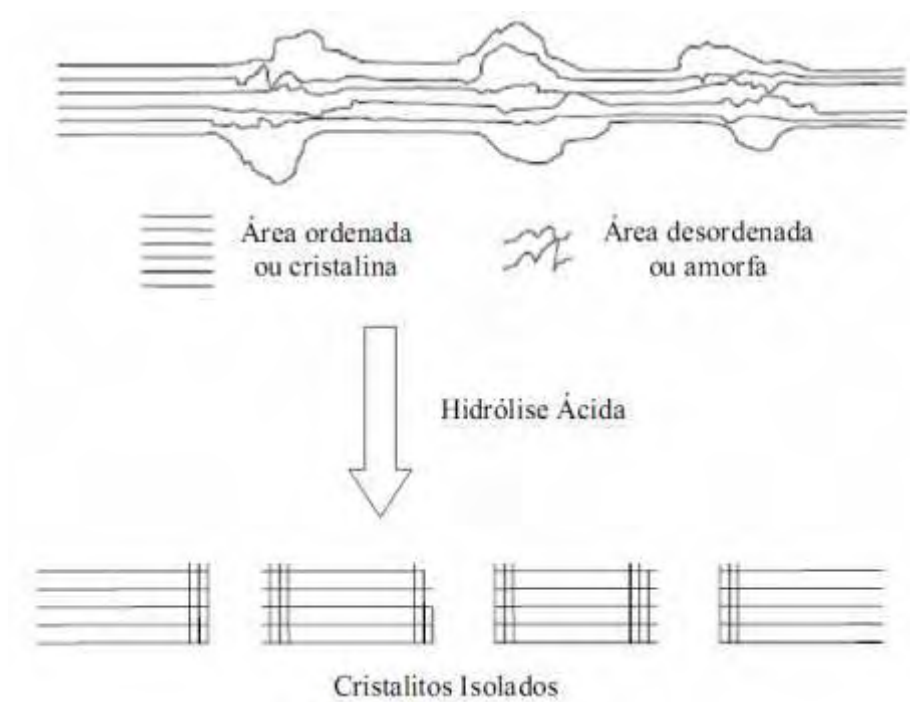
Nanocristais de celulose (NCC) são os domínios cristalinos de fibras celulósicas isolados por meio de hidrólise ácida ou enzimática, e são assim chamados devido às suas características físicas de rigidez, de espessura e de comprimento. Existem outros termos para defini-los, como por exemplo, “nanowhiskers de celulose”, “nanofibras de celulose” e “whiskers de celulose”.^{8,9}

O primeiro relato sobre NCC foi feito por Ranby em 1950. Ranby obteve suspensões coloidais estáveis de celulose a partir da degradação controlada das fibras de celulose catalisada com ácido sulfúrico. Esse trabalho foi inspirado a partir do trabalho de Nickerson e Habrle, em que eles observaram a degradação das fibras de celulose induzida por aquecimento em solução ácida alcançando um limite após certo tempo de tratamento. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão da suspensão seca revelaram a presença de agregados de partículas em forma de agulha e mais tarde medidas de difração de raio X mostraram que essas partículas tinham a mesma estrutura cristalina das fibras originais.⁶

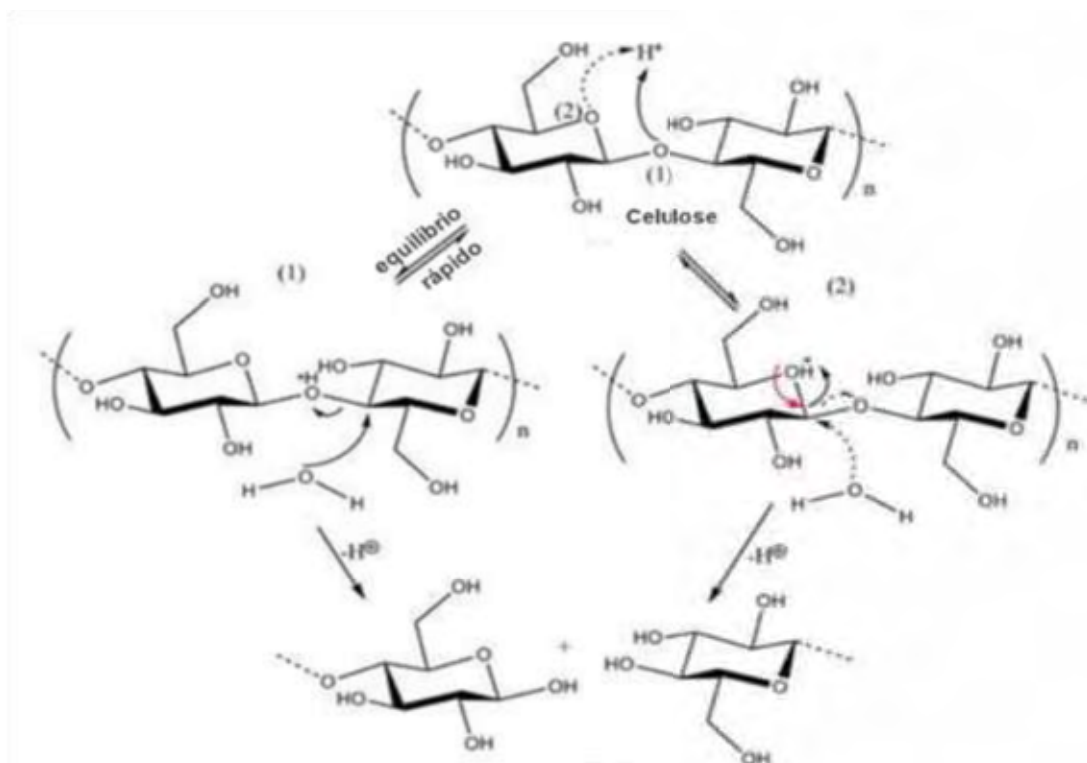
1.3.1 Preparação e Isolação dos Nanocristais de Celulose

O principal processo de isolamento dos NCC a partir das fibras de celulose é baseado na hidrólise ácida. As cadeias de celulose presentes nas regiões amorfas são orientadas aleatoriamente, levando a uma baixa densidade nessas regiões não cristalinas. Conseqüentemente, as regiões amorfas são mais susceptíveis ao ataque ácido. Os íons hidrônio podem penetrar mais facilmente nas cadeias de celulose desses domínios amorfos promovendo a clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas e, finalmente, liberando os cristalitos individuais em forma de agulha. Na figura 6 está representado um esquema da produção dos nanocristais de celulose através da hidrólise seletiva das regiões amorfas.^{17,18}

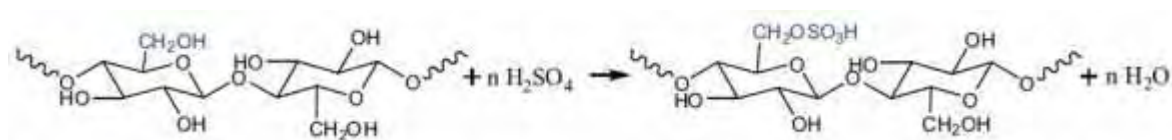
Figura 6 - Formação de nanocristais de celulose pela hidrólise seletiva das regiões amorfas.¹⁸



O mecanismo de hidrólise ácida sulfúrica da celulose é sugerido por Ping Lu et. al., figura 7. A reação do ácido sulfúrico com a celulose envolve a protonação rápida do oxigênio glicosídico (caminho 1) ou, em menor quantidade, do oxigênio cíclico (caminho 2), seguida de uma lenta quebra das ligações glicosídicas pela adição de água. Esse processo rende fragmentos de celulose preservando a estrutura básica da cadeia.¹⁹

Figura 7 - Mecanismo de hidrólise ácida da celulose com ácido sulfúrico.¹⁹

Concomitantemente à clivagem hidrolítica da celulose, reações de esterificação ocorrem substituindo grupos hidroxilas por sulfatos, figura 8.

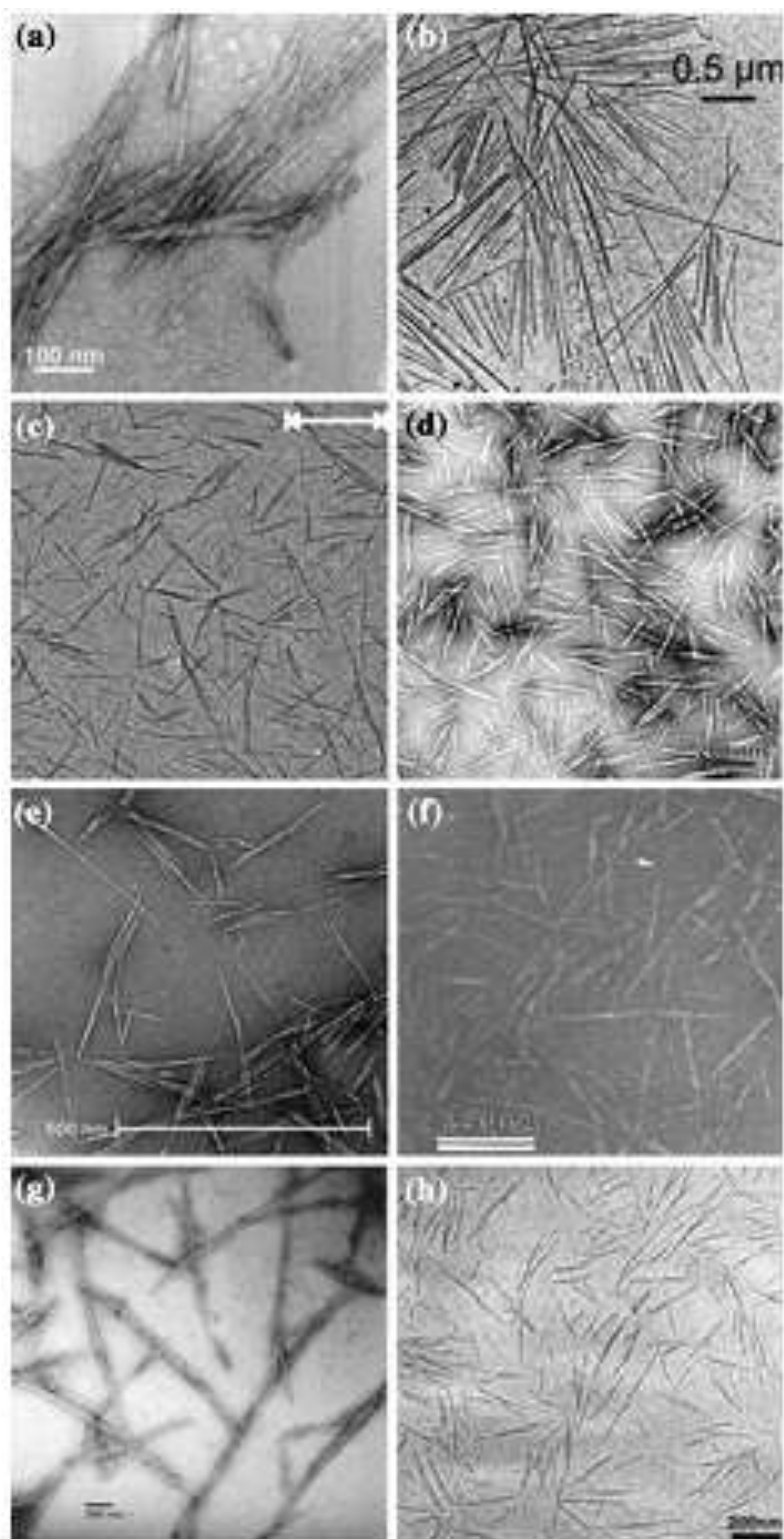
Figura 8 - Esterificação da celulose com ácido sulfúrico.²⁰

Após cessar a reação de hidrólise por diluição com água, o ácido residual e as impurezas são removidos por centrifugação e exaustiva diálise. Em seguida, a suspensão passa por um processo mecânico, geralmente a sonificação, que dispersa os nanocristais gerando uma suspensão estável uniforme.²¹

Os NCC podem ser isolados a partir de uma ampla variedade de fontes celulósicas, incluindo plantas, celulose microcristalina, animais, algas e bactérias. O emprego de NCC de celulose obtida de tunicado têm sido favorecidos devido seu

comprimento e elevada cristalinidade, embora a difusão da sua utilização possa ser restrita ao alto custo da colheita e limitada disponibilidade. A madeira, devido a sua abundância natural, tem sido a principal fonte de celulose, tal como o algodão, por causa da sua ampla disponibilidade e elevada quantidade de celulose (94%). Apesar disso, o processo de extração dos NCC da madeira requer um pré-tratamento de purificação para retirada de lignina e hemiceluloses, esse processo é poluente e custoso. Neste caso a celulose bacteriana é uma alternativa, pois é livre de impurezas, além de ser altamente cristalina e obtida em escalas comerciais. O papel filtro e produtos relacionados foram os substratos mais utilizados para a pesquisa básica inicial sobre NCC por causa da sua pureza e pronta disponibilidade nos laboratórios. Algumas imagens de microscopias eletrônicas de transmissão típicas dos NCC de diversas fontes de celulose estão reportadas na Figura 9.^{11,22}

Figura 9 - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos NCC obtidos a partir de (a) celulose microcristalina, (b) tunicado, (c) algodão, (d) rami, (e) sisal, (f) palha de trigo, (g) celulose bacteriana e (h) beterraba.²



As dimensões geométricas (comprimento, L , e diâmetro, d) variam amplamente, de acordo com os exemplos dados na tabela 4. As variações das dimensões dependem da fonte do material celulósico e das condições sob as quais a hidrólise é realizada.^{6,23}

Tabela 4 -Exemplos de comprimento (L) e diâmetro (D) dos nanocristais de celulose a partir de várias fontes por diferentes técnicas de análise.²³

Fonte	L (nm)	d (nm)	Razão de aspecto (L/d)	Técnica	Referências
Bactéria	100-1000	10-50	2-100	MET	Araki et. al. (2001)
Algodão	100-150	5-10	10-30	MET	Araki et. al. (2001)
	150-210	5-11	15-42	MEV-E	Miller e Donald (2003)
Celulose microcristalina	~500	10	50	AFM	Pranger e Tannenbaum (2008)
Rami	50-150	5-10	5-30	MET	de Menezes et. al. (2009)
Sisal	100-500	3-5	20-167	MET	de Rodrigues et. al. (2006)
Tunicado	1160	16	73	DDLS	de Souza Lima et. al. (2003)
	100- vários 1000	15-30	3-67	MET	Kimura et. al. (2005)
<i>Valonia</i>	>1000	10-20	50-100	MET	Revol (1982)
Madeira	100-300	3-5	20-100	AFM	Beck-Candanedo et. al. (2005)

Devido à alta razão de aspecto e elevado grau de cristalinidade, os NCC tem sido muito utilizados como carga para compósitos. Eles são incorporados em plásticos, melhorando a resistência e diminuindo o custo. Com isso podem ser aplicados em materiais da indústria automotiva e construção. Entretanto, ainda existem alguns impedimentos no emprego dos NCC como carga em compósitos: os NCC tendem a se agregarem durante a dispersão em matrizes biopoliméricas hidrofóbicas, absorvem umidade e a temperatura de decomposição é em torno de 230 °C, o que limita sua aplicação pois está na faixa de temperatura dos processamentos de extrusão/injeção de polímeros, entre 200 e 250 °C.²⁴

Além do ácido sulfúrico, outros ácidos minerais podem ser empregados na hidrólise da celulose como ácido clorídrico (mais usado), ácido fosfórico e ácido bromídrico. O tipo de ácido mineral empregado influencia as propriedades de superfície dos NCC. Se os NCC são preparados por hidrólise em ácido clorídrico, a sua capacidade para dispersar é limitada e a sua suspensão aquosa tende a flocular. Por outro lado, quando o ácido sulfúrico é usado como agente hidrolizante, ele reage com os grupos

hidroxilas da superfície da celulose rendendo superfícies carregadas de éster sulfatos que promovem a dispersão dos NCC em água.^{6,11}

1.3.2 Auto-organização e Propriedades Ópticas dos Nanocristais de Celulose

Os nanocristais de celulose são partículas carregadas em forma de agulha ou bastão rígidas. Suas suspensões aquosas possuem uma característica muito interessante: a auto-organização em fases nemáticas quirais.²⁵

