

Caracterização morfológica de nanocristais de celulose por microscopia de força atômica

Morphological characterization of cellulose Nanocrystals by atomic force microscopy

Ariana de Souza Moraes¹, Thais Soares de Góes¹,
Moema Hausen¹, João Paulo Saraiva Morais²,
Morsyleide de Freitas Rosa³, Aparecido Júnior de Menezes⁴,
Luiz Henrique Capparelli Mattoso⁵, Fábio de Lima Leite¹

¹ Laboratório de Pesquisas em Nanoneurobiofísica – UFSCar CEP: 18052-780, Sorocaba, SP. E-mail: ariana_smores@yahoo.com.br, thaisgoes_ufscar@hotmail.com, moemahausen@gmail.com, fabioleite@ufscar.br (*autor para correspondência).

² Laboratório Avançado de Tecnologia de Química – EMBRAPA Algodão CEP: 58428-095, Campina Grande, PB. E-mail: joão.morais@embrapa.br.

³ Laboratório de Tecnologia da Biomassa – EMBRAPA Agroindústria Tropical CEP: 60511-110, Fortaleza, SP. E-mail: morsyleide.rosa@embrapa.br.

⁴ Laboratório de Materiais Funcionais e Polímeros de Fontes Renováveis – UFSCar CEP: 18052-780, Sorocaba, SP. E-mail: jrmenezes@ufscar.br.

⁵ Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio – EMBRAPA Instrumentação CEP: 13560-970, São Carlos, SP. E-mail: luiz.mattoso@embrapa.br.

RESUMO

O isolamento de nanocristais de celulose (CNCs) de fibras vegetais é uma alternativa promissora para sua aplicação como reforço em matrizes poliméricas. A caracterização dos CNCs é fundamental para a confiabilidade da técnica, além de determinar as aplicações possíveis a partir de cada tipo de fibra. A partir da técnica de microscopia de força atômica, um estudo da morfologia e distribuição dos CNCs de semente de manga, vagem de algaroba, pseudocaule da bananeira e fibra do mesocarpo de dendê foi realizado neste trabalho. Os CNCs foram obtidos via reação hidrolítica com ácido sulfúrico em concentrações que variaram de acordo com a fonte da fibra. Os resultados obtidos revelaram dimensões variando de 300 a 500 nm em comprimento e 4 a 16 nm em diâmetro. A apresentação morfológica em forma de agulha demonstrou que o isolamento das fibras de celulose em CNCs foi efetiva. A razão de aspecto associada à formação cilíndrica em agulha dos CNCs isolados evidenciou o alto potencial das fontes de dendê e de vagem de algaroba para o reforço de bionanocompósitos.

Palavras chaves: AFM, bionanocompósitos, CNCs.

ABSTRACT

The isolation of vegetables fiber in cellulose nanocrystals (CNCs) comprises a promising alternative for application as reinforcement in polymer matrices. The characterization of the CNCs is essential to evaluate the reliability of this technique and to determine the possible applications from each vegetable fiber type. Therefore it is proposed here a study with atomic force microscopy technique to analyze the morphology and distribution of CNCs from mango seed, mesquite pods, banana pseudostem and fiber palm mesocarp. CNCs were obtained by acid hydrolysis with sulfuric acid in concentrations that varied according to the fiber sources. The results showed dimensions ranging from 300 to 500 nm in length and 4 to 16 nm in diameter. The morphology obtained needle-like show that the isolation of cellulose fibers to CNCs was. The aspect ratio related to the cylindrical needle organization of the isolated CNCs indicate the high potential of the palm mesocarp and mesquite pods as reinforcement on bionanocomposites.

Keywords: AFM, bionanocomposites, CNCs.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, atenção especial tem sido voltada ao estabelecimento de novos usos de produtos e subprodutos agropecuários em substituição aos recursos fósseis. Nesse contexto, destaca-se a biomassa constituída por fibras vegetais, que são estruturas organizadas em multicamadas, constituídas por microfibrilas de celulose, envolvidas por uma matriz amorfa, composta geralmente por lignina e hemicelulose.

A busca por novas fontes, visando o uso de subprodutos agropecuários chama a atenção para o fato de milhões de toneladas da biomassa de manga (*Mangifera indica* L) e banana (*Musa spp.*) serem produzidas a título de resíduo, no Brasil [1]. A algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw) DC) possui um grande potencial de geração de renda, principalmente na região semiárida do Brasil, na qual sua produção atinge cerca de 2 a 8 toneladas por hectare ao ano; atualmente, é utilizada como forragem para alimentação animal, agregando pouco valor a esse produto [2]. O dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.), cultivado no nordeste brasileiro, é uma fonte rica em celulose, cujo produto residual da extração do óleo (engaço) é constituído por 100% de fibra, o qual é descartado após o processamento [3,4]. O aproveitamento de tais fibras lignocelulósicas é promissor no sentido de agregar maior valor a estes resíduos agropecuários.

