

**ROSANA REIS DE LIMA ARAÚJO**

**ESTUDO DO POTENCIAL DAS MACROALGAS *Sargassum* sp. E *Padina* sp.  
PARA EXTRAÇÃO DE NANOCELULOSE**

Maceió - Alagoas

2024

ROSANA REIS DE LIMA ARAÚJO

**ESTUDO DO POTENCIAL DAS MACROALGAS *Sargassum* sp. E *Padina* sp.  
PARA EXTRAÇÃO DE NANOCELULOSE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – PPGEQ da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

Orientadora: Profa. Dra. Renata M. R. G. Almeida

Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de F. Silva

Maceió – Alagoas

2024

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

A663e    Araújo, Rosana Reis de Lima.  
          Estudo do potencial das macroalgas *Sargassum sp.* e *Padina sp.* para  
          extração de nanocelulose / Rosana Reis de Lima Araújo. – 2024.  
          130 f. il. : figs. ; tabs. color.

          Orientadora: Renata M. R. G. Almeida.  
          Co-orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva.  
          Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de  
          Alagoas. Centro de Tecnologia. Programa de pós-Graduação em Engenharia  
          Química. Maceió, 2024.

          Bibliografia: f. 119-130.

          1. Nanopartículas de celulose. 2. Hidrólise ácida. 3. Algas - Pré-  
          tratamento. I. Título.

CDU: 66.094.941

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo amparo em todos os momentos vividos ao longo dessa caminhada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas (PPGEQ-UFAL) pela oportunidade, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL) pelo financiamento do projeto e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco – Campus Caruaru pelo apoio financeiro.

A professora Dra. Cristiane Farinas e a Doutoranda Rafaela Gama pelo apoio para realização das análises na Embrapa Instrumentação – São Carlos.

A professora Dra. Renata Rosas que ainda na graduação me abriu as portas para a pesquisa e mais uma vez agora no doutorado confiou e acreditou no meu trabalho. Pelo suporte, orientação, compreensão e amizade ao longo dessa jornada.

Ao professor Dr. Carlos Eduardo pelo apoio, suporte, confiança e amizade nessa intensa jornada.

Aos colegas amigos conquistados no decorrer do trabalho realizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos e Bebidas (LTBA) e do Grupo de Pesquisa em Nanocelulose que dedicaram tempo e onde nunca faltou ajuda nas discussões e resoluções dos problemas. Principalmente aos amigos com que dividi muitos momentos e que com certeza deixaram essa caminhada mais leve e feliz.

Aos meus pais e irmão pelo amor e apoio incondicional ao longo de toda essa jornada.

Aos amigos de uma vida que não pouparam apoio, incentivo e amizade. Muito Obrigada!

## **PREÂMBULO**

### Artigo completo publicado em periódicos:

SILVA, C. E. F.; SANTOS, N. M. M.; ARAÚJO, R. R. L.; ALMEIDA, R. M. R. G. Severity factor applied to microalgal acidic hydrolysis: A proposal of correction factor when the process is carried out at different temperatures. *BioEnergy Research*, v. 16, p. 865-876, 2023.

### Capítulos de livros publicados:

DE ANDRADE, F. P.; DE SÁ FILHO, M. L. F.; ARAÚJO, R. R. L. RIBEIRP, T. R. M.; SILVA, A. E.; SILVA, C. E. F. Photosynthetic production of ethanol using genetically engineered cyanobacteria. *Biofuels Production – Sustainability and advances in microbial bioresources*, p. 99-113, 2020.

ARAÚJO, R. R. L.; SILVA, C. E. F.; SÁ FILHO, M. L. F.; ALMEIDA, R. M. R. G. Bioethanol from microalgae. *3rd Generation Biofuels*, p. 439-462, 2022.