Em 1959 Marchessault et al. observaram que suspensões aquosas de NCC tinham caráter birrefringente. Isso acontece porque partículas em forma de bastão, assim como os NCC, têm forte tendência a se alinhar ao longo do vetor diretor. Como resultado da forte birrefringência da celulose nativa, esse alinhamento das partículas criam uma birrefringência macroscópica que pode ser diretamente observada através de polarizadores cruzados, figura 10. O alinhamento dos NCC de algodão foram estudados por Ebeling et al. utilizando experimentos de espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS - sigla em inglês de “Small Angle X-ray Scattering”). Eles demonstraram que esse alinhamento é dependente da taxa de cisalhamento e é completamente reversível.^{17,26}

Figura 10 - Imagem de uma suspensão (0,63% em massa) de NCC de celulose bacteriana, observada entre polarizadores cruzados.²⁷

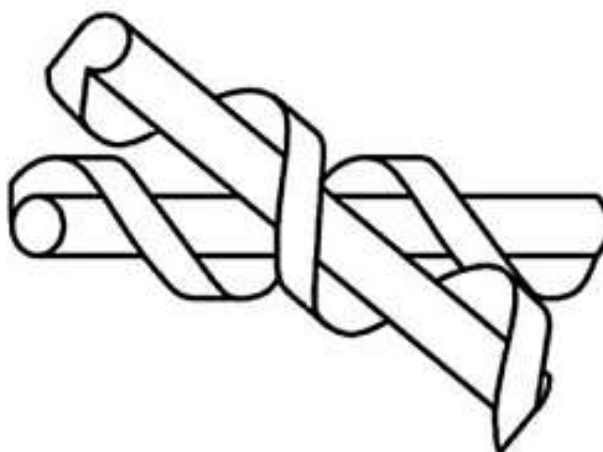


Quando o processo de hidrólise da celulose é feito com ácido sulfúrico, ele reage com os grupos hidroxilas dos NCC produzindo superfícies carregadas negativamente com grupos sulfatos. Esta superfície carregada promove uma dispersão perfeitamente uniforme dos NCC em água por repulsão eletrostática. Em suspensões de NCC diluídas a fase é isotrópica e os NCC estão aleatoriamente orientados. Com o aumento da concentração, por exemplo, pela remoção de água, os NCC tendem a adotar configurações que minimizem as interações eletrostáticas e se auto-organizam espontaneamente em arranjos líquido cristalinos. Ao atingir uma concentração crítica, os NCC podem formar uma fase ordenada nemática quiral (fase colestérica).^{28,29}

O ordenamento líquido cristalino dos NCC foi primeiro demonstrado por Marchessault et. al. em 1959. Entretanto, só várias décadas depois Revol et. al. em 1992 mostrou que suspensões de NCC de fato formavam uma fase líquido cristalina nemática quiral ou colestérica.²⁵

Os NCC têm uma torção helicoidal ao longo do seu eixo, figura 11. Essa torção induz a suspensão de NCC a atingir um empacotamento helicoidal normal ao eixo da haste. Como em parafusos, um arranjo de maior empacotamento é o em ângulos que fazem o “entrelaçamento dos fios”. Assim os NCC assumem uma fase nemática quiral.^{15,30}

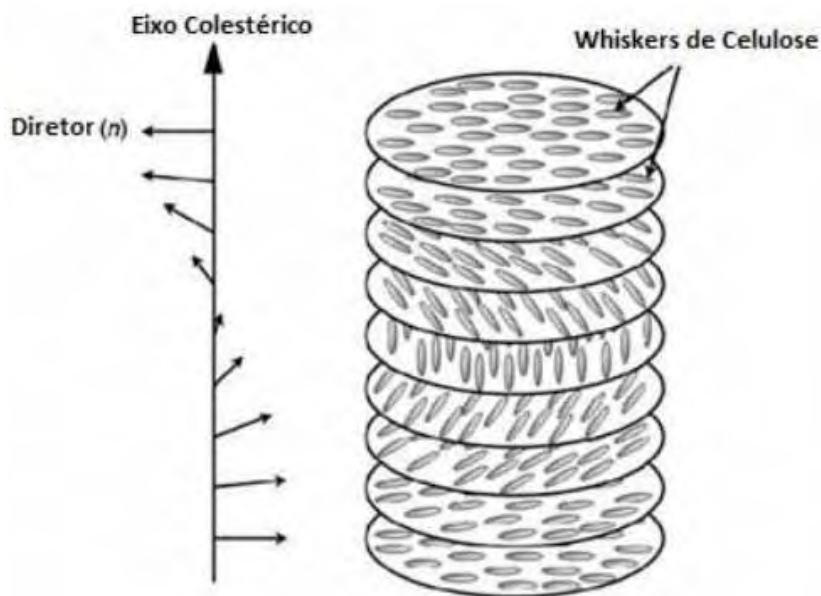
Figura 11 - Representação esquemática dos NCC e o empacotamento máximo alcançado devido a torção ao longo do seu eixo.¹⁶



Nos cristais líquidos nemáticos quirais as partículas se alinham aproximadamente paralelas entre si ao longo de um vetor diretor (n). No entanto, com cada subsequente plano de cristalitos o diretor gira através de um ângulo perpendicular ao eixo colestérico, como representado na figura 12. Esse ordenamento em forma de

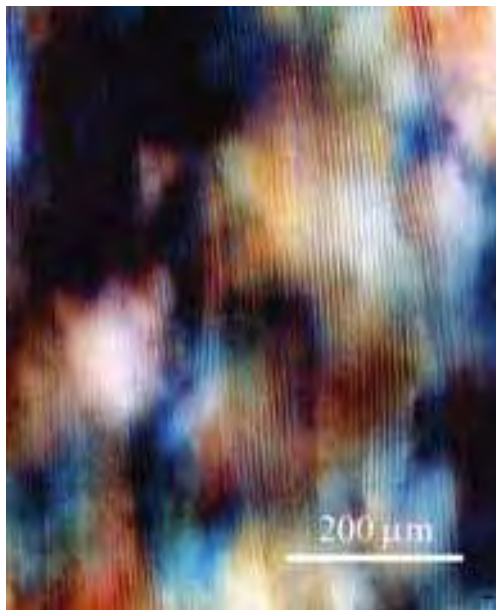
hélice já foi observado em outros sistemas tais como o colesterol, o mais conhecido dos cristais líquidos nemáticos quirais (por isso a origem do nome – colestérico), fragmentos de DNA, colágeno e quitina. A distância para o vetor diretor completar uma volta de 360° em torno do eixo colestérico é conhecida como passo colestérico e é partir desse passo que emergem as propriedades ópticas dos cristais líquidos nemáticos quirais.^{17,18,25}

Figura 12 - Representação esquemática da ordem nemática quiral exibida por cristalitos de celulose. O diretor (n) é indicado para girar ao longo do eixo colestérico entre planos consecutivos de cristais de celulose paralelos.³¹



As estruturas nemáticas quirais podem ser identificadas por microscopia óptica de luz polarizada, elas aparecem como imagens semelhantes a impressões digitais, figura 13. A distância entre as estrias é equivalente a $P/2$ (onde P é o passo colestérico).³²

Figura 13 - Textura nemática quiral da fase anisotrópica de uma suspensão de nanocristais de celulose bacteriana de concentração 3%.³²



As fases líquido cristalinas nemáticas quirais são conhecidas por terem propriedades ópticas únicas e particulares quando o passo é da mesma ordem de magnitude do comprimento de onda da luz visível. Algumas propriedades principais podem ser distinguidas como a reflexão da luz por interferência construtiva, polarização circular da luz refletida e reflexão da luz polarizada circularmente da mesma direção da estrutura nemática quiral sem mudar a direção.^{33,34}

A reflexão da luz por interferência construtiva não é uma propriedade limitada a materiais colestéricos mas também pode ser observada em cristais líquidos esméticos. Nos cristais líquidos colestéricos esta propriedade é devido a estrutura em camadas periódicas da hélice (passo nemático quiral). Quando uma luz branca é incidida nesses materiais, apenas comprimentos de onda característicos são refletidos e estes variam com o ângulo de visão. Essa reflexão seletiva é devido a interferência construtiva que segue a lei de Bragg.^{33,34}

Revol et. al. relataram a conservação dessa estrutura líquido cristalina nemática quiral após evaporação da água, produzindo filmes sólidos semi-translúcidos. Esses filmes são iridescentes e refletem luz polarizada circularmente para a esquerda em uma estreita banda de comprimento de onda determinada pelo passo nemático quiral da estrutura líquido cristalina. O comprimento de onda refletido resulta em iridescência

colorida visível quando o passo da hélice é na ordem do comprimento de onda da luz visível (entre 400-700nm).^{25,35}

A formação de filmes ordenados através da possibilidade de alinhamento dos NCC com o campo magnético foi reportada por Sugiyama et al. em 1992. Isso foi alcançado através da secagem de suspensões aquosas de NCC de tunicados em temperatura ambiente sob um forte campo magnético de 7T. As microscopias eletrônicas de transmissão e difração de raios X dos filmes resultantes mostraram a orientação dos NCC perpendicular à direção do campo magnético. Foi sugerido que a orientação magnética é devido à susceptibilidade magnética anisotrópica das ligações C—C, C—O, C—H e O—H e suas orientações relativas nos cristais. Porém, um papel insignificante no alinhamento foi atribuído ao éster sulfato da superfície dos NCC resultantes da hidrólise ácida sulfúrica.³⁶

A cor refletida dos filmes depende do tamanho do passo colestérico. Algumas das maneiras de se controlar o passo colestérico dos NCC de celulose são adicionando eletrólitos ou variando a energia acústica aplicada na suspensão.

Prévios estudos mostraram que aumentando a concentração de eletrólitos na suspensão de NCC antes da secagem do filme diminuem o comprimento de onda da reflexão dos filmes sólidos. A adição de eletrólitos tais como HCl, NaCl e KCl induz um decréscimo no valor de P. Os eletrólitos ocultam parcialmente as cargas negativas dos grupos éster sulfato na superfície dos NCC, reduzindo a repulsão eletrostática interpartícula. Os NCC se aproximam mais um dos outros e conseqüentemente o passo nemático quiral diminui deslocando a banda de reflexão para menores comprimentos de onda. No entanto, esse método de controle do passo colestérico é limitado pela quantidade de sal adicionado, pois a adição de sal à suspensão leva à floculação dos NCC e induz a destruição do ordenamento líquido cristalino. Outra limitação é o deslocamento unidirecional da reflexão para a região do ultravioleta no espectro.^{25,29,35,37}

Os efeitos da sonicação sobre as suspensões de NCC foram estudados por Dong et. al. onde relata que apenas uma breve sonificação é suficiente para a formação de fase líquido cristalina. O tratamento de ultrassom utilizado na etapa final da produção das suspensões de NCC para a dispersão dos cristalitos também influencia no controle do passo colestérico. Acredita-se que a sonificação além de promover a quebra dos

cristalitos (aumentando a concentração crítica para a formação de fase líquido cristalina), a energia sonora também é capaz de aumentar o passo colestérico.^{35,38}

Por causa dessas interessantes propriedades ópticas, esses filmes coloridos podem ter importantes aplicações, tais como papel de segurança incluindo notas de banco, passaportes e certificados. Eles também podem ser usados para produzir novos pigmentos para revestimentos e tintas em que a cor depende do ângulo de visão, não podendo ser reproduzidas por impressões comuns.³⁰

2 OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho se concentra na obtenção de suspensões e filmes iridescentes de nanocristais de celulose bacteriana. Para se alcançar este objetivo fez-se necessário estudar:

- a) Influência do tempo de hidrólise da celulose bacteriana para a obtenção de suspensões nanocristais de celulose.
- b) Influência da variação da energia de ultrassom aplicada às suspensões de nanocristais de celulose bacteriana e propriedades ópticas dos filmes obtidos a partir dessas suspensões.
- c) Influência da adição de sal (cloreto de sódio) às suspensões de nanocristais de celulose bacteriana e propriedades ópticas dos filmes obtidos a partir dessas suspensões.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Influência da variação do tempo de hidrólise

a) Preparo das suspensões de nanocristais de celulose bacteriana

Membranas secas de CB (Fibrocell) foram trituradas em moinho de facas. As fibras trituradas foram hidrolisadas em ácido sulfúrico 64% (Synth) à 50°C sob agitação magnética constante. Foram preparadas cinco amostras misturando 17,5 mL de ácido para cada grama de CB, variando o tempo de hidrólise para cada amostra. As amostras foram nomeadas da seguinte forma:

Tabela 5 - Tempos de hidrólise e respectivos nomes das amostras.

Tempo de Hidrólise (minutos)	Nome da amostra
0	CB
5	NCCB5
10	NCCB10
15	NCCB15
30	NCCB30
50	NCCB50
70	NCCB70
90	NCCB90

A hidrólise foi cessada diluindo-se a mistura dez vezes com água deionizada gelada. A suspensão foi centrifugada a 6000 rpm por 10 min para concentrar os nanocristais de celulose e remover o excesso de ácido. O precipitado resultante foi colocado em membranas de diálise e colocado contra água deionizada até alcançar pH 3 - 4. As suspensões de NCCB foram sonificadas por 10 min (pulso: 5 s ligado e 2 s desligado) num ultrassom de ponteira da Brenson, modelo VC 505 500W 20 kHz , em banho de gelo, a energia acústica aplicada foi de 15 000 J.

b) Preparo dos filmes sólidos de nanocristais de celulose bacteriana obtidos por variação do tempo de hidrólise

Filmes sólidos de NCCB foram preparados pela evaporação lenta de 8mL da suspensão de NCCB de concentração em torno de 1% (m/m) sob temperatura ambiente em pequenas placas de petri de poliestireno.

3.2 Influência da Variação da Energia de Ultrassom e da Adição de Sal (NaCl)

a) Preparo das Suspensões de Nanocristais de Celulose Bacteriana

Escolhido o tempo de hidrólise de 30 minutos, foi preparada uma suspensão estoque de NCCB nas mesmas condições citadas acima (tópico 3.1 (a)) porém não foi feito o tratamento de ultrassom pra posterior estudo da variação da energia de ultrassom aplicada a suspensão de NCCB.

b) Tratamento de Ultrassom sobre as suspensões NCCB

A partir da suspensão estoque de NCCB foram separadas oito alíquotas com concentração 2,5 % (m/m) e para cada uma aplicou-se uma energia sonora diferente, dadas pela tabela 6. As amostras foram sonificadas até atingir a energia aplicada desejada usando um ultrassom de ponteira modelo VC 505 500W 20 kHz.

Tabela 6 - Nomes das amostras e respectivas energias de ultrassom aplicada.

Nome da amostra	Energia acústica aplicada (J/g)
AM 1	0
AM 2	250
AM 3	500
AM 4	700
AM 5	1200
AM 6	1800
AM 7	2500
AM 8	7200

c) Adição de sal as suspensões de NCCB

Foram separadas sete alíquotas da suspensão de NCCB de concentração 3% (m/m) e a cada uma delas adicionada uma determinada concentração de cloreto de sódio, como discutido na tabela 7. Após adição do sal todas as amostras foram levadas para tratamento de ultrassom aplicando-se energia sonora de 1800 J/g.

Tabela 7 - Nomes das amostras e respectivas concentrações de NaCl adicionado.

Nome da amostra	Concentração de NaCl (mM)
S0	0
S1	0,25
S2	0,75
S3	1,3
S4	2,0
S5	2,75
S6	5,0

d) Preparo dos Filmes Sólidos de Nanocristais de Celulose Bacteriana

As amostras tratadas com diferentes energias de ultrassom e as amostras as quais foram adicionadas variadas concentrações de NaCl foram espalhadas em placas de petri de poliestireno e em seguida colocadas para evaporar em temperatura ambiente sob campo magnético de 7 T.