Dentre as pesquisas voltadas para novos usos de materiais lignocelulósicos, destaca-se o aproveitamento de fibras vegetais para a obtenção de nanocelulose. A nanocelulose apresenta características mecânicas excepcionais, que a credenciam como um elemento de reforço ideal para materiais avançados denominados nanocompósitos. Além disso, sua incorporação em matrizes poliméricas pode acrescentar vantagens desejáveis, como maior estabilidade térmica e melhoria das propriedades de barreira, mesmo quando em baixas concentrações.

Segundo modelo estrutural proposto por BATTISTA & SMITH (1962) [5], cada microfibrila de celulose pode ser considerada como uma corrente contendo repetições de unidades de celulose (cristalitos), ligados por domínios amorfos. As regiões amorfas agem como defeitos estruturais e, quando submetidas a ataque ácido, são responsáveis pela quebra transversal das microfibrilas em pequenos monocristais [6].

Os monocristais tem sido foco no desenvolvimento de bionanocompósitos (compósitos de matriz polimérica reforçados com fibras vegetais de dimensões nanométricas) [7,8], uma vez que as fibras obtidas a partir de resíduos, tendo sido no passado material de descarte, possuem a qualidade de aumentar o potencial de reciclagem do bionanocompósito [9] em contraposição com as fibras convencionais de vidro ou carbono [10,11]. Assim, a obtenção de matéria-prima fibrosa celulósica com potencial uso para reforço em bionanocompósitos pode ser uma alternativa viável e sustentável para os resíduos de engaço de dendê, manga, algaroba e banana. As fibras celulósicas são amplamente utilizadas na confecção de bionanocompósitos devido à sua elevada resistência, e baixa densidade, produzindo compósitos resistentes e leves [9]. A celulose que é processada para a confecção de bionanocompósitos, quando submetida à hidrólise ácida, se converte com facilidade em nanocristais de celulose (CNCs, *Cellulose Nanocrystals*) [12,13]. A transformação das fibras destes resíduos em nanocristais envolve um processo que precisa ser posteriormente caracterizado fisico-quimicamente e, principalmente, morfologicamente. O conhecimento sobre as medidas de comprimento (L) e diâmetro (D) dos CNCs é de grande importância, uma vez que determinam a razão de aspecto (L/D); uma elevada razão de aspecto indica maior potencial de resistência ao bionanocompósito [14]. CNCs apresentam uma razão de aspecto que pode variar de 1 a 100, sendo que quanto mais próximo de 100, considera-se uma alta razão de aspecto [15]. Outros fatores de interesse envolvem suas propriedades intrínsecas, como a área superficial maior, elevado módulo de elasticidade, baixa densidade para sua aplicabilidade em diversos meios, como indústrias de embalagens, automotivas e demais áreas [16,17,18,19,20].

Atualmente, a caracterização morfológica dos CNCs é realizada com a microscopia eletrônica de varredura (MEV) [21] e transmissão (MET) [22], a difração de raios-X (XRD, *x-ray diffraction*) [23] e mais recentemente, a AFM (*Atomic Force Microscopy*) [24]. No entanto, a análise por XRD não resulta em padrões morfológicos da estrutura e apenas o MEV convencional não apresenta resolução suficiente para caracterizar morfologicamente as nanofibras, sendo necessário recorrer a equipamentos de MEV de alta resolução como o MEV-FEG (FEG, *Field Emission Gun*). O MET, por sua vez, requer alto vácuo, além do preparo da amostra [25]. A AFM é uma ferramenta investigativa em escala atômica a qual confere alta resolução nas dimensões *x*, *y* e *z*, além de não alterar a morfologia nem as propriedades físico-químicas das amostras durante a análise [26, 27]. É possível caracterizar o material de interesse com uma quantidade ínfima de amostra. Embora a resolução das medidas realizadas em AFM sofra influência da geometria da ponta, segundo o modelo de Zenhausern et al. (1992) [28], resultando em artefato conhecido como convolução da ponta [29], para os casos em que a terminação da ponta interage com amostras circulares esse artefato pode ser corrigido, conforme proposto pelo modelo de WANG & CHEN (2007) [30], expresso por:

$$W^2 = 16R_t R_s \quad (1)$$

na qual W (*width*) representa a largura da imagem da amostra; R_t (*radius tip*), o raio da ponta e R_s (*radius sample*), o raio da amostra. A correção das medidas realizada pela equação 1 permite obter a morfologia com maior acurácia [30], sendo possível conhecer as dimensões dos CNCs com precisão e, conseqüentemente, o potencial de resistência que pode conferir ao bionanocompósito.