## RESUMO

Nos últimos anos, tem havido um aumento na busca por novos materiais que sejam mais sustentáveis e de origem renovável. Entre esses materiais, os nanocristais de celulose (NCC) têm ganhado destaque por terem origem em matérias-primas ricas em celulose. Os (NCC) podem ser utilizados por diversos setores industriais para melhorar propriedades ópticas e mecânicas, além de proporcionar estabilidade e benefícios ambientais a uma variedade de bioprodutos. Podem ser obtidos a partir de várias fontes, como fibras vegetais, resíduos agroindustriais e algas marinhas, estas últimas com a vantagem de possuir um menor teor de lignina. Contudo, para garantir qualidade e reduzir os custos na extração dos NCC, é essencial compreender os parâmetros que influenciam o processo. Neste trabalho, foi explorado o potencial das macroalgas marrons *Sargassum* sp. e *Padina* sp. como fonte de nanocristais de celulose (NCC), investigando o impacto do pré-tratamento alcalino (realizado com NaOH 2%), branqueamento (com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) e o combinado (alcalino seguido de branqueamento), bem como os efeitos dos parâmetros operacionais tempo (45min e 90min) e temperatura (45°C e 60°C) sobre a hidrólise com ácido sulfúrico. O pré-tratamento da biomassa reduziu suas impurezas, elevando o teor de celulose de 29,57% para 82,23% na *Sargassum* sp. e de 30,27% para 79,23% na *Padina* sp., favorecendo assim a extração de NCC pela hidrólise ácida. Os NCC produzidos sob as condições operacionais mais brandas avaliadas, especificamente a 45°C e 45 minutos, resultaram nos melhores rendimentos mássicos, variando entre 25,81% e 87,41% para a *Sargassum* sp. e entre 39,87% e 62,89 para a *Padina* sp. Esses NCC foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espalhamento dinâmico da luz (DLS), potencial zeta, difração de raio X (DRX) e análise termogravimétrica (TGA). Os principais resultados mostraram que as amostras submetidas ao tratamento ao alcalino e ao tratamento combinado apresentaram espectros de FTIR com diminuição dos picos característicos de lignina e hemicelulose, além de aumento da intensidade dos picos característicos de celulose. Também foi observada uma redução na intensidade do pico associado à absorção da molécula de água, devido à diminuição do número de hidroxilas livres, sugerindo a dissolução de regiões amorfas. Os resultados do potencial zeta indicaram que todas as suspensões apresentaram valores entre -42,5 a -66,4mV,

demonstrando boa estabilidade da suspensão. A análise de DRX revelou que o pré-tratamento realizado não mudou a configuração da celulose nativa para a celulose tipo II. No entanto, o índice de cristalinidade (Ic) foi significativamente maior nas amostras de *Sargassum* sp. submetida ao tratamento alcalino (Ic=70,95%) e combinado (Ic=88,13%) em comparação com a biomassa apenas branqueada (Ic=36,31%). Um comportamento semelhante foi observado para a *Padina* sp., com Ic=78,76% para o tratamento alcalino e Ic=87,46% para o tratamento combinado, enquanto a biomassa branqueada apresentou Ic=39,81%. Esses resultados indicam que o branqueamento por si só não é suficiente para melhorar a extração de NCC a partir de macroalgas. A análise termogravimétrica mostrou que o tratamento combinado resultou em uma diminuição na estabilidade térmica para ambas as macroalgas, devido à substituição dos grupos hidroxilas por grupos sulfato durante o processo de hidrólise. Já os resultados do DLS indicaram que o hidrolisado obtido a partir da *Padina* sp. submetida ao tratamento combinado apresentou distribuição de tamanho superior a 70%, em dimensões inferiores a 250nm, enquanto o hidrolisado de *Sargassum* sp. apresentou distribuição de tamanho superior a 90% em dimensões inferiores a 100nm, indicando a presença de NCC. O hidrolisado de *Padina* mercerizada apresentou distribuição de tamanho superior a 25% em dimensões inferiores a 250nm, e a *Sargassum* submetida ao mesmo pré-tratamento apresentou distribuição de tamanho superior a 15% em dimensões inferiores a 250nm, sugerindo que o tratamento alcalino tem potencial para a produção de nanocelulose em outras condições operacionais. Os resultados sugerem que é possível obter NCC com elevado índice de cristalinidade a partir da hidrólise ácida de macroalgas dos gêneros *Sargassum* sp. e *Padina* sp. submetidas ao pré-tratamento alcalino e combinado, com uma provável diminuição nos custos ambientais associados às etapas de extração de nanocelulose.