3.3 Técnicas Empregadas na Caracterização das Suspensões e Filmes de Nanocristais de Celulose Bacteriana

a) Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS)

As medidas de Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS) foram feitas em um espectrofotômetro PCS-100 Brookhaven Instruments, com goniômetro modelo BI-200SM, laser de 25 MW, comprimento de onda de 532 nm, índice de refração real 1,520 e índice de refração imaginário igual a 0,100. Foram realizadas 10 medidas de 30 segundos, totalizando 5 minutos.

b) Análise Elementar

A análise elementar foi realizada com o objetivo de se verificar a presença de enxofre nos nanocristais de celulose após reação de hidrólise. As medidas foram realizadas em um equipamento modelo EA 1108 da FISON.

c) Análise Termogravimétrica (TG/DTG)

As curvas TG foram realizadas em um equipamento TA Instruments usando uma célula SDT Q600. As condições utilizadas nos experimentos foram, nitrogênio com vazão de 100 mL/min, e razão de aquecimento de 10 °C por minuto. A temperatura inicial foi de 30 °C e a temperatura final de 550 °C. Foram pesados em média 3mg de cada amostra, utilizando-se cadinho de alumina como referência.

d) Difração de raio-X (DRX)

Os difratogramas de raios X foram obtidos utilizando-se um difratômetro Siemens Kristalloflex, com filtro de níquel e radiação $\text{CuK}\alpha$, entre os ângulos 2θ de 4 a

70°, tempo de contagem de 10s e passo de 0,01. As amostras foram afixadas sobre um suporte de vidro.

e) Microscopia Óptica de Luz Polarizada (MOLP)

As imagens de microscopia óptica de luz polarizada foram obtidas em um microscópio óptico modelo Olympus BX-41, em aumento de 20x e entre polarizadores cruzados a 90°.

f) Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas no microscópio modelo JEOL JSM 7500F no Instituto de Química de Araraquara. As amostras foram colocadas em um suporte de cobre, recoberta com uma camada de carbono com espessura de 1-10 nm, operando na faixa de tensão de 3 - 10 kV.

g) Microscopia de Força Atômica (AFM)

As micrografias foram obtidas em um microscópio modelo Agilent 5500. A amostra foi analisada com cantilever de silicone recoberto com uma camada de alumínio, em modo de não-contato, com pontas de silício e frequência de ressonância 70 kHz.

h) Espectroscopia na região do UV/Visível

As medidas de Espectroscopia de Transmitância e Reflectância Especular foram realizadas em um espectrofotômetro UV/visível Varian, modelo Cary 500.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterizações das Suspensões de Nanocristais de Celulose Bacteriana (NCCB)

A hidrólise ácida da celulose provoca clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas entre duas unidades de anidroglicose. Esse processo rende fragmentos com pequenas cadeias preservando a estrutura básica da celulose. Na celulose, as regiões amorfas são mais acessíveis aos íons hidrônio e suscetíveis à ação hidrolítica do que na região cristalina. Com ácido sulfúrico e aquecimento brando (50°C) a maioria das regiões amorfas são digeridas rapidamente produzindo nanocristais de celulose em solução.^{17,19}

Além da cisão da cadeia, a hidrólise da celulose com ácido sulfúrico envolve a introdução de grupos sulfato à superfície dos nanocristais de celulose. Esses grupos sulfatos deixam a superfície das nanopartículas carregadas negativamente em pH ácido, resultando em suspensões aquosas estáveis. Essa estabilização aniônica por via das forças de repulsão é muito eficiente na prevenção da agregação dos nanocristais de celulose impulsionado pelas ligações de hidrogênio.²⁰

A figura 14 apresenta uma foto representativa das suspensões de nanocristais de celulose obtidas através da hidrólise ácida sulfúrica da celulose bacteriana em diferentes tempos de reação. Todas as suspensões de NCCB apresentaram aspecto homogêneo, coloração branca leitosa e concentração em torno de 1% em massa.

Figura 14 - Fotografia da suspensão de nanocristais de celulose bacteriana de concentração 1% (m/m).



4.1.1 Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS)

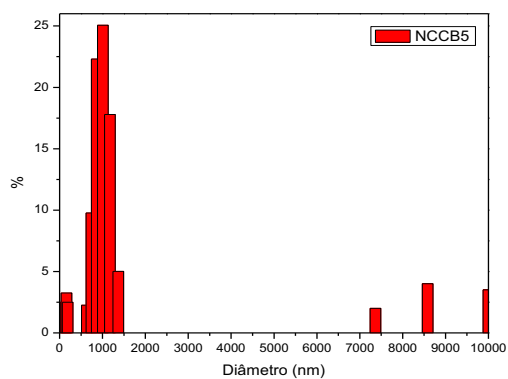
Com o intuito de estudar o efeito do tempo de hidrólise sobre o tamanho dos NCCB foram realizadas medidas de Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS) sobre as suspensões.

A figura 15 apresenta os histogramas de PCS para as amostras NCCB5, NCCB10, NCCB15, NCCB30, NCCB70 e NCCB90, respectivamente. Os gráficos mostram duas distribuições de tamanhos devido à forma de agulha dos cristais. Observa-se com cinco minutos de hidrólise a amostra NCCB5 (figura 15 a), a primeira distribuição de tamanho vai de poucos nanômetros a 1,5 μm e a segunda em torno de 7 a 10 μm . Em 10 minutos de hidrólise, amostra NCCB10 (figura 15 b), as distribuições diminuem de poucos nanômetros a 700nm e 1,8 a 3,5 μm . A partir de 15 minutos o tamanho dos NCC decaem e não mudam mais significativamente conforme aumenta-se o tempo de hidrólise. Estas distribuições observadas estão próximas com a reportado na literatura

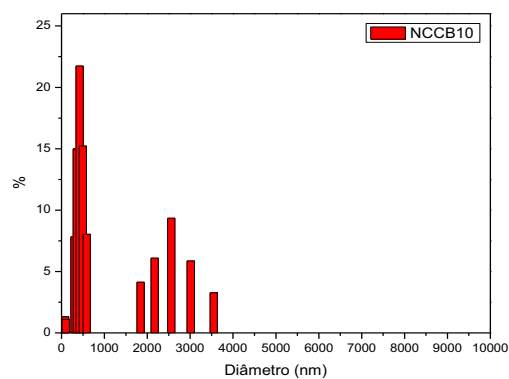
(Hirai et. al.) que varia de 10 nm x 50 nm de diâmetro e de 100 nm a vários micrômetros de comprimento.³²

Figura 15 - Distribuição de tamanhos das amostras das suspensões de nanocristais de CB obtidos em diferentes tempos de hidrólise ácida: (a) NCCB5, (b) NCCB10, (c) NCCB15, (d) NCCB30, (e) NCCB70 e (f) NCCB90.

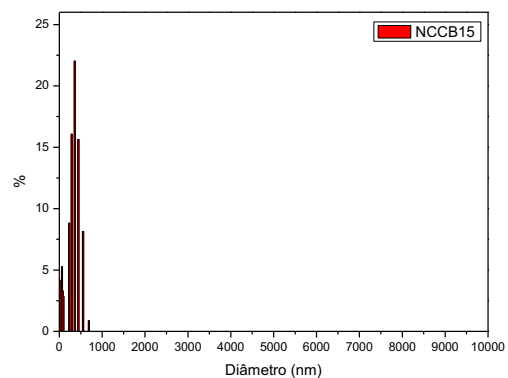
a)



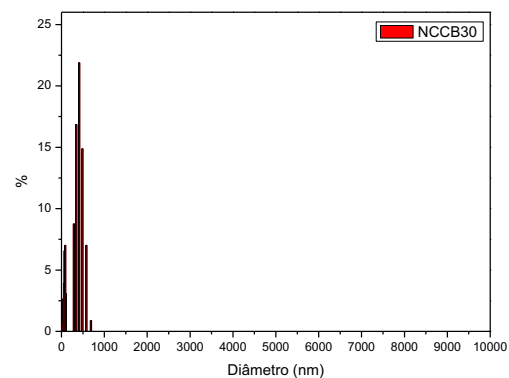
b)



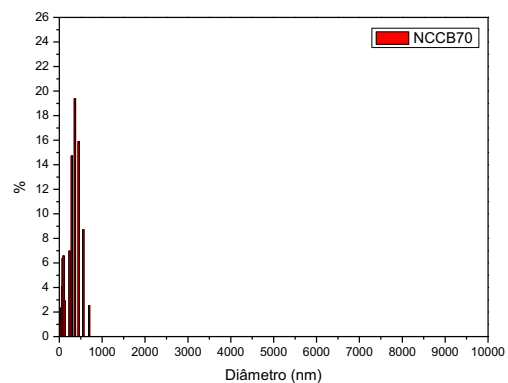
c)



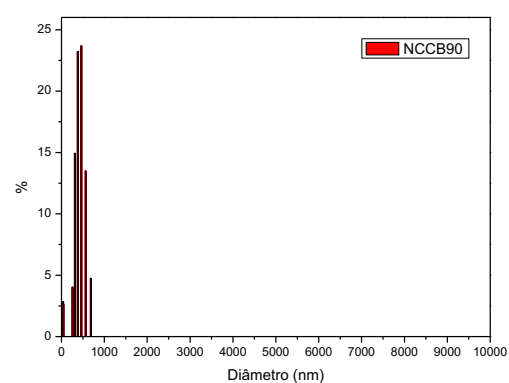
d)



e)



f)



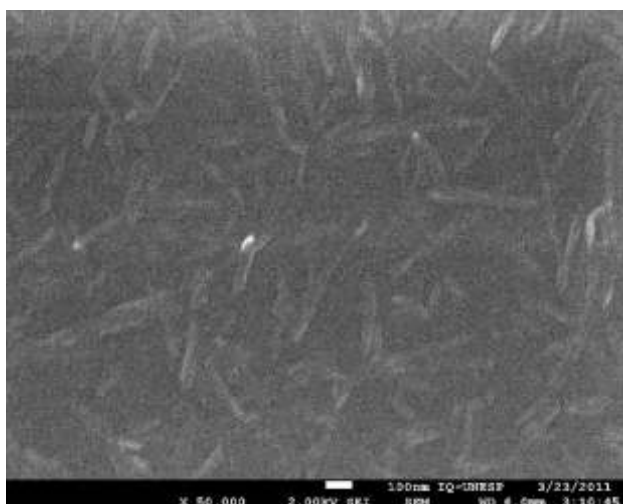
Esse decréscimo no tamanho dos NCC nos tempos iniciais de hidrólise segue o modelo proposto por Millet et al. (1954), onde os autores relatam que nos estágios iniciais da reação de hidrólise o ácido difunde preferencialmente nas porções não cristalinas da celulose e hidrolisa as ligações glicosídicas mais acessíveis. Depois que essas regiões mais acessíveis ao ataque ácido foram hidrolisadas, mais reações ocorrem, só que mais lentamente, na terminação redutora da celulose e na superfície das regiões cristalinas, isto é, nos nanocristais de celulose. Dessa forma, as dimensões dos NCC tornam-se relativamente estáveis após certo tempo de hidrólise, no caso, após 15 minutos de hidrólise a 50 °C.³⁸

4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Força Atômica (AFM)

A forma e tamanho das partículas de NCCB foram investigados por MEV e AFM. As microscopias eletrônicas de varredura, figura 16, e força atômica, figura 17, da suspensão de nanocristais de celulose (concentração 0.01%) da amostra NCCB50, mostram de forma representativa que a suspensão é constituída de fragmentos em forma de agulha confirmando a formação dos nanocristais de celulose bacteriana. Os NCCB apresentam largura em torno de 30 nm e uma grande polidispersividade de comprimento, variando de algumas centenas de nanômetros a vários micromêtros, como já observado por PCS.

Figura 16 - MEV da suspensão de NCCB50.

a)

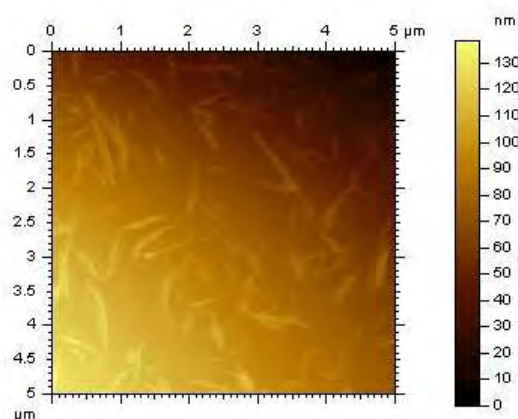


b)

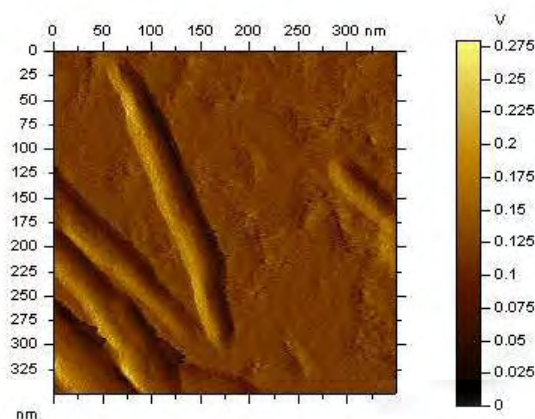


Figura 17 - AFM da suspensão dos nanocristais de celulose bacteriana obtidos em 50 minutos de hidrólise ácida.

a)



b)



4.1.3 Análise elementar

A tabela 8 apresenta a análise elementar das amostras obtidas em diferentes tempos de hidrólise. Observa-se que a quantidade de enxofre aumenta com o tempo de reação, porém a partir de 30 minutos essa quantidade permanece constante em torno de

1%. Esses resultados indicam a incorporação gradativa de grupos éster sulfato na superfície dos nanocristais de celulose bacteriana conforme se aumenta o tempo de reação e que depois de 30 minutos não ocorre mais esterificação da celulose.

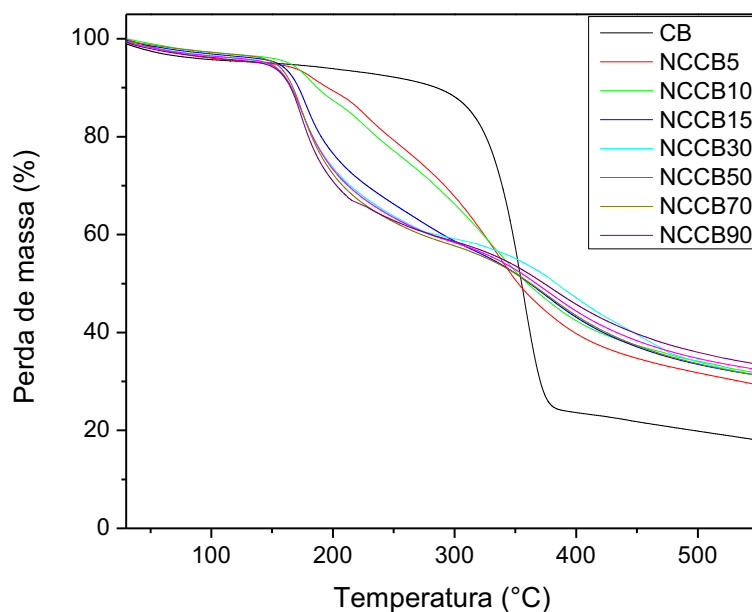
Tabela 8 - Análise elementar das amostras de nanocristais de celulose bacteriana obtidas em diferentes tempos de hidrólise.

Amostra	Nitrogênio (%)	Carbono (%)	Hidrogênio (%)	Enxofre (%)
NCCB5	0,2029	41,9219	6,1614	0,5395
NCCB10	0,1642	42,2513	5,8288	0,6715
NCCB15	0,1210	41,3048	6,0209	0,8059
NCCB30	0,1823	40,0783	5,4231	1,0904
NCCB50	0,1684	38,5350	5,2963	0,9877
NCCB70	0,2113	39,7666	5,4474	1,0097
NCCB90	0,1617	37,8938	5,3189	1,0024

4.1.4 Análise Termogravimétrica (TG/DTG)

A figura 18 apresenta a curva termogravimétrica da celulose bacteriana pura e dos nanocristais de CB, produzidos em diferentes tempos de hidrólise com ácido sulfúrico.

Figura 18 - Curvas termogravimétricas da CB pura e das amostras de nanocristais de CB obtidas em diferentes tempos de hidrólise.



Em todas as amostras, a perda de massa inicial em torno de 100°C é atribuída à evaporação da umidade absorvida.

A curva térmica da celulose bacteriana apresenta um perfil típico esperado para materiais celulósicos com temperatura “onset” acima de 300 °C, decorrente do processo de despolimerização, desidratação e decomposição das unidades glicosídicas. A fragmentação das ligações carbonila e carboxila levam à decomposição das unidades de anidroglicose com a formação de dióxido de carbono e monóxido de carbono, deixando cerca 18 % de resíduos carbonáceos em 550 °C.