Neste trabalho, caracterizamos ineditamente CNCs de pseudocaule da bananeira (*Musa spp.*), vagem de algaroba (*P. juliflora* (Sw) DC), dendê (*E. guineensis* Jacq.) e manga (*M. indica* L), utilizando AFM para determinar sua morfologia (comprimento, diâmetro e razão de aspecto), a fim de conhecer seu potencial como reforço na confecção de bionanocompósitos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Preparo dos CNCs

As fibras de pseudocaule de bananeira (*Musa spp.*), de cultivar Pacovan, foram obtidas de uma plantação de bananas no Campo Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, situado na cidade de Paraipaba, CE. As fibras de manga da variedade *Tommy Atkins* (*M. indica* L) extraídas dos tegumentos fibrosos, oriundos do caroço de manga, foram adquiridas no mercado em Fortaleza, CE. As fibras de vagem de algaroba (*P. Juliflora* (Sw) DC) foram cedidas pela Embrapa Algodão, situada em Campina Grande, PB. As fibras de dendê (*E. guineensis* Jacq.) foram cedidas pela Embrapa Amazônia Oriental (CPATU), provenientes de usinas extratoras de dendê no município de Tailândia, PA.

Os protocolos de isolamento dos CNCs, de acordo com cada fonte, são descritos a seguir:

Pseudocaule da Bananeira (PCB). As fibras foram manualmente fracionadas, cortadas por partes e secas em estufa com uma circulação de ar de 60°C por dois dias. Em seguida foram trituradas em moinho de facas Willey (Fortinox Star, FT680) e submetidas ao processo de branqueamento em meio alcalino, no qual as fibras foram imersas em hidróxido de sódio (NaOH) 10% m/v, na proporção de 1:20 (fibra:solução), a 80°C por 5 min, sob agitação. Subseqüentemente, foi adicionado peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 30% v/v numa proporção de 1:4 (fibra:solução), mantendo a temperatura de 80 °C, sob agitação por 30 min. A etapa de branqueamento com H₂O₂ foi repetida, evidenciando que este processo promove a dissolução de gorduras, minerais, parte da hemicelulose e quebra da lignina, entre outros cromóforos, tornando a fibra mais clara. Posteriormente, as fibras foram submetidas à hidrólise ácida, utilizando ácido sulfúrico (H₂SO₄) 64% m/v, durante 1h10 min, sob uma temperatura de 45°C, numa razão ácido-fibra de 12,5 mL.g⁻¹ para obtenção dos CNCs conforme proposto por Sêbe et al. (2012) [17]. **Manga (NM).** Primeiramente, os tegumentos foram secos em estufa à 50°C. Em seguida, cortados e triturados em moinho de facas Willey com malha de 30 *mesh*. As fibras passaram por um pré-tratamento alcalino e, posteriormente, pelo branqueamento numa mistura da solução de NaOH 10% m/v na proporção de 1:20 (fibras:solução) e reagente H₂O₂ 30% m/v na proporção de 1:6 (fibras:reagente), durante 3h à temperatura entre 70-80°C, sob agitação mecânica vigorosa. Para a obtenção dos CNCs, a hidrólise ácida foi realizada com H₂SO₄ 52% m/v, por duas horas, com temperatura de 45°C, na razão ácido-fibra 20 mL.g⁻¹ [31]. **Vagem de Algaroba (VALg).** As fibras das vagens foram trituradas em moinho de facas Willey com malha de 60 *mesh*. Posteriormente, foi realizado pré-tratamento com solução de ácido acético (CH₃COOH), água e ácido clorídrico (HCl), na proporção de 93:7:0,3 v/v/v, seguido de dois branqueamentos: um ocorreu na proporção 1:10 m/v (fibra-solução) com uma solução de NaOH 5% m/v, e outro de igual proporção de fibra com uma solução de H₂O₂ 10% m/v, sob agitação à 50°C por 1h30 min. Após, a hidrólise ácida foi realizada com H₂SO₄ 60% v/v, à 50°C por 1h, com razão ácido-fibra 20 mL.g⁻¹ [2]. **Dendê (ND).** As fibras de dendê brutas passaram pelo processo de moagem e peneiramento, com malha superior a 35 *mesh*. Posteriormente, foram submetidas à etapa de branqueamento com H₂O₂ 30% v/v e, em seguida, com NaOH 10% m/v, ambas a 70°C durante 3h30 min. Após o branqueamento, ocorreu o processo de hidrólise ácida com H₂SO₄ 60% m/v, à 45°C durante 45 minutos na razão ácido-fibra 20 mL.g⁻¹.

2.2. Caracterização morfológica por AFM

A morfologia dos CNCs foi caracterizada em microscópio de força atômica (modelo *Veeco Multimode*), do Laboratório Multidisciplinar de Nanoneurobiofísica (LMN) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Sorocaba, através do software (*Nanoscope 7.30, Veeco 2009*). Foram utilizados cantileveres de nitreto de silício (Si₃N₄, *Silicon Nitride*) curto, no modo contato, com 1kHz de frequência de ressonância e constante de mola entre 0,15-0,30 N/m e raio da ponta de 100 nm. A umidade relativa do ar foi mantida numa média de 35%. Para a determinação do comprimento, diâmetro e razão de aspecto dos CNCs por AFM, as

amostras foram diluídas com água ultrapura (Milli-Q®) à concentração de 0,5 g.L⁻¹. Para as análises dos CNCs isolados, foram pipetados 200µL das suspensões aquosas já diluídas sobre uma superfície de mica muscovita recém-clivada (amostra atômica plana) e as amostras foram secas em temperatura ambiente. Foram realizadas quatro medidas obtidas de cada CNC e foi determinada a média e o desvio-padrão. As medidas de comprimento e diâmetro obtidas por AFM foram coletadas e analisadas com o Software *WSxM 5.0 develop 6.5* [32].