**Palavras-Chave:** Nanocristais de celulose, hidrólise ácida, pré-tratamento, algas.

## ABSTRACT

In recent years, there has been an increase in the search for new materials that are more sustainable and of renewable origin. Among these materials, cellulose nanocrystals (CNC) have gained prominence due to their origin from cellulose-rich raw materials. CNCs can be used in various industrial sectors to improve optical and mechanical properties, as well as provide stability and environmental benefits to a variety of bioproducts. They can be obtained from various sources, such as plant fibers, agro-industrial residues, and seaweed, the latter having the advantage of a lower lignin content. However, to ensure quality and reduce costs in the extraction of CNCs, it is essential to understand the parameters that influence the process. In this work, the potential of brown macroalgae *Sargassum* sp. and *Padina* sp. as a source of cellulose nanocrystals (CNC) was explored, investigating the impact of alkaline pretreatment (performed with 2% NaOH), bleaching (with 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), and combined treatment (alkaline followed by bleaching), as well as the effects of operational parameters time (45 minutes and 90 minutes) and temperature (45°C and 60°C) on hydrolysis with sulfuric acid. The pretreatment of biomass reduced its impurities, increasing the cellulose content from 29.57% to 82.23% in *Sargassum* sp. and from 30.27% to 79.23% in *Padina* sp., thus favoring the extraction of CNC by acid hydrolysis. The CNCs produced under the mildest operational conditions evaluated, specifically at 45°C and 45 minutes, resulted in the best mass yields, ranging from 25.81% to 87.41% for *Sargassum* sp. and from 39.87% to 62.89% for *Padina* sp. These CNCs were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), dynamic light scattering (DLS), zeta potential, X-ray diffraction (XRD), and thermogravimetric analysis (TGA). The main results showed that the samples subjected to alkaline treatment and combined treatment showed FTIR spectra with a decrease in the peaks characteristic of lignin and hemicellulose, as well as an increase in the intensity of the peaks characteristic of cellulose. A reduction in the intensity of the peak associated with water molecule absorption was also observed, due to the decrease in the number of free hydroxyls, suggesting the dissolution of amorphous regions. The zeta potential results indicated that all suspensions showed values between -42.5 to -66.4 mV, demonstrating good suspension stability. The XRD analysis revealed that the pretreatment did not change the native cellulose configuration to cellulose type II. However, the crystallinity index (CI) was significantly higher in the *Sargassum* sp. samples subjected to alkaline

treatment (CI=70.95%) and combined treatment (CI=88.13%) compared to the merely bleached biomass (CI=36.31%). A similar behavior was observed for *Padina* sp., with CI=78.76% for alkaline treatment and CI=87.46% for combined treatment, while the bleached biomass showed CI=39.81%. These results indicate that bleaching alone is not sufficient to improve the extraction of CNC from macroalgae. The thermogravimetric analysis showed that the combined treatment resulted in a decrease in thermal stability for both macroalgae, due to the substitution of hydroxyl groups by sulfate groups during the hydrolysis process. The DLS results indicated that the hydrolysate obtained from *Padina* sp. subjected to the combined treatment showed a size distribution of over 70% in dimensions below 250 nm, while the hydrolysate from *Sargassum* sp. showed a size distribution of over 90% in dimensions below 100 nm, indicating the presence of CNC. The mercerized *Padina* hydrolysate showed a size distribution of over 25% in dimensions below 250 nm, and *Sargassum* subjected to the same pretreatment showed a size distribution of over 15% in dimensions below 250 nm, suggesting that alkaline treatment has potential for the production of nanocellulose under other operational conditions. The results suggest that it is possible to obtain CNCs with a high crystallinity index from the acid hydrolysis of macroalgae from the genera *Sargassum* sp. and *Padina* sp. subjected to alkaline and combined pretreatment, with a probable decrease in environmental costs associated with nanocellulose extraction stages.