A temperatura inicial da degradação térmica das amostras de NCCB em relação à sua fonte, a celulose bacteriana pura, diminuiu gradativamente conforme se aumentou o tempo de hidrólise até 30 minutos, a partir deste tempo o perfil das curvas não mudam significativamente até o tempo de 90 minutos. De acordo com Roman e Winter (2004) o ácido sulfúrico diminui a termoestabilidade dos nanocristais de celulose. Assim, a diminuição gradual da temperatura de degradação nos tempos iniciais de hidrólise pode ser devido ao aumento da quantidade de grupos sulfatos introduzidos à superfície dos NCCB, como confirmado na análise elementar.¹⁹

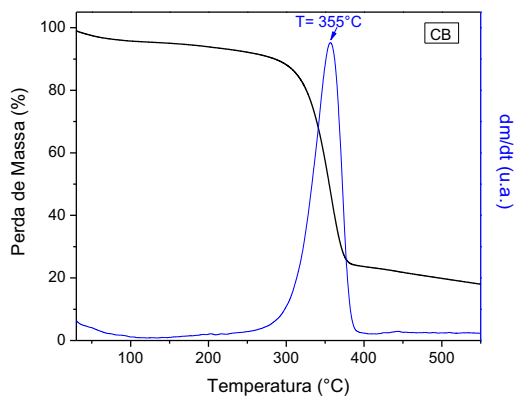
Para os NCCB os eventos térmicos podem ser divididos em duas etapas principais. Primeiramente ocorre a reação de degradação da celulose nas unidades de cadeia que contém grupos sulfatos, porque eles promovem as reações de desidratação da celulose que libera água e catalisa as reações de degradação da celulose. Além disso, a substituição dos grupos hidroxilas por grupos sulfatos diminui a energia de ativação para a degradação das cadeias de celulose. Em altas temperaturas (maior que 280 °C), ocorrem as reações de degradação das cadeias de celulose com menores quantidades de grupos sulfatos e/ou cadeias de celulose que não tiveram contato com o ácido sulfúrico. Observa-se também que o rendimento de resíduos dos NCCB é 10% maior que da CB devido ao efeito catalítico do ácido sulfúrico nas reações de desidratação da celulose. A remoção do oxigênio da celulose para a formação de água, indis põe oxigênio para formação de CO e CO₂ em altas temperaturas, aumentando a quantidade de resíduos de carbono.^{39,40,41}

A figura 13 apresenta as curvas TG/DTG das amostras CB, NCCB5, NCCB10, NCCB15, NCCB30, NCCB50, NCCB70 e NCCB90. As amostras de NCCB preparadas com menor tempo de hidrólise apresentam mais de dois eventos de degradação térmica, isto

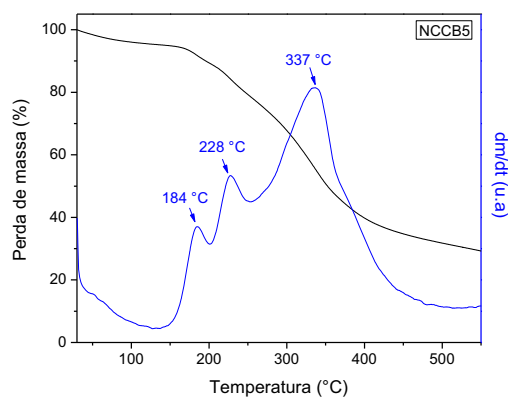
pode estar relacionado a própria heterogeneidade na amostra quanto a distribuição de tamanhos dos cristalitos produzidos.

Figura 19 - Curva TG (curva a) e DTG (curva b) das amostras : (a) CB, (b) NCCB5, (c) NCCB10, (d) NCCB15, (e) NCCB30, (f) NCCB50, (g) NCCB70 e (h) NCCB90.

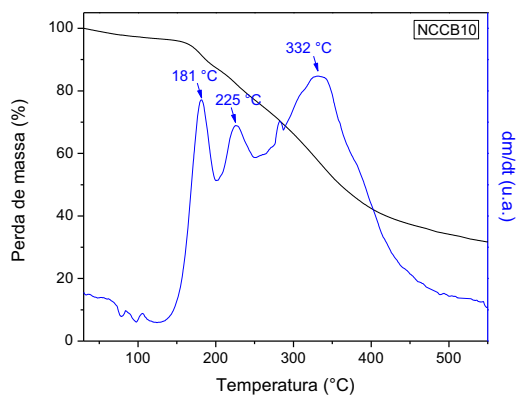
a)



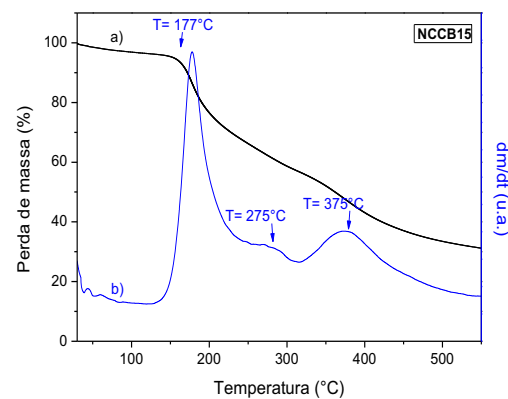
b)



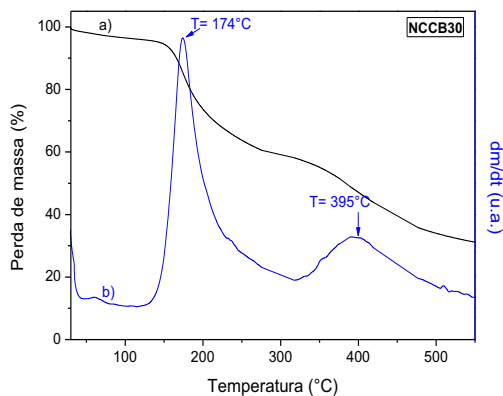
c)



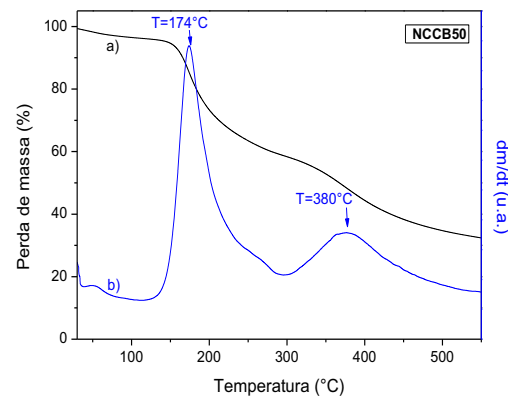
d)



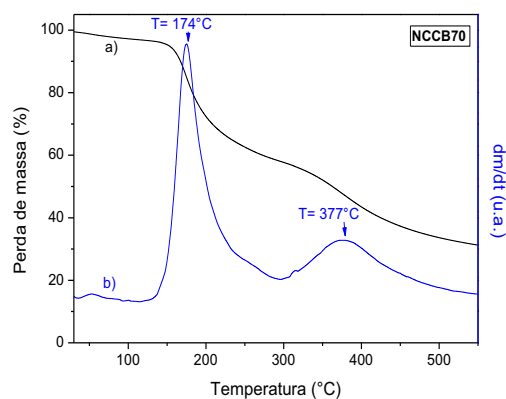
e)



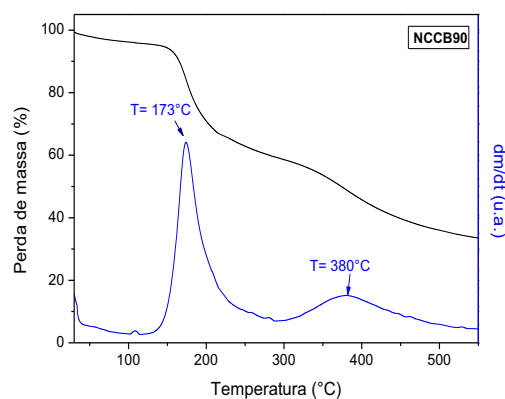
f)



g)



h)



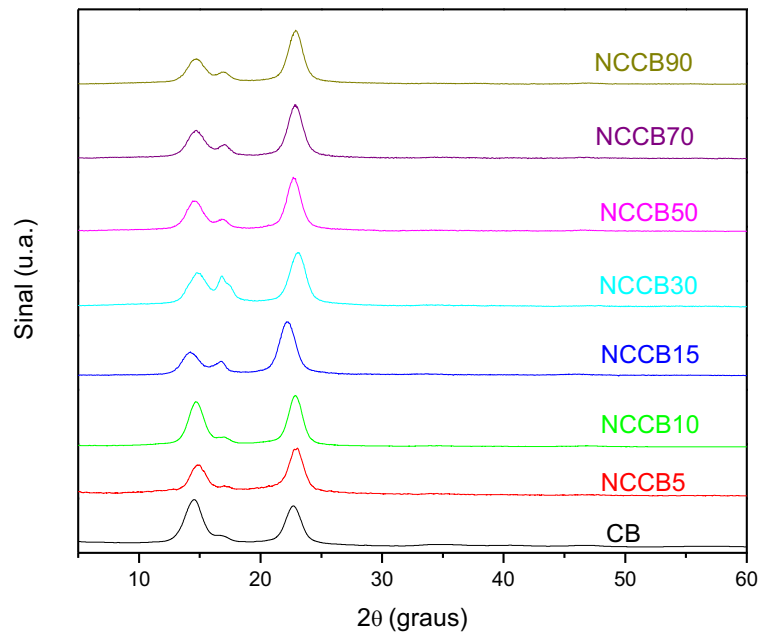
4.1.5 Difração de Raio-X (DRX)

A figura 20 apresenta os difratogramas de raio-X da CB pura e dos nanocristais de celulose bacteriana produzidos em diferentes tempos de hidrólise.

Os diagramas de difração de raios-X da CB e dos NCCB apresentaram os três picos característicos da celulose I em $2\theta = 14,7$, $16,4$ e $22,6$ graus, mostrando que a integridade cristalina da celulose foi mantida.^{19,39}

O pico $2\theta = 22,6$ graus do plano (002) dos nanocristais de celulose torna-se mais intenso do que da celulose bacteriana pura indicando a maior perfeição da rede cristalina no plano (002) dos nanocristais.¹⁹

Figura 20 - Difratoograma de Raios X da Celulose Bacteriana pura e dos nanocristais de CB obtidos em diferentes tempos de hidrólise ácida.



Através dos difratogramas de raio-X foi possível calcular o índice de cristalinidade de cada amostra segundo a equação de Segal, dada a seguir:

$$CrI = \frac{(I_{002} - I_{am})}{I_{002}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Nesta equação, onde CrI expressa o índice de cristalinidade relativo, I_{002} é a intensidade máxima (em unidades arbitrárias) da rede de difração em 002 e I_{am} é a intensidade de difração nas mesmas unidades em $2\theta = 18^\circ$.⁴² Substituindo os valores na equação chegamos aos seguintes índices de cristalinidade:

Tabela 9 - Índice de cristalinidade das CB pura e dos NCCB de diferentes tempos de hidrólise.

Amostra	Índice de Cristalinidade
CB	75 %
NCCB5	86 %
NCCB10	90 %
NCCB15	89 %
NCCB30	88 %
NCCB50	91 %
NCCB70	91 %
NCCB90	91 %

Com o cálculo dos índices de cristalinidade da CB e dos nanocristais de CB observa-se o aumento gradual da cristalinidade até tempo de hidrólise de 10 minutos (15 pontos percentuais) em comparação ao índice da CB pura, explicado também pelo fato das regiões amorfas da cadeia de CB terem sido reduzidas devido a sua susceptibilidade ao ataque ácido. A partir de 10 minutos a cristalinidade dos NCCB não varia mais significativamente, possivelmente as regiões amorfas foram majoritariamente removidas, não alterando mais o índice de cristalinidade dos NCCB em tempos maiores que 10 minutos.

4.1.6 Comportamento Líquido Cristalino dos Nanocristais de CB

Quando o ácido sulfúrico é usado como agente de hidrólise, ele também reage quimicamente com os grupos hidroxilas da superfície dos nanocristais de celulose para produzir superfícies negativamente carregadas de grupos sulfatos que promovem uma dispersão uniforme de whiskers em água via repulsão eletrostática. Por inferência, a remoção constante da fase aquosa provoca nos nanocristais de CB a adoção de configurações que minimizem as repulsões eletrostáticas existentes. Assim a partir de uma concentração crítica há formação espontânea de estruturas ordenadas líquido cristalinas.

Segundo Hirai et al. (2009), os NCCB formam fase líquido cristalina em concentrações acima de 0,42%. As partículas em forma de bastão dos whiskers se arranjam em pseudo-camadas com seus eixos paralelos ao longo do plano da camada. A média da direção do eixo das partículas em cada camada (o diretor) é girada em um

pequeno ângulo para a camada acima e abaixo, produzindo uma distribuição helicoidal das pseudo-camadas.

Na figura 21 podemos observar uma suspensão de NCCB 0,6 % vista sob polarizadores cruzados. A suspensão de NCCB apresenta domínios birrefringentes.

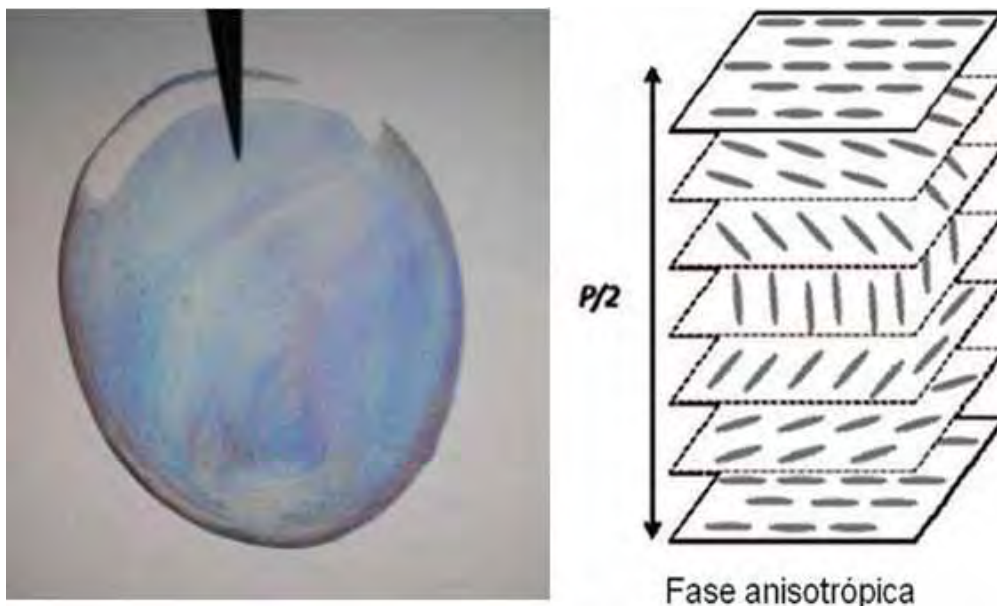
Figura 21 - Suspensão de nanocristais de celulose bacteriana (concentração 0,6 %) vista sob polarizadores cruzados mostrando a formação de domínios birrefringentes.



Após evaporação da água das suspensões de NCCB, os nanocristais de celulose podem produzir filmes sólidos de NCCB semi translúcidos que retêm a auto-organização líquido cristalina nemática quiral formada na suspensão.

A figura 22 (esquerda) apresenta uma fotografia do filme NCCB70, concentração 1,3%, de coloração predominante azul obtida através da evaporação lenta do solvente da suspensão de NCCB visto sob luz polarizada e a figura 22 (direita) mostra um esquema da organização dos nanocristais em mesofases nemáticas quirais. O passo nemático quiral P é definido como a distância requerida para o diretor fazer uma volta completa sobre o eixo colestérico.

Figura 22 - Fotografia do filme obtido através da secagem ao ar da suspensão de NCCB de concentração de 1,3% (esquerda). Esquema do arranjo estrutural de uma mesofase colestérica líquido cristalina (direita).