A razão de aspecto foi calculada com a equação 2,

$$RA = \frac{L}{D} \quad (2)$$

na qual, RA é a razão de aspecto, L é o comprimento do CNC e D é o diâmetro do CNC.

A fim de corrigir o artefato de convolução da ponta, foi realizado o cálculo com a equação 1 proposto pelo modelo de WANG & CHEN (2007) [30], desta maneira foi possível obter medidas fidedignas que melhor caracterizaram morfologicamente os CNCs.

3. RESULTADOS

A Figura 1 apresenta as suspensões de CNCs obtidas após hidrólise ácida de cada fibra estudada. A hidrólise ácida cliva a região amorfa e preserva os domínios cristalinos da celulose.

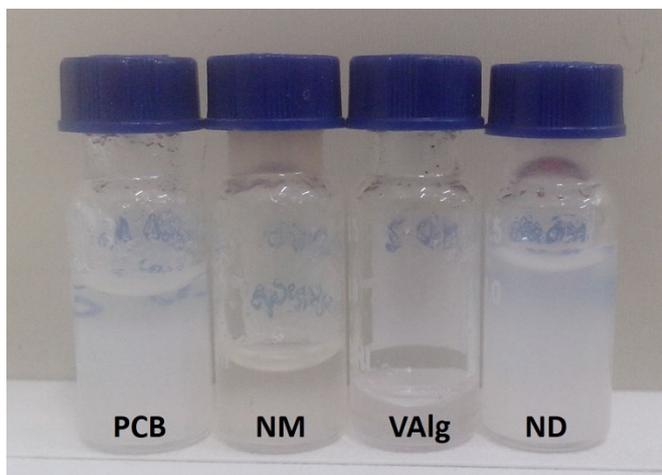


Figura 1: Suspensões de CNCs de pseudocaule de banabeira (PCB), manga (NM), vagem de algaroba (VAlg) e dendê (ND), obtidas após hidrólise ácida.

As suspensões concentradas de CNCs foram analisadas por AFM com imagens topográficas, a fim de determinar as concentrações a serem diluídas para a visualização de fibras isoladas para prosseguir com a caracterização.

A partir da análise das suspensões de diferentes concentrações de CNCs por AFM, a concentração de 0,5 g.L⁻¹ foi ideal para a visualização de CNCs isolados. A identificação dos cristais isolados evidenciou a estrutura típica em forma de agulha, conforme apresentado na Figura 2, tal morfologia é encontrada em outras fontes renováveis fibrosas [33, 34].

Os CNCs de PCB (Figura 2 A), de NM (Figura 2 B), de ND (Figura 2 C) e de VAlg (Figura 2D) estão representadas em imagens topográficas em 2D obtidas por AFM, a partir das quais foi possível estabelecer as dimensões de diâmetro (D) e comprimento (L), como indicado pelo inserto (imagem em 3D) na Figura 2 E.