**Keywords:** Cellulose nanocrystals, acid hydrolysis, pretreatment, algae.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Macroalgas utilizadas como matéria-prima na obtenção de bioprodutos.....	20
<b>Tabela 2:</b> Composição química média das macroalgas. ....	21
<b>Tabela 3:</b> Produção mundial de aquicultura por região e grandes produtores selecionados.....	31
<b>Tabela 4:</b> Maiores produtores de celulose no mundo em 2021.....	35
<b>Tabela 5:</b> Materiais alternativos utilizados como fonte de celulose, produtos obtidos e aplicações. ....	41
<b>Tabela 6:</b> Comparação das características dos diferentes tipos celulose nanoestruturadas. ....	44
<b>Tabela 7:</b> Nanocelulose obtida de biomassas diversas por meio da hidrólise ácida utilizando diferentes ácidos. ....	56
<b>Tabela 8:</b> Nanocelulose extraída a partir de Macroalgas. ....	61
<b>Tabela 9:</b> Aplicações de nanocelulose e métodos de obtenção. ....	63
<b>Tabela 10:</b> Dados codificados e reais do delineamento estatístico das variáveis: tipo de biomassa pré-tratada, temperatura e tempo. ....	76
<b>Tabela 11:</b> Análise da composição química da biomassa <i>in natura</i> . ....	80
<b>Tabela 12:</b> Codificação das amostras das macroalgas <i>Sargassum</i> sp. e <i>Padina</i> sp. submetidas a pré-tratamento químico. ....	81
<b>Tabela 13:</b> Rendimento do pré-tratamento químico realizado na biomassa das macroalgas <i>Sargassum</i> sp. e <i>Padina</i> sp. ....	82
<b>Tabela 14:</b> Composição química da biomassa das macroalgas após pré-tratamento. ...	83
<b>Tabela 15:</b> Rendimento mássico para as diferentes condições de tempo e temperatura. ....	92
<b>Tabela 16:</b> Efeitos principais e efeitos de interação dos fatores biomassa das macroalgas <i>Sargassum</i> e <i>Padina</i> mercerizada, temperatura (°C) e tempo (min) avaliados no rendimento em massa. ....	95
<b>Tabela 17:</b> Efeitos principais e efeitos de interação dos fatores biomassa <i>Sargassum</i> e <i>Padina</i> branqueada, temperatura (°C) e tempo (min) avaliados no rendimento em massa. ....	96
<b>Tabela 18:</b> Efeitos principais e efeitos de interação dos fatores biomassa submetida ao tratamento combinado, temperatura (°C) e tempo (min) avaliados no rendimento em nanocristais de celulose.....	98

<b>Tabela 19:</b> Efeitos de primeira ordem e efeitos de interação avaliados no rendimento em nanocristais de celulose.....	100
<b>Tabela 20:</b> Dados para o potencial zeta das suspensões de nanocristais de celulose. .	102
<b>Tabela 21:</b> Índice de cristalinidade obtidos a partir das macroalgas <i>Padina</i> sp. e <i>Sargassum</i> sp. pré-tratadas via hidrólise ácida.....	113