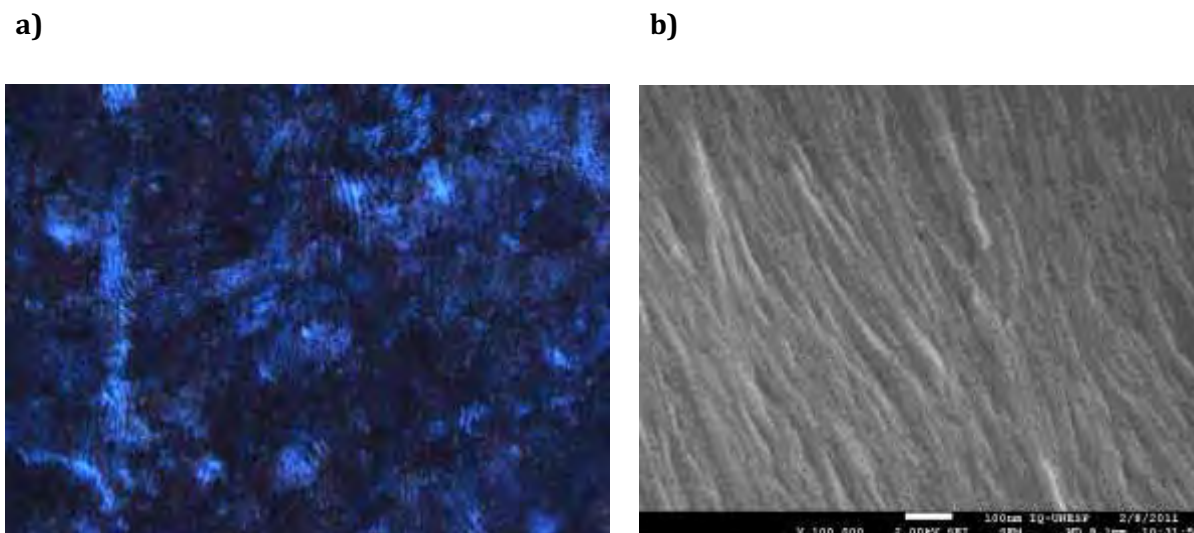


Esses filmes de NCCB são iridescentes e devido ao ordenamento nemático quiral dos NCC, refletem luz em uma estreita faixa de comprimento de onda determinada pelo passo nemático quiral da estrutura líquido cristalina. O comprimento de onda refletido dá origem a cores iridescentes visíveis quando o passo da hélice é da ordem do comprimento de onda da luz visível (de 400 a 700nm).³⁴

4.1.7 Microscopia Óptica de Luz Polarizada (MOLP) e Eletrônica de Varredura (MEV)

A figura 23 mostra de forma representativa as microscopias ópticas de luz polarizada (MOLP) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) do filme obtido através evaporação lenta do solvente da suspensão de NCCB15 de concentração 1,3 %.

Figura 23 - MOLP (a) e MEV (b) do filme de nanocristais de celulose obtidos em 15 minutos de hidrólise.



Na MOLP, a textura característica da fase nemática quiral é claramente observada como estruturas semelhantes a impressões digitais, confirmando a formação líquido cristalina. O correspondente MEV da superfície do filme mostra a tendência de alinhamento paralelo dos nanocristais. Essas características foram observadas em todos os filmes obtidos nos diferentes tempos de hidrólise.

4.2 Estudo da Variação da Energia de Ultrassom

4.2.1 Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS)

Alíquotas de uma suspensão de NCC 2,5% (m/v) foram sonificadas aumentando a energia aplicada. Com o intuito de estudar o efeito do ultrassom sobre o tamanho dos nanocristais, foram realizadas medidas de Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS). Embora o PCS seja um método que mede o raio hidrodinâmico de esferas, não representando as reais dimensões dos nanocristais de celulose, este método permite ter uma estimativa da distribuição de tamanhos dos nanocristais de celulose.

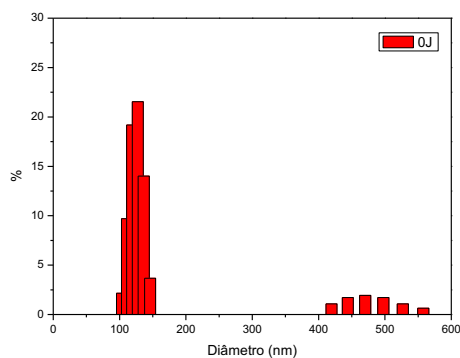
A figura 24 apresenta os histogramas de PCS para as amostras AM1-0 J/g, AM6-1800 J/g, AM7-2500 J/g e AM8-7200J/g, respectivamente. Os gráficos mostram duas

distribuições de tamanhos devido à largura e comprimentos dos nanocristais em forma de bastão.

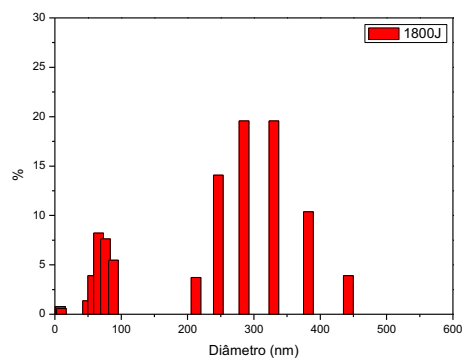
Observa-se que a amostra que não recebeu tratamento de ultrassom, AM1-0J/g, apresenta duas distribuições de tamanho de partículas que vão de 100 a 150 nm e 400 a 575 nm, aproximadamente. Ao aplicar 1800 J/g, figura 24 (b), o histograma mostra uma diminuição no tamanho das partículas, com distribuições de tamanho que vão de 0 a 100 nm e 200 a 450 nm. Aumentando ainda mais a energia de ultrassom aplicada, as dimensões dos NCC diminuem para cerca de 0 a 60 nm e 140 a 270 nm, como visto na figura 24 (c). Porém, acima de 2500 J/g de NCC não ocorre diferenças significativas no tamanho do cristalito, figura 24 (d), como descrito por Beck et al. (2011) e Dong et al. (1998).³⁵

Figura 24 - Distribuição do tamanho de partículas das suspensões de NCC (a) AM1 - 0 J/g, (b) AM6 - 1800 J/g, (c) AM7 - 2500 J/g, e (d) AM8 - 7200 J/g.

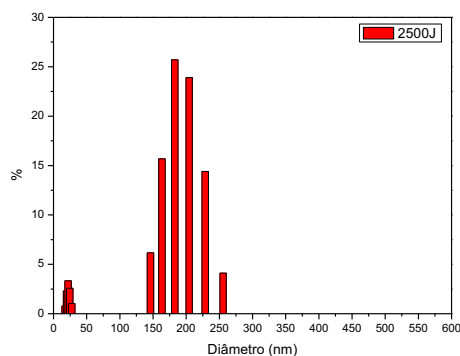
a)



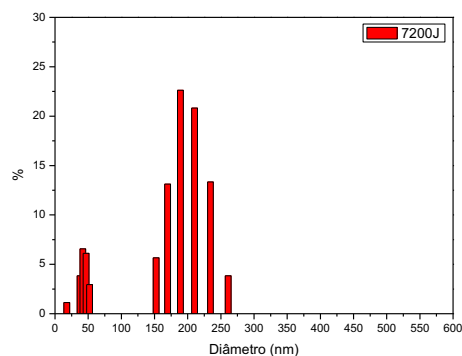
b)



c)



d)



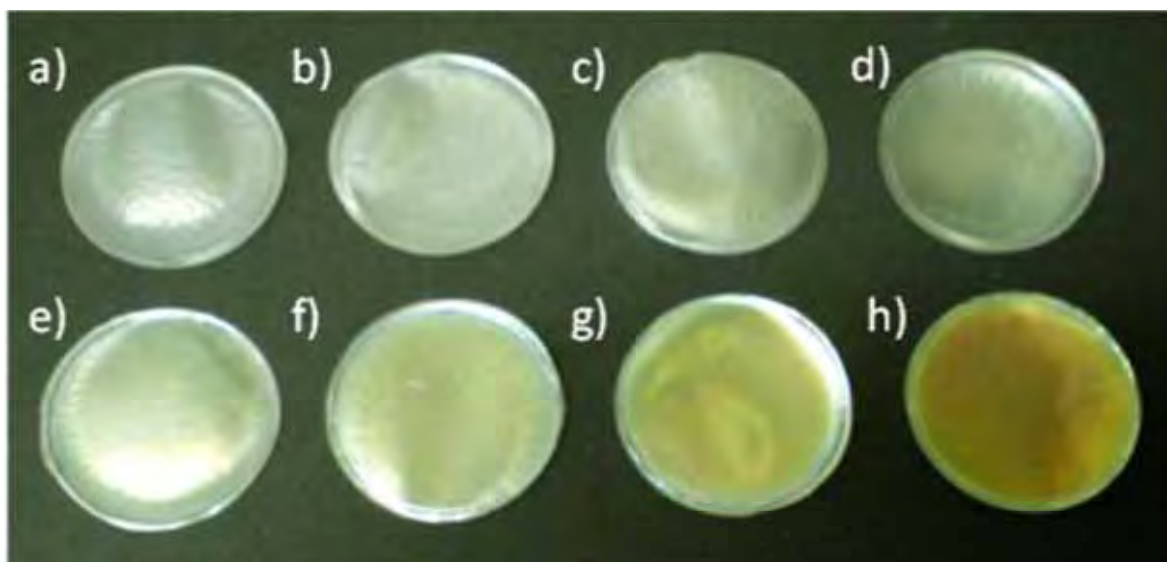
4.2.2 Caracterização dos filmes preparados com diferentes energias de ultrassom

Alíquotas da suspensão de nanocristais de celulose com concentração 2,5% (m/m) foram sonificadas, sendo que a cada uma delas foi aplicada uma energia ultrasônica diferente (medida em J/g de NCC), tabela 6. Após evaporação lenta do solvente sob temperatura ambiente e aplicação de campo magnético de 7T, filmes

sólidos coloridos foram obtidos, nos quais a organização líquido cristalina foi mantida, figura 25.

Os cristais líquidos nemáticos quirais refletem luz circularmente polarizada num comprimento de onda da mesma ordem do passo da hélice. Observa-se que à medida que se aumenta a energia de ultrassom aplicada, a cor iridescente dos filmes desloca em direção ao vermelho, isto é, varia para maiores comprimentos de onda. Essas variações nas cores refletidas sugerem que o passo nemático quiral aumenta à medida que aumenta a energia de ultrassom aplicada.³⁵

Figura 25- Distribuição do tamanho de partículas das suspensões de NCC (a) AM1 – 0 J/g, (b) AM6 - 1800 J/g, (c) AM7 - 2500 J/g, e (d) AM8 - 7200 J/g.

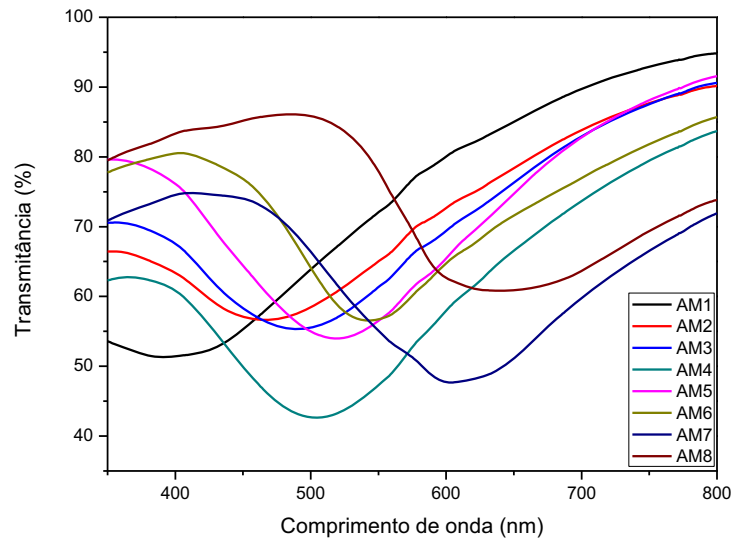


4.2.2.1 Espectroscopia de Transmissão

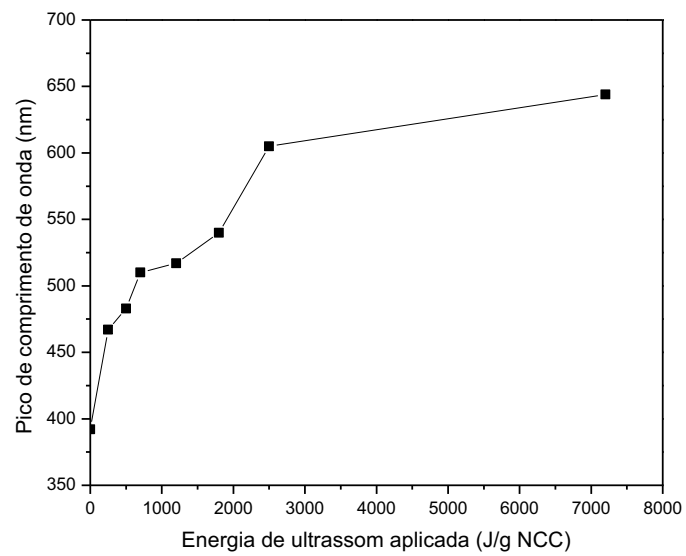
A figura 26 (a) e (b) apresenta o espectro de transmissão dos filmes de NCC obtidos por aplicação de diferentes energias de ultrassom e o gráfico do comprimento de onda refletido em função da energia de ultrassom aplicada, respectivamente.

Figura 26 - Espectro de transmissão das amostras obtidas após diferentes tratamentos de ultrassom (a) e gráfico da energia de ultrassom aplicada a suspensão de NCC em função do comprimento de onda refletido (b).

a)



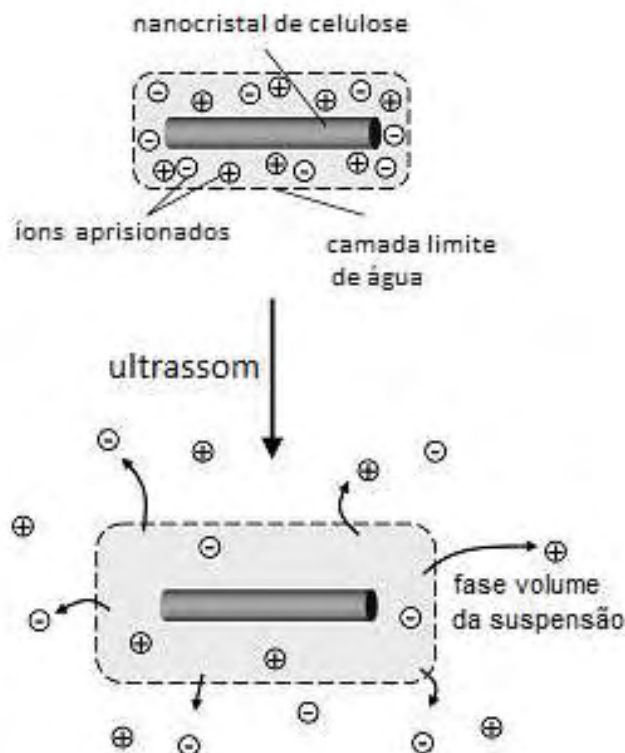
b)



Através dos espectros de transmissão é possível observar o deslocamento dos picos de refletância (mínimos de transmissão) em direção ao vermelho a medida que se aumenta a energia de ultrassom aplicada. Os comprimentos de onda dominantes da reflexão dos filmes aumentam de 392 nm em 0 J/g NCC para 644 nm em 7200 J/g NCC. A dependência do comprimento de onda refletido em função da energia de ultrassom aplicada em joules por grama de NCC é claramente observada no gráfico apresentado. Em baixas energias de ultrassom aplicada há um aumento constante do comprimento de onda refletido, que tende a estabilizar em altas energias.