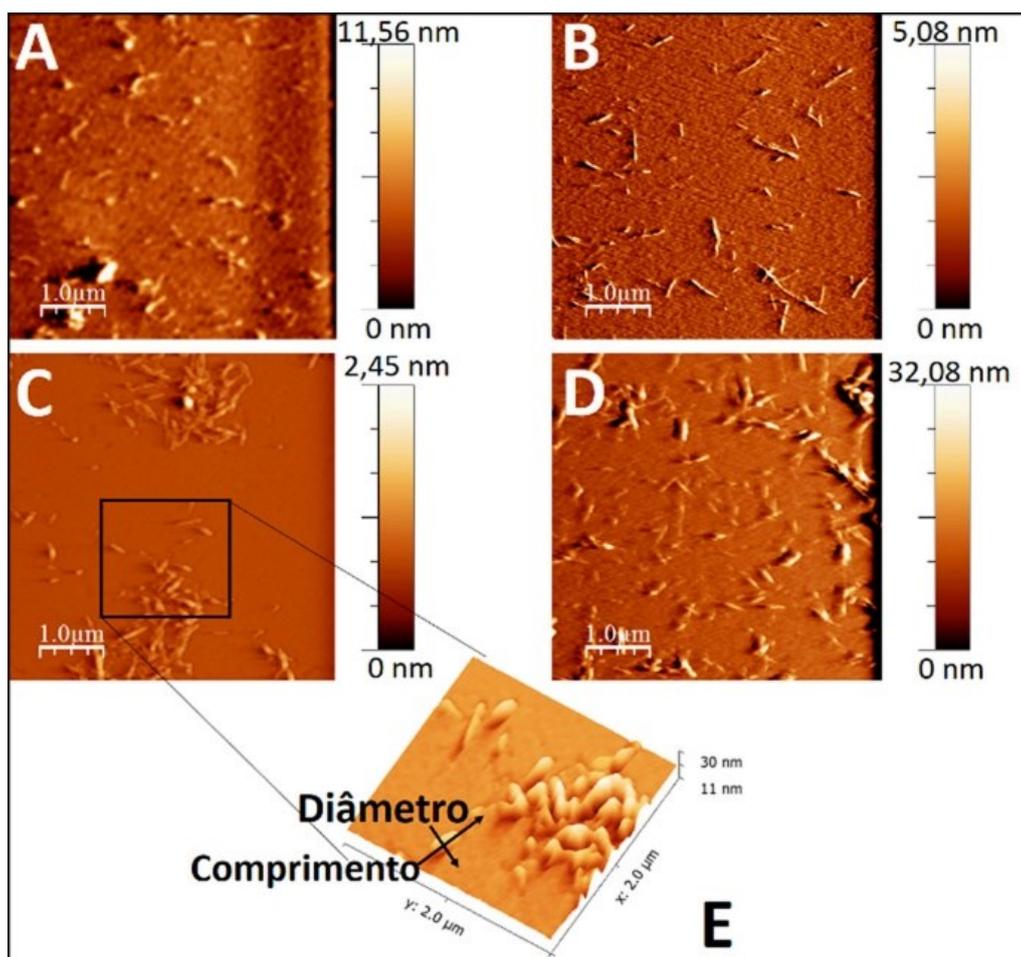


Figura 2: Imagens topográficas em 2D realizadas com AFM em modo contato, na concentração de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de CNCs de (A) bananeira, (B) manga, (C) dendê e (D) vagem de algaroba. (E) Inserto em 3D da ampliação indicada em C, representando as secções transversais utilizadas para a medida de diâmetro e comprimento dos CNCs em cada amostra, no software *WSxM*. (Barra de escala: $1 \mu\text{m}$).

As fibras de PCB, quando submetidas a hidrólise ácida com H_2SO_4 na concentração de 64% m/v, por 70 min, resultaram em CNCs (Figura 2A) que apresentaram um comprimento médio (C) de $(381 \pm 27) \text{ nm}$ e diâmetro médio (D) de $(16 \pm 2) \text{ nm}$. CNCs provenientes de pseudocaule de bananeira foram caracterizados por microscopia de sonda por varredura (STM, *Scanning Tunneling Microscopy*) e MET por *CHERIAN et al.* (2008) [35], que obtiveram valores de diâmetro de 15 nm (Tabela 1), semelhantes aos encontrados por AFM neste trabalho.

As fibras de NM, que reagiram a uma concentração de 52% m/v de H_2SO_4 por 120 min, resultaram em CNCs (Figura 2B) com comprimento médio (C) de $(490 \pm 36) \text{ nm}$ e diâmetro médio (D) de $(9 \pm 1) \text{ nm}$, sendo esses resultados exclusivos ao AFM. *HENRIQUE et al.* (2013) [36], caracterizaram CNCs de sementes de manga por MET, obtendo um diâmetro de $(5 \pm 2) \text{ nm}$, semelhante ao diâmetro encontrado neste estudo (Tabela 1).

As dimensões obtidas neste trabalho de mesocarpo de dendê hidrolisados a uma concentração de 60% m/v, durante 45 min, que resultaram em CNCs (Figura 2C) com comprimento médio (C) de $(318 \pm 42) \text{ nm}$ e diâmetro médio (D) de $(4 \pm 1) \text{ nm}$ estão apresentadas na Tabela 1, comparadas com o trabalho de *SOUZA et al.* (2015) [37] que caracterizaram fibras de mesocarpo de dendê por MEV e MET, hidrolisados sob as mesmas condições de concentração de H_2SO_4 e temperatura, no entanto, sob maior tempo de exposição ao H_2SO_4 (150 min). Tais variações nas condições podem ser responsáveis pela diferença na medida do comprimento dos CNCs [17].

As fibras de VAlg, que foram submetidos à hidrólise de concentração de 60% v/v, resultaram em CNCs com comprimento médio (C) de $(319 \pm 23) \text{ nm}$ e diâmetro médio (D) de $(3,8 \pm 0,7) \text{ nm}$ (tabela 1). Esses resultados são únicos pois não há outro tipo de caracterização de dimensões deste CNC na literatura.

Além das comparações com valores encontrados na literatura, por outras técnicas que não a AFM, a Tabela 1 apresenta os valores de razão de aspecto das medidas obtidas neste estudo.

A razão de aspecto dos CNCs, por estar relacionada intrinsecamente com o tipo de fonte, condição e preparação dos cristais em nanoescala. Pequenas quantidades de celulose podem favorecer um excelente efeito de reforço aos bionanocompósitos, permitindo melhores desempenhos com menor quantidade do material de reforço, quando submetidos a algum estresse ou esforço mecânico [38]. Quanto maior for a razão de aspecto, melhor é a potencialidade de reforço do CNC e estabilidade térmica do nanocompósito no qual foi inserido [15]. Tendo em vista esta relação, é possível classificar a ordem de potencial de reforço dos CNCs aqui analisados, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Condições de isolamento de CNCs, características morfológicas e ordenação decrescente do potencial de reforço dos CNCs, conforme respectiva razão de aspecto.