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Classificação das macroalgas: [A] Alga vermelha; [B] Alga marrom; [C] Alga verde. Fonte: Adaptado de Central Nuclear Almirante Alvaro Alberto, 2015. ....	21
<b>Figura 2:</b> Diversidade de espécies de macroalgas presente no litoral nordestino. Fonte: Autor, 2021.....	23
<b>Figura 3:</b> Macroalga do gênero <i>Sargassum</i> sp. coletada no litoral de Maceió – AL. Fonte: Autor, 2021.....	29
<b>Figura 4:</b> Macroalga do gênero <i>Padina</i> sp. coletada no litoral de Maceió – AL. Fonte: Autor, 2021.....	30
<b>Figura 5:</b> [A] Estrutura química básica da celulose mostrando as unidades de repetição; [B] Arranjo paralelo de moléculas de celulose e sua estrutura de rede estabilizada através das ligações de hidrogênio intra e intermolecular. Fonte: Adaptado de Janaswamy <i>et al.</i> , 2022. ....	37
<b>Figura 6:</b> Transformação da celulose nativa em vários polimorfos. Fonte: Adaptado de Klemm <i>et al.</i> , 2002.....	38
<b>Figura 7:</b> Representação gráfica das microfibrilas de celulose mostrando as regiões amorfas e cristalinas. Fonte: Adpatado de Moon <i>et al.</i> , 2011. ....	38
<b>Figura 8:</b> Estruturas geométricas propostas para a celulose nativa, a esquerda a estrutura triclinica $I_{\alpha}$ e a direita a estrutura monoclinica $I_{\beta}$ . Fonte: Adaptado de Moon <i>et al.</i> , 2011.....	39
<b>Figura 9:</b> Curvas de difração de raio-X para a celulose I, II, III e IV. Fonte: Ishikawa, Okano e Sugiyama, 1997. ....	40
<b>Figura 10:</b> Morfologia dos tipos de nanocelulose obtidas: [A] Imagem obtida por Microscopia de força atômica (MFA) de NCC; [B] Imagem obtida por MFA de NFC; Fonte: Torabizadeh <i>et al.</i> , 2022. ....	43
<b>Figura 11:</b> Representação esquemática da extração de nanofibras de celulose via desintegração mecânica. Fonte: Adpatado de Phanthong <i>et al.</i> , 2023.....	45
<b>Figura 12:</b> Representação esquemática da hidrólise ácida atuando sobre a cadeia de celulose, o ácido forte solubilizando a região amorfa da estrutura liberando os nanocritais de celulose. Fonte: Adpatado de Phanthong <i>et al.</i> , 2023. ....	47
<b>Figura 13:</b> Resumo dos métodos de síntese da nanocelulose com suas principais características, vantagens e desvantagens. Fonte: Adaptado de Ji <i>et al.</i> , 2023. ....	49

<b>Figura 14:</b> Local da coleta das macroalgas – Praia de Riacho Doce, Maceió – AL. Fonte: Autor, 2021.....	64
<b>Figura 15:</b> Macroalgas coletadas no município de Maceió, litoral alagoano, utilizadas na pesquisa foram dos gêneros: (a) <i>Sargassum</i> ; (b) <i>Padina</i> . Fonte: Autor, 2021.....	65
<b>Figura 16:</b> Amostras da biomassa após o processo de moagem, [A] <i>Sargassum</i> sp. <i>in natura</i> ; [B] <i>Padina</i> sp. <i>in natura</i> . Fonte: Autor, 2021.....	65
<b>Figura 17:</b> (a) Biomassa seca e sem extrativos antes de ser submetida ao processo de branqueamento (Macroalgas <i>Padina</i> sp. e <i>Sargassum</i> sp. respectivamente); (b) Macroalga <i>Padina</i> sp. após o processo de branqueamento; (c) Macroalga <i>Sargassum</i> sp. após o processo de branqueamento. Fonte: Autor, 2022. ....	72
<b>Figura 18:</b> Fluxograma do processo de obtenção de nanocristais de celulose via hidrólise ácida. Fonte: Autor, 2022. ....	75
<b>Figura 19:</b> Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura para as amostras da macroalgas <i>Sargassum</i> sp.: (A) <i>Sargassum</i> sp. <i>in natura</i> , (B) <i>Sargassum</i> sp. após remoção de extrativos, (C) <i>Sargassum</i> sp. após tratamento alcalino, (D) <i>Sargassum</i> sp. após processo de branqueamento e (E) <i>Sargassum</i> sp. após tratamento combinado, com aumento de 5000x. Fonte: Autor, 2022.....	85
<b>Figura 20:</b> Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura para as amostras da macroalgas <i>Padina</i> sp.: (A) <i>Padina</i> sp. <i>in natura</i> , (B) <i>Padina</i> sp. após remoção de extrativos, (C) <i>Padina</i> sp. após tratamento alcalino, (D) <i>Padina</i> sp. após processo de branqueamento e (E) <i>Padina</i> sp. após tratamento combinado, com aumento de 5000x Fonte: Autor, 2022.....	86
<b>Figura 21:</b> (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga <i>Sargassum</i> sp. <i>in natura</i> e após tratamento químico, e (B) destaque da região de 1900 – 550 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2022.....	89
<b>Figura 22:</b> (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga <i>Padina</i> sp. <i>in natura</i> e após tratamento químico, e (B) destaque da região de 1900 – 550 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2022.....	90
<b>Figura 23:</b> Efeitos principais e secundários para a biomassa mercerizada, temperatura e tempo. Fonte: Autora (2023).....	95
<b>Figura 24:</b> Efeitos de principais e secundários para a biomassa branqueada, temperatura e tempo. Fonte: Autora (2023). ....	97