Uma explicação para este fenômeno é sugerida por Beck et. al. (2011). Como os nanocristais de celulose são produzidos utilizando altas concentrações de ácido, prótons e íons sulfatos permanecem aprisionados na camada limite de água. Quando a suspensão de NCC é sonificada, a energia aplicada pode ser suficiente para ejetar alguns íons aprisionados na camada limite de água, ficando livres para difundir para fase volume da suspensão, impedindo ou dificultando o retorno a camada limite de água, figura 27. A dupla camada elétrica fica maior e oculta as interações quirais entre os bastões de NCC; se já não eram comprimidos pelos íons circundantes da camada limite de água, as partículas de NCC experimentariam interações quirais mais fracas, levando a um aumento no passo colestérico e deslocamento pra comprimentos de onda em direção ao vermelho dos filmes sólidos resultantes.³⁵

Figura 27 - Esquema da camada limite de água ao redor dos nanocristais de celulose que contém íons originados a partir do processo de hidrólise e que não foram removidos durante as etapas de purificação. Esses íons comprimem a dupla camada elétrica e oculta as repulsões eletrostáticas entre os NCC. A sonicação ejeta alguns desses íons para dentro da fase volume da suspensão, resultando em uma maior dupla camada elétrica e interações quírais mais fracas entre as partículas.³⁵

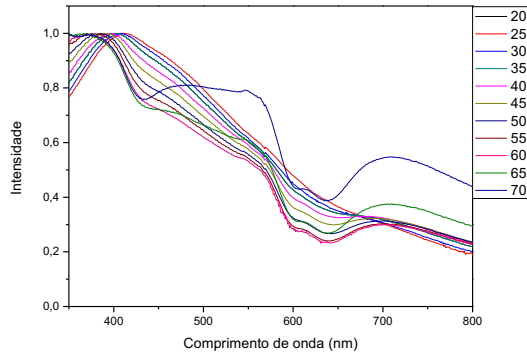


4.2.2.2 Espectroscopia de Reflectância Especular na Região do Visível

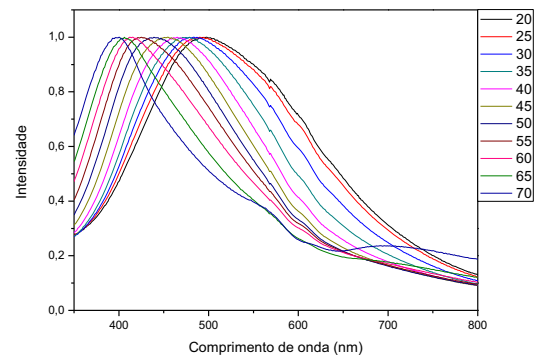
A figura 28 mostra, de forma representativa, os espectros de reflectância especular dos filmes obtidos aplicando-se diferentes energias de ultrassom a suspensão de NCC. A cada amostra mediu-se o pico de comprimento de onda refletido variando-se o ângulo de incidência da luz, de 20 a 70 graus em relação à normal. Observa-se em todos os espectros a reflexão preferencial de um comprimento de onda que varia com o ângulo de incidência.

Figura 28 - Espectros de reflectância especular dos filmes de NCC produzidos com o aumento das energias de ultrassom aplicada. a) 0 J/g, b) 700 J/g, c) 2500J/g e d) 7200 de NCC.

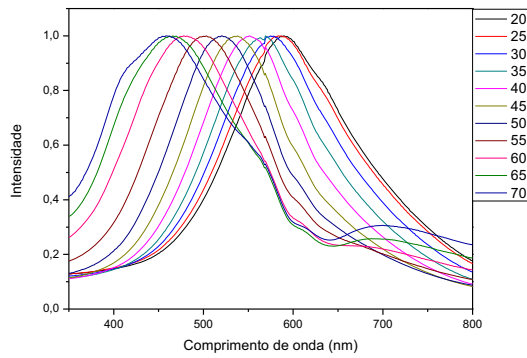
a)



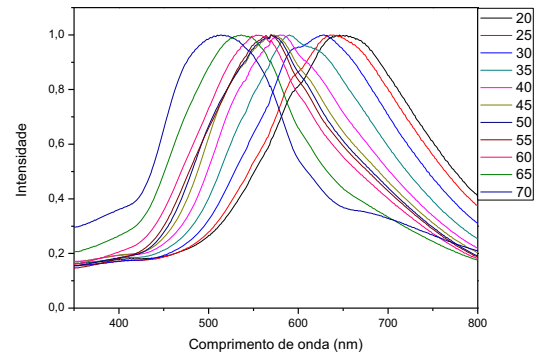
b)



c)



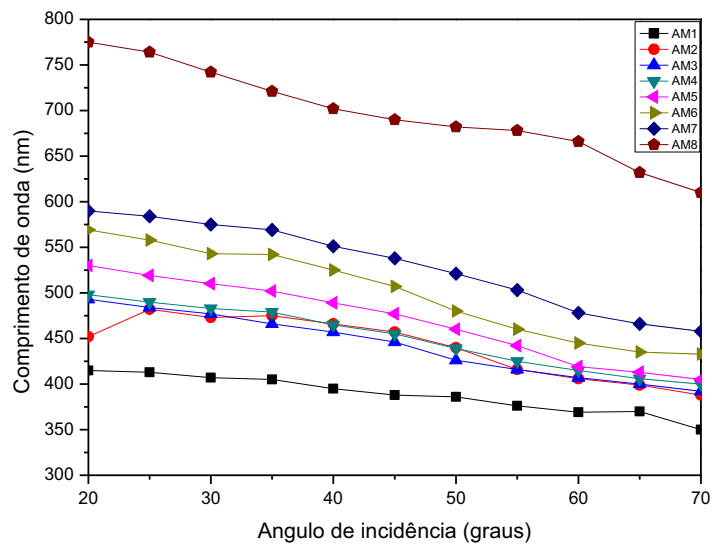
d)



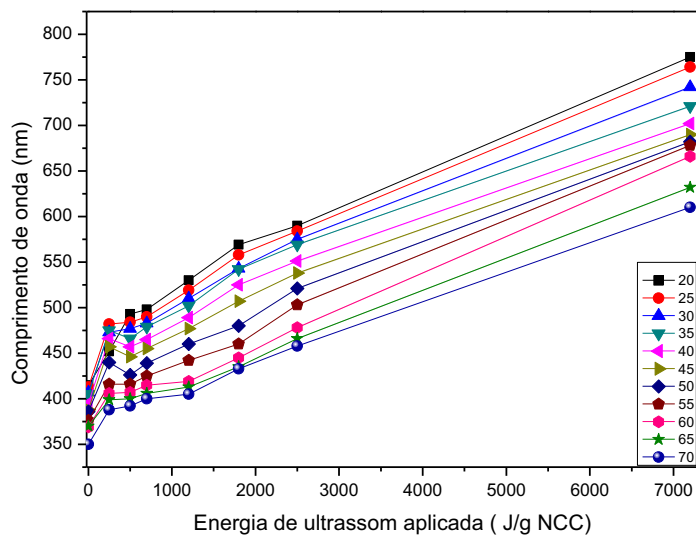
Para melhor visualização foi montado um gráfico da variação do comprimento de onda refletido da luz em função do ângulo de incidência, figura 29 (a), e do comprimento de onda refletido em função da energia de ultrassom aplicada em joules por grama, figura 29 (b).

Figura 29 - Gráficos da (a) variação do comprimento de onda refletido da luz em função do ângulo de incidência, e (b) do comprimento de onda refletido em função da energia de ultrassom aplicada em joules por grama de NCCB.

a)



b)



Observa-se através dos gráficos as variações do comprimento de onda refletido em função do ângulo de incidência e da energia de ultrassom aplicada. Os dados indicam

que energia de ultrassom influencia significativamente no passo colestérico, visto que o comprimento de onda refletido aumenta com o aumento da energia de ultrassom. Também se observa que o comprimento de onda refletido diminui ligeiramente ao aumentar o ângulo de incidência.

É a estrutura em hélice que confere aos colestéricos essas propriedades particulares. Se uma luz com vários comprimentos de onda, por exemplo, luz branca incide no cristal líquido colestérico, a maioria dos comprimentos de onda serão transmitidos mantendo a polarização inicial. Entretanto, o comprimento de onda com mesma magnitude do passo da hélice será refletido. Esse fenômeno é chamado de reflexão seletiva, pois apenas um comprimento de onda é refletido. O comprimento de onda privilegiado depende do período (passo colestérico) e do ângulo de incidência e, se estiver na região do visível, a luz refletida irá possuir uma cor definida. Por esta razão, os cristais líquidos colestéricos freqüentemente apresentam coloração brilhante se observamos a reflexão, com a cor determinada somente pelo passo da hélice.³⁴

Devido à estratificação periódica, associada à torção helicoidal dos eixos das moléculas, a hélice atua sobre um feixe luminoso incidente da mesma forma de um cristal estratificado pelos planos dos átomos periódicos atua sobre um feixe de raios X. Os fenômenos são comparáveis, mas a escala difere de um mesmo fator (da ordem de mil), tanto para o comprimento de onda quanto para os períodos de estratificação. Para um dado ângulo de incidência, há um comprimento de onda que reflete bem mais que os outros em decorrência da interferência construtiva, seguindo uma equação análoga a Lei de Bragg, equação 1.³⁴

$$\lambda_0 = 2 d \bar{n} \cos \varphi \quad (\text{Equação 2})$$

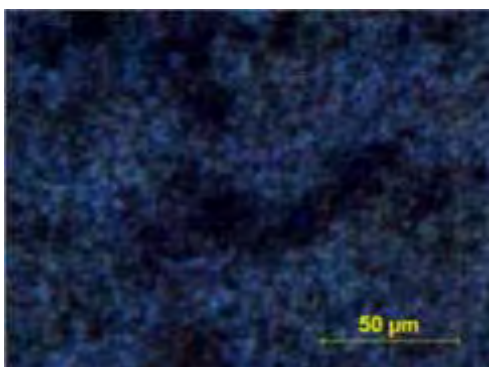
Sendo $d = P/2$ (onde P é o passo colestérico), λ_0 é o comprimento de onda refletido e φ é o ângulo de incidência da luz ou observação em relação a normal da superfície do filme.

4.2.2.3 Microscopia Óptica de Luz Polarizada (MOLP)

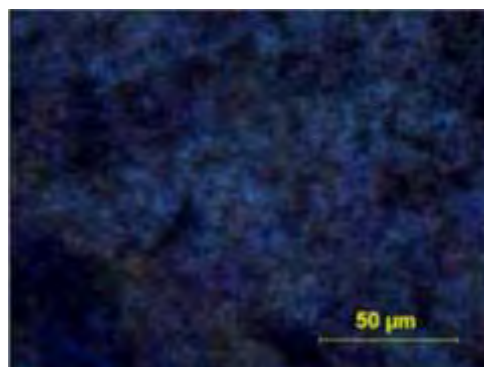
Na figura 30 estão apresentadas as microscopias ópticas de luz polarizada dos filmes obtidos após evaporação das suspensões de NCCB ultrassonificadas com concentração 2,5% (m/v). Todas as amostras apresentaram textura semelhante a “impressão digital” da fase líquido cristalina nemática quiral, como esquematizado na figura 31.

Figura 30 - Microscopias ópticas de luz polarizada dos filmes de NCCB feitos a partir de suspensões de NCCB com aplicação de diferentes energias de ultrassom em J/g de NCCB: (a) AM1, (b) AM2, (c) AM3, (d) AM4, (e) AM5, (f) AM6, (g) AM7, e (h) AM8.

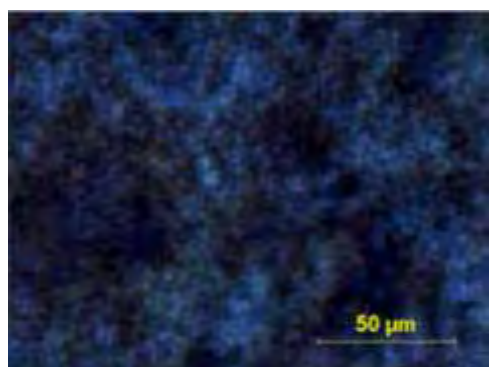
a)



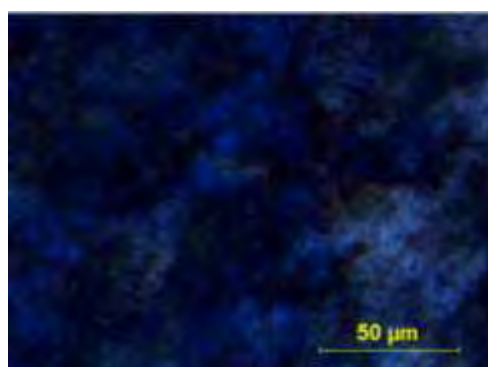
b)



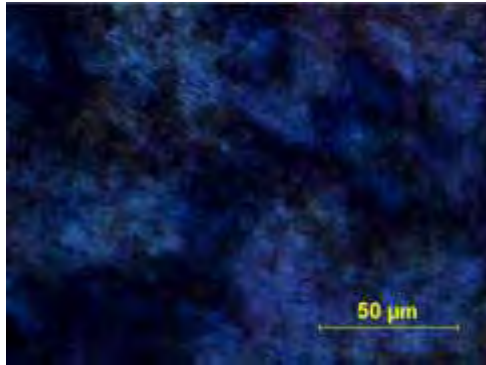
c)



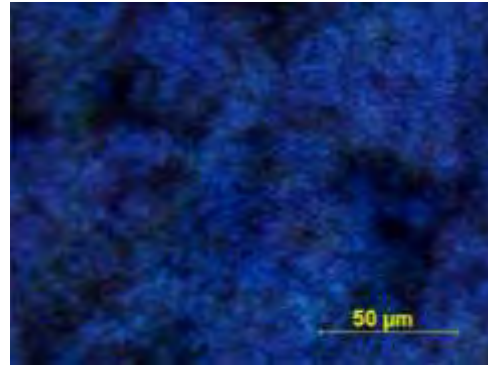
d)



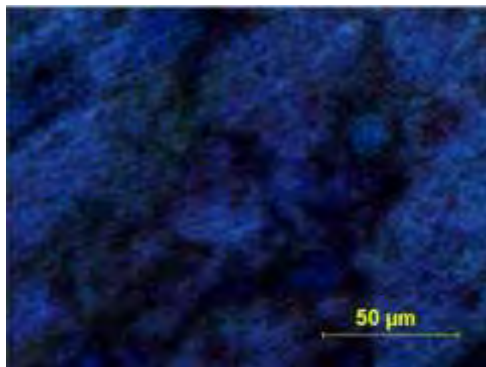
e)



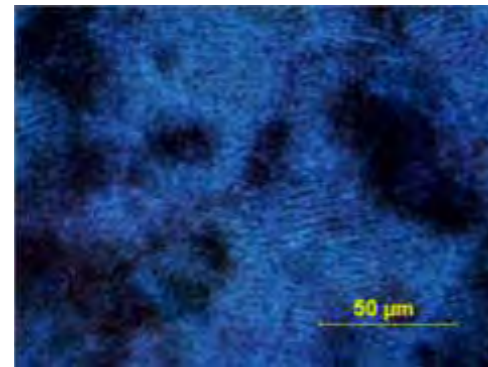
f)



g)

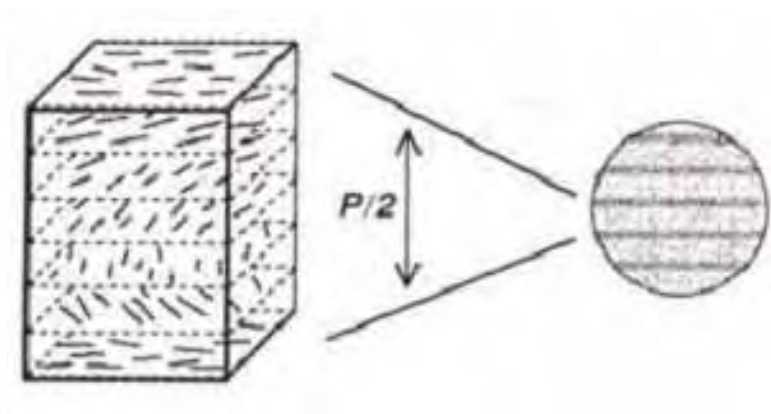


h)



A distância entre as linhas da textura é igual a $P/2$ (onde P é o passo nemático quiral) e a partir das texturas foi possível calcular o passo colestérico.³⁴ A medida do passo nemático quiral a partir das texturas de impressão digital nas fotomicrografias dos filmes aumentam com o aumento da energia de ultrassom aplicada de aproximadamente $4,4 \mu\text{m}$ (AM1) para $6,8 \mu\text{m}$ (AM8).

Figura 31 - Esquema do ordenamento líquido cristalino neático quiral e textura padrão de “impressão digital” dos nanocristais de celulose com ordenamento cristalino nemático quiral normal a superfície. O espaçamento entre as linhas corresponde à metade do passo nemático quiral.