FONTE DO CNC	H ₂ SO ₄	TEMPERATURA (°C)	TEMPO (min)	PROPORÇÃO ÁCIDO:FIBRA (mg.L ⁻¹)	L (nm)	D (nm)	RA (L/D) / POTENCIAL DE REFORÇO	L(nm); RA D(nm); RA DA LITERATURA
Dendê (ND)	60% m/v	45	45	20	318±42	4±1	64±18 (alto)	171±15; 5,5±0,5; 35±3
Vagem de algaroba (VAlg)	60% v/v	50	60	20	319±23	3,8±0,7	60±17 (alto)	-
Manga (NM)	52% m/v	45	120	20	490±36	9±1	38±11 (médio)	-; 5±2; -
Bananeira (PCB)	64% m/v	45	70	12,5	381±27	16±2	19±4 (baixo)	-; 15; -

Assim, dos CNCs caracterizados neste trabalho, são mais indicados para o reforço de bionanocompósito os obtidos das fontes de dendê e de vagem de algaroba, que apresentam maior razão de aspecto.

4. DISCUSSÃO

Os valores das dimensões dos CNCs obtidos neste estudo são próximos aos encontrados na literatura oriundos de diferentes fontes renováveis, como coco, palha de arroz, bagaço de cana-de-açúcar, juta, abacaxi, entre outros [39,40,41,42].

Os CNCs apresentaram dimensões obtidas por AFM que se mantiveram consistentes diante de umidade relativa do ar, em média 35%, segundo proposto pelo estudo de THUNDAT *et al.* (1993) [43], no qual apresentaram resultados da interferência da alta umidade relativa do ar sobre a resolução das imagens, sendo ideal o controle da umidade abaixo dos 40%. É fisicamente improvável que cristais de celulose fiquem mais espessos mediante o aumento da umidade pois, devido às propriedades intrínsecas desse tipo de material, fatores como a penetração e a difusão das moléculas de água é dificultada nos nanocristais de celulose conforme demonstrado por LAHIJI *et al.* (2010) [33].

Diferentes biomassas lignocelulósicas possuem distintas características tanto quantitativas quanto qualitativas de macromoléculas em sua composição. Atualmente, o algodão ainda é a principal fonte de obtenção de nanocristais por apresentarem alto teor de celulose cuja extração não requer processo complexo de purificação. Porém, fibras de fácil obtenção como o sisal, rami, palha, juta, entre outras, com alto teor de celulose assim como o algodão necessitam de processos mais complexos de purificação [38]. A incorporação das fibras às matrizes poliméricas conduz alterações aos domínios mecânicos dos compósitos, entretanto estes domínios são dependentes das características dessas fontes renováveis. Assim, as adições dessas fontes lignocelulósicas desencadeiam um aumento ao módulo de armazenamento no intervalo de temperatura, devido à alta rigidez que a fibra dá ao compósito [44].

Portanto, é empírico otimizar o processo de obtenção de nanocristais para cada biomassa analisada, o

que leva à necessidade de diferentes tipos de branqueamento e condições de hidrólise ácida das suas polpas celulósicas aliadas à caracterização precisa por AFM para obtenção das dimensões, conforme apresentado neste trabalho. Tais processos norteiam a escolha de fontes de fibras e tratamentos adequados para o reforço das matrizes poliméricas que atendam às necessidades de produção de bionanocompósitos de alta performance e baixo custo.