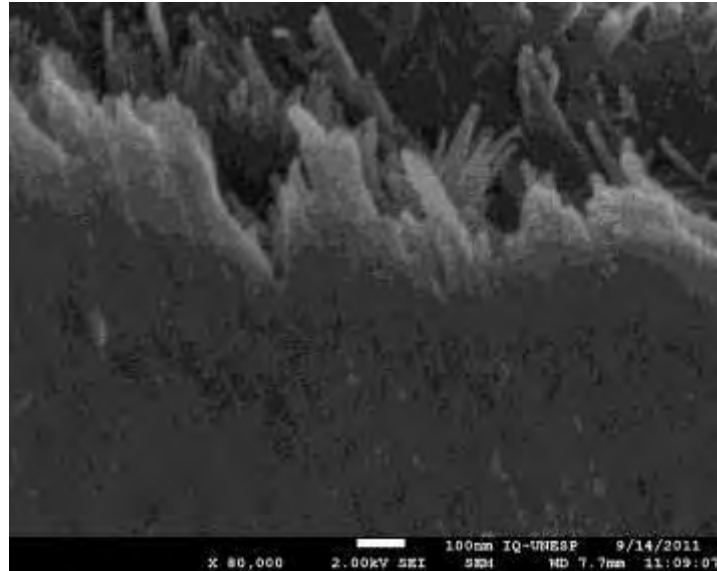


4.2.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

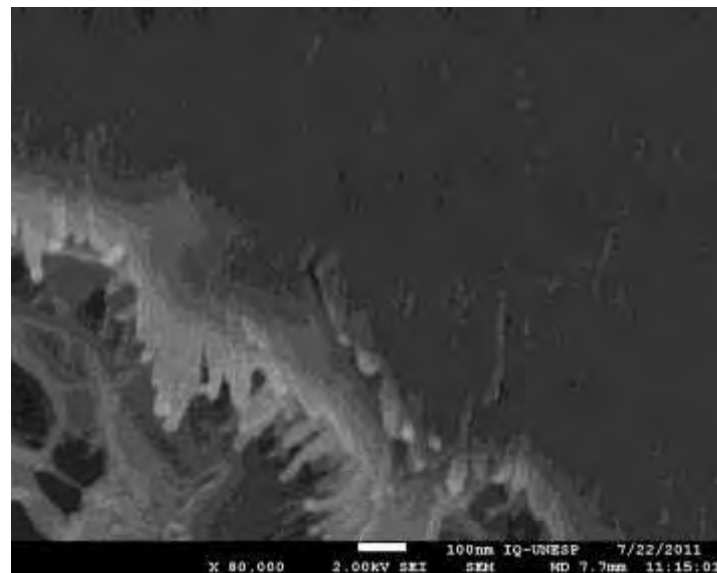
A figura 32 mostra, de forma representativa, uma microscopia eletrônica de varredura da borda dos filmes de NCC sem dispersão por energia de ultrassom e com aplicação de 7200 J/g NCC. Observa-se claramente em ambas as microscopias o empacotamento dos nanocristais com alto grau de orientação preferencialmente paralelas, sugerindo um alinhamento do eixo colestérico perpendicular ao plano do filme e paralelo ao campo magnético aplicado.

Figura 32 - Microscopia eletrônica de varredura dos filmes (a) AM1 - 0 J/g e (b) AM 8 – 7200 J/g NCC.

a)



b)

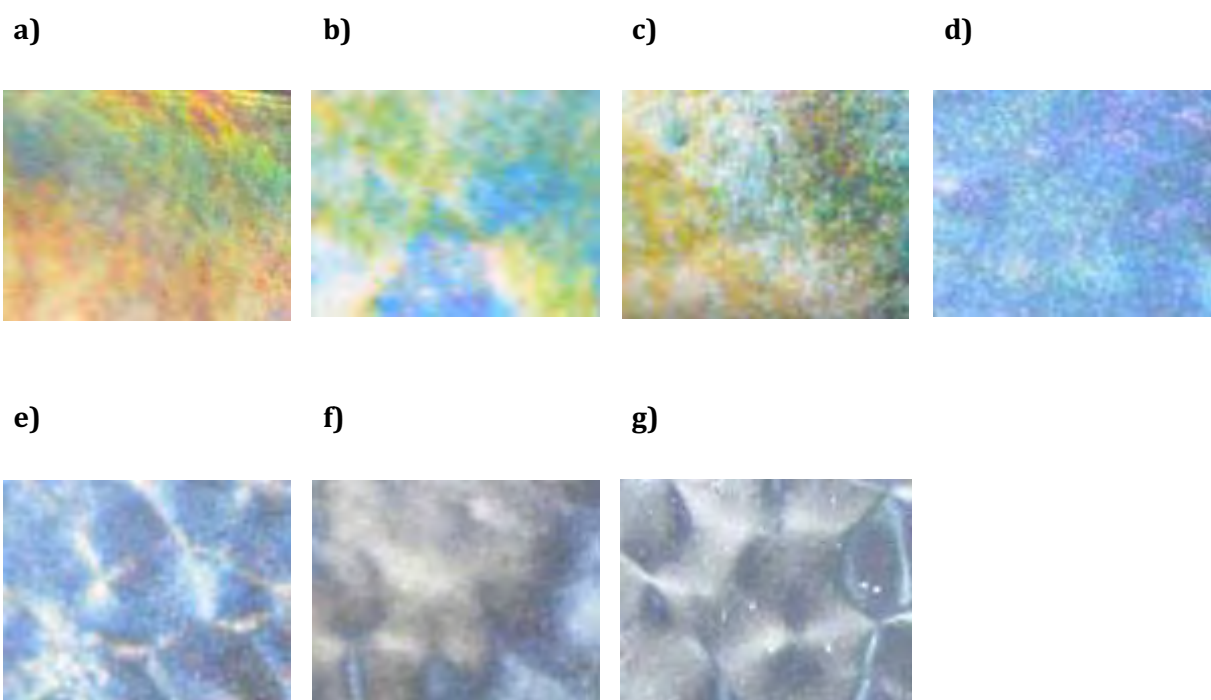


4.3 Influência da adição de sal (NaCl)

4.3.1 Caracterização dos filmes preparados com diferentes concentrações de NaCl

A formação de estrutura nemática quiral foi estudada em função da adição de cloreto de sódio. Foram separadas sete alíquotas da suspensão de NCCB 2,5% sonificada com energia de 1800 J/g de NCC. Em seguida foi adicionado cloreto de sódio até obter as concentrações desejadas, de 0 até 5 mM de NaCl. As soluções foram homogeneizadas e colocadas pra secar em condições ambientes sob campo magnético de 7 T.³³ Os filmes obtidos estão apresentados na figura 33. Observa-se uma variação da cor em direção ao azul com o aumento da concentração de sal.

Figura 33 - Filmes de NCC produzidos a partir de suspensões sonicadas com energias de 1800 J/g e com diferentes concentrações de cloreto de sódio; (a) 0 mM, (b) 0,25 mM, (c) 0,75 mM, (d) 1,3 mM, (e) 2,0 mM, (f) 2,75 mM e (g) 5 mM. O ângulo de visão é normal à superfície sob luz polarizada.

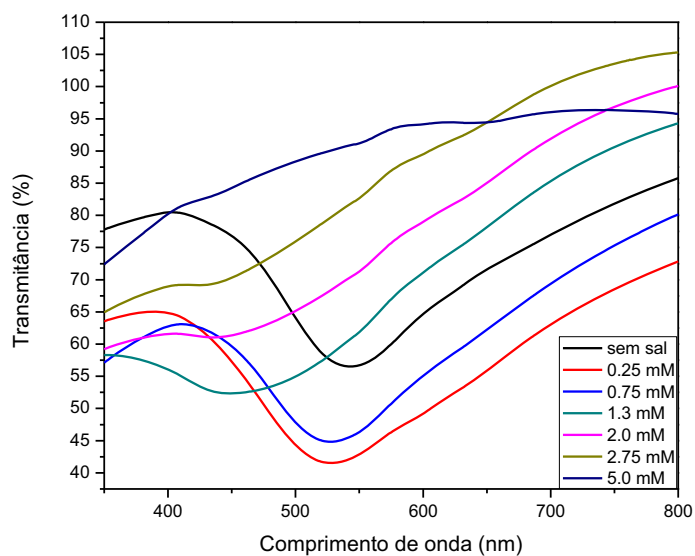


4.3.1.1 Espectroscopia de Transmissão na Região do UV/Visível

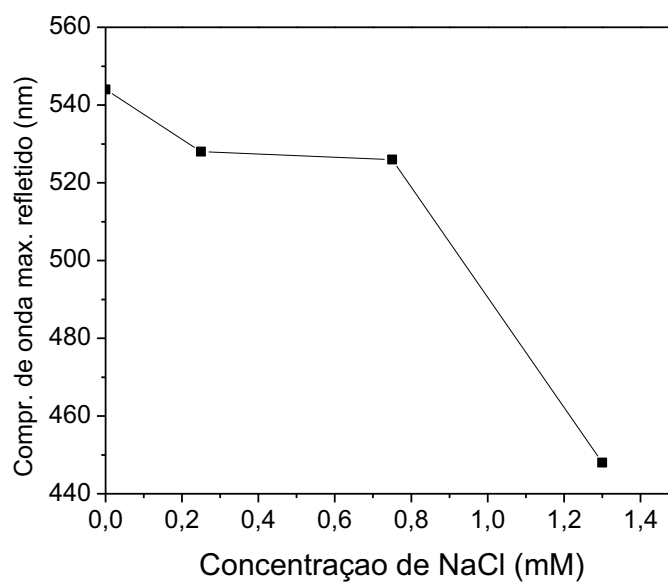
A figura abaixo mostra o espectro de transmissão dos filmes de NCCB aos quais foram adicionados a suspensão diferentes concentrações de NaCl. Observa-se que aumentando a adição de sal até concentração 1,3 mM ocorre deslocamento nos picos de reflectância para menores comprimentos de onda. Isso acontece porque a adição de eletrólitos diminui o diâmetro e o volume das partículas de NCCB carregadas, tornando as interações quirais mais fortes e, conseqüentemente, diminuindo o passo colestérico. Entretanto, a partir de 2 mM ocorre transmissão em praticamente todo espectro visível, não há seletividade de nenhum comprimento de onda, devido a desestabilização da estrutura em decorrência da floculação da suspensão de NCC pela adição de sal.³⁴

Figura 34 - (a) Espectros de transmissão dos filmes de NCC com adição de NaCl em diferentes concentrações e (b) gráfico da comprimento de onda refletido em função da concentração de sal adicionada à suspensão de NCCB.

a)



b)



4.3.1.2 Espectroscopia de Reflectância Especular na Região do UV/Visível

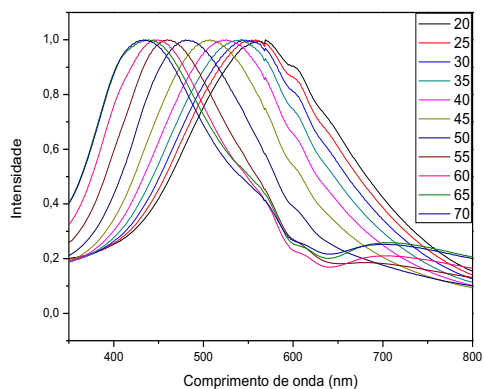
A figura 35 mostra representativamente os espectros de reflectância especular dos filmes obtidos adicionando-se diferentes concentrações de cloreto de sódio a suspensão de NCC.

A cada amostra mediu-se o pico de comprimento de onda refletido variando-se o ângulo de incidência da luz, de 20 a 70 graus em relação à normal. Observa-se nos espectros das amostras sem sal até concentração de 1,3 mM uma reflexão seletiva dos comprimentos de onda que desloca em direção ao azul, indicando a diminuição do passo nemático quiral com o aumento da concentração de eletrólitos. Os espectros também apresentam reflexão de Bragg, onde o pico de reflexão desloca para comprimentos de onda menores conforme se aumenta o ângulo de visão em relação à normal do filme.

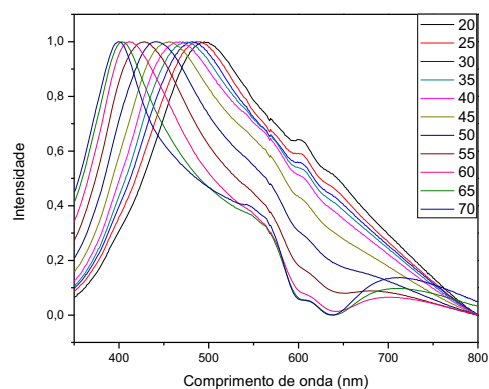
A partir de 2 mM as bandas dos espectros de reflexão começam a ficar mais alargadas, cobrindo maior parte do espectro visível. Em amostras com concentrações de 2,75 mM e 5 mM de NaCl em ângulos de visão próximos a normal do filme não há reflexão seletiva, porém em ângulos de visão próximos a 70 graus com a normal os espectros de reflectância cobrem todo o espectro visível mas com alguns picos próximos ao violeta, verde e vermelho. Portanto, em maiores concentração de sal os filmes não apresentam uma boa organização periódica, os eletrólitos desestabilizam a estrutura líquido cristalina nemática quiral, reduzindo uma propriedade característica dessa mesofase que é a seletividade da luz.

Figura 35 - Espectro de reflectância especular dos filmes de NCC contendo diferentes concentrações de NaCl; (a) sem NaCl, (b) 0,25 mM; (c) 1,3 mM; (d) 5 mM.

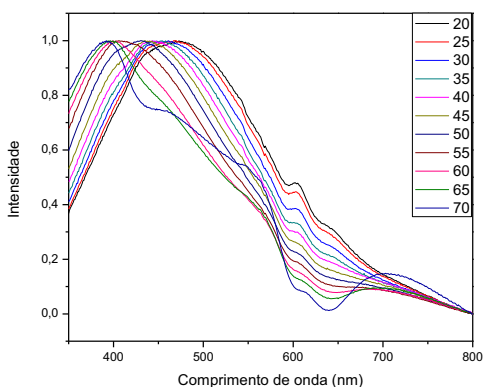
a)



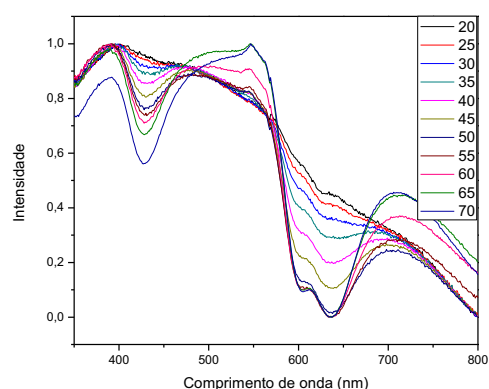
b)



c)



d)



4.3.1.3 Microscopia Óptica de Luz Polarizada

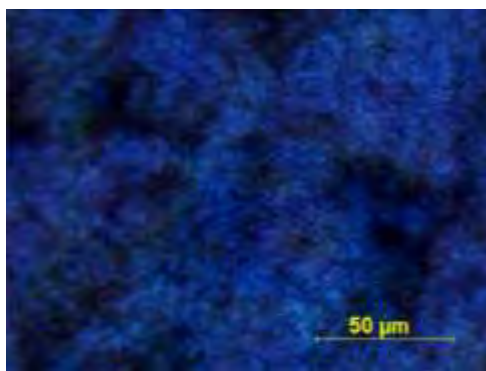
A figura 36 mostra, por microscopia óptica de luz polarizada, o efeito da adição de cloreto de sódio sobre a textura líquido cristalina dos filmes de NCC produzidos a partir de uma suspensão de NCCB com concentração fixa de 3 % (m/v).

Nas amostras com concentrações de 0 até 1,3 mM de NaCl são observados claramente a texturas padrão de impressão digital dos colestéricos e o passo colestérico

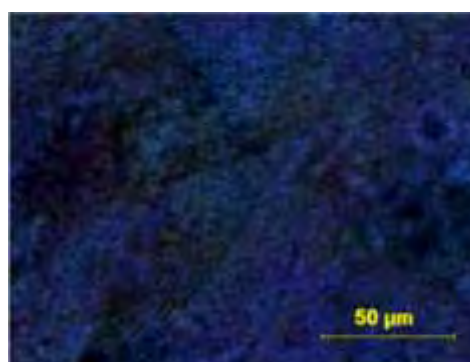
diminui de 5,6 μm (sem NaCl) para 4,4 μm (1,3 mM de NaCl). A partir de 2,0 mM o passo começa a aumentar ligeiramente (5 μm) e a textura apresenta aspecto granular mas com algumas regiões com textura de impressão digital, até que em 5 mM de NaCl não é identificada as texturas características devido a estabilização do sistema causada pela floculação da suspensão de NCCB.³²

Figura 36 - Microscopia óptica de luz polarizada dos filmes de NCC produzidos a partir de suspensões sonicadas com energias de 1800 J/g e com diferentes concentrações de cloreto de sódio; (a) 0 mM, (b) 0,25 mM, (c) 0,75 mM, (d) 1,3 mM, (e) 2,0 mM, (f) 2,75 mM e (g) 5 mM.