5. CONCLUSÕES

Este trabalho mostrou que os CNCs analisados e extraídos de distintas fontes renováveis apresentaram alto potencial de reforço, com destaque para aqueles obtidos de dendê e de vagem de algaroba. Adicionalmente, a AFM destacou-se como ferramenta chave para viabilizar a análise de alta resolução da topografia dos CNCs, permitindo uma avaliação precisa de dimensões e efetiva caracterização.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos: À EMBRAPA/CNPAT pela preparação por hidrólise ácida e fornecimento da suspensão dos nanocristais de manga, dendê, vagem de algaroba e pseudocaule da bananeira. E o CNPQ e MCTI/SISNANO; à FAPESP#201304320-0, EMBRAPA/CNPDIÁ e a CAPES/PNPD#20131505 pelo financiamento com o qual foi possível realizar este trabalho.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] SATYANARAYANA, K. G., GUIMARÃES, J. L., WYPYCH, F., “Studies on lignocellulosic fibers of Brazil. Part I: Source, production, morphology, properties and applications”, *Composites Part A*, v. 38, n.7, pp. 1694–1709, 2007.
- [2] SOUZA FILHO, M. S. M., NASCIMENTO, R. M., CAVALCANTE, F. L., *et al.*, “Extração e caracterização de galactomanana de vagens de algaroba (*Prosopis juliflora*)”, *Comunicado Técnico*, v. 209, pp. 1-7, 2013.
- [3] BRINCHI, L., COTONA, F., FORTUNATI, E., *et al.*, “Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications”, *Carbohydrate Polymers*, v. 94, n. 1, pp. 154-169, 2013.
- [4] SLUSZZ, T., MACHADO, J. A. D., “Características das potenciais culturas matérias-primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar”. In: *Encontro de Energia no Meio Rural: Agrener*, Scielo Proceedings 6, 1-10, Campinas, SP, BR, 2006.
- [5] BATTISTA, O. A., SMITH, P. A., “Microcrystalline cellulose: The oldest polymer finds new industrial uses”, *Industrial and Engineering Chemistry*, v.54, n.9, 1962.
- [6] DUFRESNE, A. *Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials*. De Gruyter, Germany 2012.
- [7] SILVA, R., HARAGUCHI, S. K., MUNIZ, E. C., *et al.*, “Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos”, *Química Nova*, v. 32, n. 3, pp. 661-671, 2009.
- [8] SILVA, D., ALMEIDA, M. L. O., “Nanocristais de celulose”, *O Papel: Revista Mensal de Tecnologia em Celulose e Papel*, v. 70, n. 7, pp. 34-52, 2009.
- [9] ALEMDAR, A., SAIN, M., “Biocomposites from wheat straw nanofibers: morphology, thermal and mechanical properties”, *Composites Sciences and Technology*, v. 68, n. 2, pp. 557-565, 2008.
- [10] LU, Y., WENG, L., CAO, X., “Biocomposite of plasticized starch reinforced with cellulose crystallites from cottonseed linter”, *Macromolecular Bioscience*, v. 5, n. 11, pp. 1101-107, 2005.
- [11] GASSAN, J., BLEDZKI, A. K., “The influence of fiber-surface treatment on the mechanical properties of jute-polypropylene composites”, *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 28(12), 1001-1005, 1997.
- [12] BATTISTA, O. A., “Microcrystal polymer science”, *McGraw-Hill Book Company*, v. 13, n. 10, pp. 624-625, 1975.
- [13] EBELING, T., PAILLET, M., BORSALI, R., *et al.*, “Shear-induced orientation phenomena in suspensions of cellulose microcrystals, revealed by small angle x-ray scattering”, *Langmuir*, v. 15, n. 19, pp. 6123-6126, 1999.
- [14] FARUK, O., BLEDZKI, A. K., FINK, H-P., *et al.*, “Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000-2001”, *Progress in Polymer Science*, v. 37, n. 11, 1552-1596, 2012.