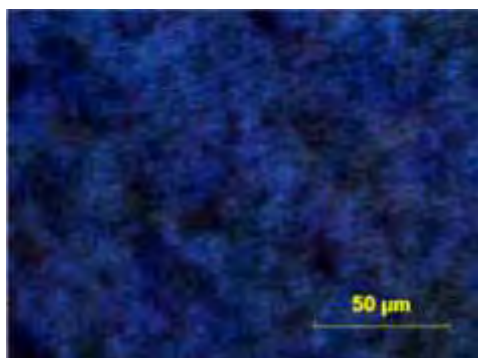
a)



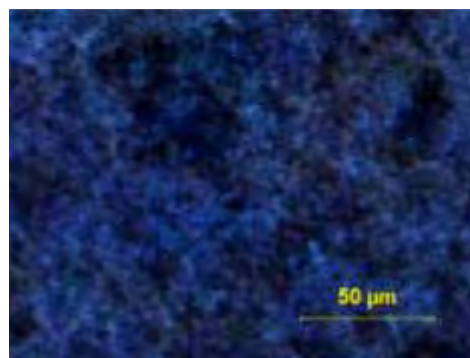
b)



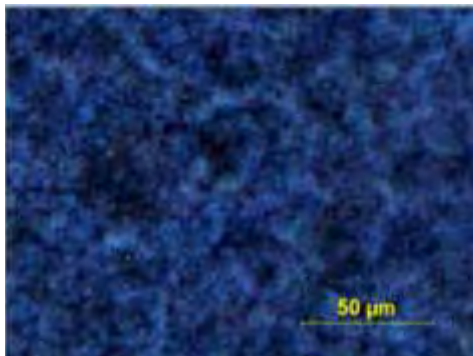
c)



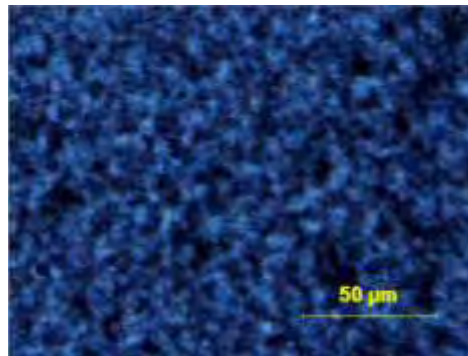
d)



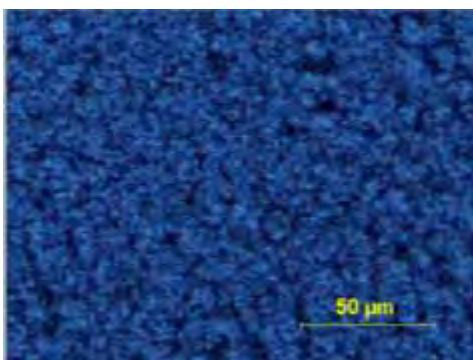
e)



f)



g)

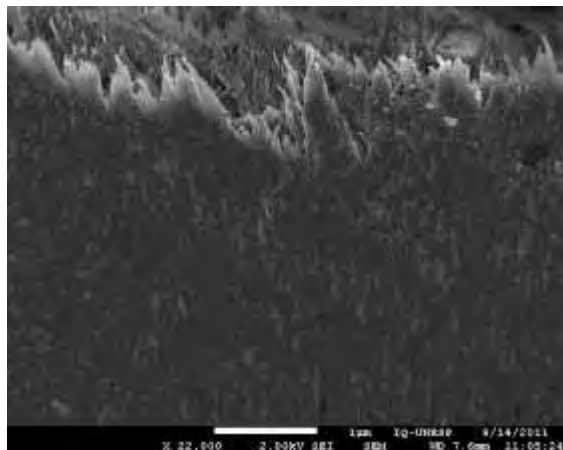


4.3.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

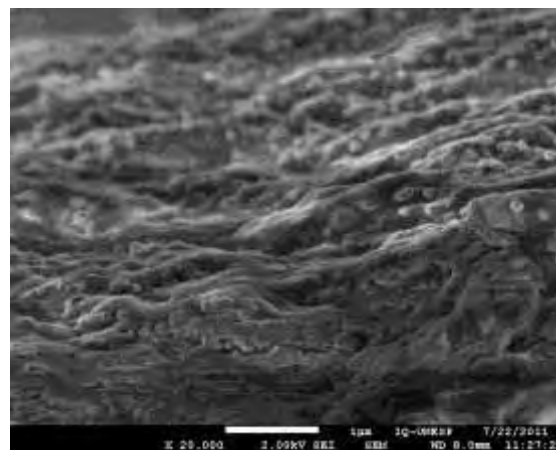
A figura 37 apresenta a microscopia eletrônica de varredura dos filmes de NCC contendo 0,25 mM e 5 mM de NaCl. Na amostra com menor concentração de cloreto de sódio os cristalitos estão organizados preferencialmente paralelos entre si. Já na amostra com concentração de 5 mM de NaCl observa-se desorganização dos nanocristais de celulose devido a desestabilização decorrida da maior concentração de eletrólitos e floculação da suspensão.

Figura 37 - Microscopia eletrônica de varredura do filme de NCC contendo 0,25 mM de NaCl (a) e 5 mM de NaCl (b).

a)



b)



5 CONCLUSÕES

Foram obtidas suspensões de nanocristais de celulose bacteriana pela reação de hidrólise ácida com ácido sulfúrico 64%, temperatura de 50 °C e em diferentes tempos de hidrólise. Estas suspensões foram caracterizadas pelas técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia de Força Atômica (AFM), Espalhamento de Luz (PCS), Análise elementar (AE), Análise Termogravimétrica (TG/DTG) e Difração de Raio-X (DRX).

Os resultados mostraram a formação dos whiskers e a diminuição do tamanho dos NCCB até o tempo de 15 minutos de reação, após esse tempo não há variação significativa no tamanho das partículas. Medidas de análise térmica dos NCCB comparados a sua fonte de extração confirmaram a diminuição gradativa da estabilidade térmica dos NCCB conforme se aumenta o tempo de hidrólise até 30 minutos, possivelmente devido ao efeito catalítico dos grupos sulfatos adicionado à superfície dos NCCB. Acima 30 minutos de hidrólise há mudanças no perfil das curvas TG e a quantidade de enxofre, verificada por Análise Elementar, permanece estável. As DRX mostraram um aumento gradual na cristalinidade até a amostra NCCB10, nas seguintes

amostras o índice de cristalinidade estabiliza, mostrando que as regiões amorfas foram majoritariamente removidas no tempo mínimo de 10 minutos de hidrólise.

As imagens das suspensões obtidas entre polarizadores cruzados mostraram que as suspensões formam domínios birrefringentes devido à anisotropia óptica da celulose e a auto-orientação dos NCCB. Este ordenamento é mantido após evaporação do solvente mostrando por Microscopia Óptica de Luz Polarizada texturas líquido cristalinas nemáticas quirais.

Escolhido o tempo de hidrólise de 30 minutos, foram realizados estudos da variação de energia de ultrassom e concentração de cloreto de sódio a suspensão e filmes de NCCB.

Medidas de PCS mostraram que as dimensões dos nanocristais de CB diminuíram com o aumento da energia de ultrassom aplicada, porém a partir de 2500 J não ocorre mais mudanças significativas no tamanho do NCCB. Os filmes obtidos a partir dessas amostras foram caracterizados por MOLP, MEV, Espectroscopia de Reflectância Especular e de Transmitância na região do visível. Os resultados mostraram ordenamento cristalino nemático quiral e que aumentando a energia de ultrassom aplicada, aumenta-se o passo da fase nemática quiral deslocando a banda de reflexão dos filmes iridescentes para maiores comprimentos de onda.

Os estudos da adição de cloreto de sódio a suspensão de NCC mostrou o efeito inverso ao do ultrassom. Os eletrólitos diminuem o passo da fase nemática quiral e desloca a banda de reflexão dos filmes iridescentes para menores comprimentos de onda, porém em maiores concentrações o sal desestabiliza o sistema perdendo as propriedades líquido cristalinas.

Os resultados apresentados confirmaram dados já reportados na literatura da possibilidade de se controlar o passo na fase nemática quiral e, neste sentido, algumas características ópticas dos filmes em questão, como seletividade da luz e variação da cor refletida com ângulo de incidência da luz ou visão. Essas propriedades tornam esses materiais promissores em aplicações de sistemas de dispositivos ópticos de interesse comercial como filtros ópticos, papéis de segurança (notas de banco, passaportes e certificados) e pigmentos iridescentes para revestimentos e tintas.

REFERÊNCIAS

- 1 SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C.; RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, p. 661-671, 2009.
- 2 EICHHORN, S. J.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M.; MARCOVICH, N. E.; CAPADONA, J. R.; ROWAN, S. J.; WEDER, C.; THIELEMANS, W.; ROMAN, M.; RENNECKAR, S.; GINDL, W.; VEIGEL, S.; KECKES, J.; YANO, H.; ABE, K.; NOGI, M.; NAKAGAITO, A. N.; MANGALAM, A.; SIMONSEN, J.; BENIGHT, A. S.; BISMARCK, A.; BERGLUND, L. A.; PEIJS, T. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 45, p. 1-13, 2010.
- 3 BARUD, H. S. **Novos materiais multifuncionais baseados em celulose bacteriana**. 2010. 172 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- 4 FRANCISCO JUNIOR, W. E. Carboidratos: estrutura, propriedades e funções. **Química Nova na Escola**, n. 29, p. 8-13, 2008.
- 5 SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. **Polymers**, v. 2, p. 728-765, 2010.
- 6 HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.
- 7 WANG, J.; ZHU, Y.; DU, J. Bacterial cellulose: a natural nanomaterial for biomedical applications. **Journal of Mechanics in Medicine and Biology**, v. 11, n. 2, p. 285-306, 2011.
- 8 EICHHORN, S. J. Cellulose nanowhiskers: promising materials for advanced applications. **Soft Matter**, v. 7, p. 303-315, 2011.
- 9 SILVA, D. J.; D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. **O Papel**, v. 70, p. 34-52, 2009.
- 10 FLEMING, K.; GRAY, D. G.; MATTHEWS, S. Cellulose crystallites. **Chemistry - A European Journal**, v. 7, p. 1831-1835, 2001.
- 11 KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D.; DORRIS, A. Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. **Green Nanomaterials**, v. 50, p. 2-31, 2011.

- 12 PECORARO, E.; MANZANI, D.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Bacterial cellulose from *Gluconacetobacter xylinus*: preparation, properties and applications. In: BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Amsterdam: Elsevier, 2008. v. 1, cap. 17, p. 369-383.
- 13 IGUCHI, M.; YAMANAKA, S.; BUDHIONO, A. Review bacterial cellulose a masterpiece of nature's arts. **Journal of Materials Science**, v. 35, p. 61-270, 2000.
- 14 KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H.; BOHN, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International**, v. 44, p. 3358-3393, 2005.
- 15 ALMEIDA, D. M. **Biofilme de blenda de féculas de batata e cellulose bacteriana na conservação de fruta minimamente processada**. 2010. 284 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- 16 MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, p. 3941-3994, 2011.
- 17 LIMA, M. S.; BORSALI, R. Rodlike cellulose microcrystal: structure, properties, and applications. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 25, p. 771-787, 2004.
- 18 HAMAD, W. On the development and applications of cellulosic nanofibrillar and nanocrystalline materials. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 84, p. 513-519, 2006.
- 19 LU, P.; HSIEH, Y. Preparation and properties of cellulose nanocrystals: Rods, spheres, and network. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 329-336, 2010.
- 20 LI, Y.; RAGAUSKAS, A. J. Cellulose nano whiskers as a reinforcing filler in polyurethanes. In: REDDY, B. S. R. **Advances in diverse industrial applications of nanocomposites**. Rijeka. InTech, 2011. v. 1, cap. 2, p. 17-36.
- 21 BONDESON, D.; MATHEW, A.; OKSMAN, K. Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis, **Cellulose**, v. 13, p. 171-180, 2006.
- 22 GEORGE, J.; RAMANAA, K. V.; BAWAA, A. S.; SIDDARAMAIAHB. Bacterial cellulose nanocrystals exhibiting high thermal stability and their polymer nanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, p. 50-57, 2011.
- 23 PENG, B. L.; DHAR, N.; LIU, H. L.; TAM, K. C. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 89, n. 5, p. 1191-1206, 2011.

- 24 HERRMANN, A. S.; NICKEL, J.; RIEDEL, U. Construction materials based upon biologically renewable resources – from components to finished parts. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 251-261, 1998.
- 25 SAMIR, M. A. S.; ALLOIN, F.; DUFRESNE, A. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 612-626, 2005.
- 26 EBELING, T.; PAILLET, M.; BORSALI, R.; DIAT, O.; DUFRESNE, A.; CAVAILLE, J. Y.; CHANZY, H. Shear-induced orientation phenomena in suspensions of cellulose microcrystals, revealed by small-angle X-ray scattering. **Langmuir**, v. 15, n. 19, p. 6123-6126, 1999.
- 27 ARAKI, J.; KUGA, S. Effect of trace electrolyte on liquid crystal type of cellulose microcrystals. **Langmuir**, v. 17, p. 4493-4496, 2001.
- 28 REVOL, J-F.; BRADFORD, H.; GIASSEN, J.; MARCHESSAULT, R. H.; GRAY, D. G. Helicoidal self-ordering of cellulose microfibrils in aqueous suspension. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 14, p. 170-172, 1992.
- 29 DONG, X. M.; KIMURA, T.; REVOL, J. F.; GRAY, D. G. Effects of ionic strength on the isotropic-chiral nematic phase transition of suspensions of cellulose crystallites. **Langmuir**, v. 12, p. 2076-2082, 1996.
- 30 FLEMING, K.; GRAY, D. G.; MATTHEWS, S. Cellulose crystallites. **Chemistry - A European Journal**, v. 7, p. 1831-1835, 2001.
- 31 HOLT, B. L.; STOYANOV, S. D.; PELAN, E.; PAUNOV, V. N. Novel anisotropic materials from functionalised colloidal cellulose and cellulose derivatives. **Journal of Materials Chemistry**, v. 20, p. 10058-10070, 2010.
- 32 HIRAI, A.; INUI, O.; HORII, F.; TSUJI, M. Phase separation behavior in aqueous suspensions of bacterial cellulose nanocrystals prepared by sulfuric acid treatment. **Langmuir**, v. 25, p. 497-502, 2009.
- 33 PULP AND PAPER RESEARCH INSTITUTE OF CANADÁ (Canadá). D. G. Gray, D. L. Godbout, J-F. Revol. **Solidified liquid crystals of cellulose with optically variable properties**. US 5629055A, 14 Feb. 1994, 13 May 1997.
- 34 MOREIRA, M. F. **Desenvolvimento e caracterização de um sistema laser de cristal líquido colestérico acoplado à fibra óptica**. 2004. 130 f. Tese (Doutorado em Física) – Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.
- 35 BECK, S.; BOUCHARD, J.; BERRY, R. Controlling the reflection wavelength of iridescent solid films of nanocrystalline cellulose. **Biomacromolecules**, v. 12, p. 167-172, 2011.
- 36 SUGIYAMA, J.; CHANZY, H.; MARET, G. Orientation of cellulose microcrystals by strong magnetic fields. **Macromolecules**, v. 25, p. 4232-4234, 1992.

- 37 ARAKI, J.; KUGA, S. Effect of trace electrolyte on liquid crystal type of cellulose microcrystals. **Langmuir**, v. 17, p. 4493-4496, 2001.
- 38 DONG, X. M.; REVOL, J.; GRAY, D. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose. **Cellulose**, v. 5, p. 19-32, 1998.
- 39 ROMAN, M.; WINTER, W. T. Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 1671-1677, 2004.
- 40 TEIXEIRA, E. M.; CORRÊA, A. C.; MANZOLI, A.; LEITE, F. L.; OLIVEIRA, C. R.; MATTOSO, L. H. C. Cellulose nanofibers from white and naturally colored cotton fibers. **Cellulose**, v. 17, p. 595-606, 2010.
- 41 MARTÍNEZ-SANZ, M.; LOPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Optimization of the nanofabrication by acid hydrolysis of bacterial cellulose nanowhiskers. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 228-236, 2011.
- 42 SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E. Jr.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the x-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.