- [15] SAMIR, M. A. S. A., ALLOIN, F., DUFRESNE, A., “Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposites field”, *Biomacromolecules*, v. 6, n. 2, pp. 612-626, 2005.
- [16] SIQUEIRA, G., BRAS, J., DUFRESNE, A., “Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation properties and applications”, *Polymers*, v. 2, n. 4, pp. 728-765, 2013.
- [17] SEBE, G., HAN-PICHAVAN, F., IBARBOURE, E., *et al.*, “Supramolecular structure characterization of cellulose II nanowhiskers produced by acid hydrolysis of cellulose I substrates”, *Biomacromolecules*, v. 13, n. 2, pp. 570-578, 2012.
- [18] KVIEN, I., TANEM, S. B., OKSMAN, K. “Characterization of cellulose whiskers and their nanocomposites by atomic force and electron microscopy”, *Biomacromolecules*, v. 6, n. 6, pp. 3160-3165, 2005.
- [19] LAHIJI, R., BOLUK, Y., MCDERMOTT, M., “Adhesive surface interactions of cellulose nanocrystals from different source”, *Journal Materials Science*, v. 47, n. 9, pp. 3961-3970, 2012.
- [20] LEUNG, W. C. A., LAM, E., CHONG, J., *et al.*, “Reinforced plastics and aerogels by nanocrystalline cellulose”, *Journal of Nanoparticules Research*, v. 15, pp. 1636-1659, 2013.
- [21] NI, H., ZENG, S., WU, J., *et al.*, “Cellulose nanowhiskers: preparation, characterization and cytotoxicity evaluation”. *Bio-medical Materials and Engineering*, v. 22, pp. 121-127, 2012.
- [22] MORAIS, J. P. S., ROSA, M. F., SOUZA FILHO, M. S., *et al.*, “Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter”, *Carbohydrate Polymers*, v. 91, n. 1, pp. 229-235, 2013.
- [23] HAAFIZ, M. K. M., HASSAN, A., ZAKARIA, Z., *et al.*, “Isolation and characterization of cellulose nanowhiskers from oil palm biomass microcrystalline cellulose”, *Carbohydrate Polymers*, v. 103, pp. 119-125, 2014.
- [24] NASCIMENTO, J. H. O., LUZ, R. F., GALVÃO, F. M. F., *et al.*, “Extraction and characterization of cellulosic nanowhisker obtained from discarded cotton fibers”, *Material Today: Proceedings*, v. 2, pp. 1-7, 2005.
- [25] HORNYAK, G. L., PESCHEL, ST., SAWITOWSKI, TH., *et al.* “TEM, STM and AFM as tool to study clusters and colloids”, *Micron*, v. 29, n. 2/3, pp. 183-190, 1998.
- [26] ALESSANDRINI, A., FACCI, P., “AFM: a versatile tool in biophysics”, *Measurement Science and Technology*, v. 16, pp. 65-92, 2005.
- [27] LEITE, F. L., BUENO, C. C., DA RÓZ, A. L., *et al.*, “Theoretical models for surface forces and adhesion and their measurement using atomic force microscopy”, *International Journal of Molecular Sciences*, v. 13, n. 10, pp. 12773-12856, 2012.
- [28] ZENHAUSERN, F., ADRIAN, M., HEGGELER-BORDIER, B., *et al.*, “DNA and RNA polymerase/DNA complex imaged by scanning force microscopy: influence of molecular-scale friction”. *Scanning*, v. 14, n. 4, pp. 212-217, 1992.
- [29] BRAGA, P. C., RICCI, D. (Ed.), *Atomic force microscopy: biomedical methods and applications*. New Jersey: Humana Press, 2004.
- [30] WANG, Y., CHEN, X. “Carbon nanotubes: a promising standard for quantitative evaluation of AFM tip apex geometry”, *Ultramicroscopy*, v. 107, pp. 293-298, 2007.
- [31] CORDEIRO, E. M. S., NUNES, Y. L., MATTOS, A. L. A., *et al.*, “Polymer biocomposites and nanobiocomposites obtained from mango seeds”, *Macromolecular Symposia*, v. 344, pp. 39-54, 2014.
- [32] HORCAS, I., FERNÁNDEZ, R., GÓMEZ-RODRÍGUEZ, J. M., *et al.*, “WSxM: a software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology”, *Review of Science Instruments*, v. 78, n. 1, pp. 013705, 2007.
- [33] LAHIJI, R. R., XU, X., REIFENBERGER, R., RAMAN A., *et al.*, “Atomic force microscopy characterization of cellulose nanocrystals”, *Langmuir*, v. 26, n. 6, pp. 4480-4488, 2010.
- [34] DUFRESNE, A., BELGACEM, M. N., “Cellulose-reinforced composites: from micro-to nanoscale”, *Polímeros*, v. 23, n. 3, pp. 277-286, 2013.
- [35] CHERIAN, B. M., POTHAN, L. A., NGUYEN-CHUNG, T., *et al.*, “A novel method for the synthesis of cellulose nanofibril whiskers from banana fibers and characterization”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, n. 14, pp. 5617-5627, 2008.

- [36] HENRIQUE, M. A., SILVÉRIO, H. A., NETO, W. P. F., *et al.*, “Valorization of an agro-industrial waste, mango seed by the extraction and characterization of its cellulose nanocrystals”, *Journal of Environmental Management*, v. 121, pp. 202-209, 2013.
- [37] SOUZA, N. F., PINHEIRO, J. A., SILVA, P., *et al.*, “Development of chlorine-free pulping method to extract cellulose nanocrystals from pressed oil palm mesocarp fibers”, *Journal Materials Bioenergy*, v. 9, pp. 372-379, 2015.
- [38] ROSA, M. F., MEDEIROS, E. S., MALMONGE, J. A., *et al.*, “Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior”, *Carbohydrate Polymers*, v. 81, pp. 83-92, 2010.
- [39] SANTOS, R. M., NETO, W. F., SILVÉRIO, H. A., *et al.*, “Cellulose nanocrystals from pineapple leaf, a new approach for the reuse of this agro-waste”, *Industrial Crops and Products*, v. 50, pp. 707-714, 2013.
- [40] KASYAPI, N., CHAUDHARY, V., BHOWMICK, A. K., “Bionanowhiskers from jute: preparation and characterization”, *Carbohydrate Polymers*, v. 92, pp. 1116-1123, 2013.
- [41] LU, P., HSIEH, Y., “Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw”, *Carbohydrate Polymers*, v. 87, pp. 564-573, 2012.
- [42] KUMAR, A., NEGI, Y. S., CHOUDHARY, V., *et al.*, “Characterization of cellulose nanocrystals produced by acid-hydrolysis from sugarcane bagasse as agro-waste”, *Journal of Materials Physics and Chemistry*, v. 2, n. 1, pp. 1-8, 2014.
- [43] THUNDAT, T., ZHENG, X. -Y., CHEN, G. Y., *et al.*, “Role of relative humidity in atomic force microscopy imaging”, *Surface Science Letters*, v. 294, n. 1-2, pp. 1993.
- [44] ANUAR, H., AHMAD, S. H., “Essential work of fracture and acoustic emission study on TPNR composites reinforced by kenaf fiber”, *Journal of Composite Materials*, v. 41, pp. 3035-3049, 2007.