<b>Figura 25:</b> Efeitos de principais e secundários para a biomassa submetida ao tratamento combinado (mercerizada seguido do branqueamento), temperatura e tempo. Fonte: Autora (2023). .....	98
<b>Figura 26:</b> Curvas de DLS para as amostras hidrolisadas da macroalga <i>Padina</i> sp. pré-tratada. Fonte: Autor, 2023.....	104
<b>Figura 27:</b> Curvas de DLS para as amostras hidrolisadas da macroalga <i>Sargassum</i> sp. pré-tratada. Fonte: Autor, 2023. ....	105
<b>Figura 28:</b> (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga <i>Padina</i> sp. mercerizada e após hidrólise ácida (temperatura de 45°C e tempo de 45 min), e (B) destaque da região de 1900 – 500 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2023.....	107
<b>Figura 29:</b> (A) Curva de FTIR com espectro das amostras da macroalga <i>Sargassum</i> sp. mercerizada e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região de 1900 – 500 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2023.....	108
<b>Figura 30:</b> (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga <i>Padina</i> sp. branqueada e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45min), e (B) destaque da região de 1900 – 500 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2023.....	109
<b>Figura 31:</b> (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga <i>Sargassum</i> sp. branqueada e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região de 1900 – 500 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2023.....	109
<b>Figura 32:</b> (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga <i>Padina</i> sp. submetida ao tratamento combinado e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região 1900 – 500 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2023.....	110
<b>Figura 33:</b> (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga <i>Sargassum</i> sp. submetida ao tratamento combinado e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região 1900 – 500 cm <sup>-1</sup> . Fonte: Autor, 2023.....	110
<b>Figura 34:</b> Difrátogramas dos hidrolisados obtidos a partir da macroalga <i>Sargassum</i> sp. pré-tratada. Fonte: Autor, 2023. ....	111
<b>Figura 35:</b> Difrátogramas dos hidrolisados obtidos a partir da macroalga <i>Padina</i> sp. pré-tratada. Fonte: Autor, 2023. ....	112
<b>Figura 36:</b> Análise Termogravimétrica (A) Nanocristais de celulose obtidos a partir da macroalga <i>Padina</i> sp., (B) Nanocristais de celulose obtidos a partir da macroalga <i>Sargassum</i> sp. Fonte: Autor, 2023.....	114

## SUMÁRIO

PREÂMBULO.....	6
RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	9
LISTA DE TABELAS.....	11
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO.....	14
1.1.    Objetivos.....	16
1.1.1.    Geral .....	16
1.1.2.    Específicos .....	16
CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	17
2.1.    Algas Marinhas .....	17
2.1.1.    Microalgas.....	17
2.1.2.    Macroalgas.....	18
2.1.2.1.    Rhodophytas - Macroalgas vermelhas.....	23
2.1.2.2.    Chlorophyta - Macroalgas Verdes.....	25
2.1.2.3.    Phaeophyceae - Algas Marrons.....	26
2.1.2.4.    Cultivo de Macroalgas .....	31
2.2.    Celulose .....	35
2.3.    Nanocelulose.....	42
2.3.1.    Nanofibrilas de Celulose - NFC.....	44
2.3.2.    Nanocristais de Celulose - NCC.....	46
2.3.3.    Métodos de Obtenção de Nanocelulose.....	47
2.3.4.    Nanocelulose Extraída de Macroalgas.....	59
2.3.5.    Aplicações Nanocelulose .....	61
CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS .....	64
3.1.    Coleta das Macroalgas.....	64
3.2.    Preparação das Amostras.....	65
3.3.    Caracterização Química das Macroalgas.....	66
3.3.1.    Determinação do teor de extrativos.....	66
3.3.2.    Determinação do teor de cinzas.....	66

3.3.3.	Determinação do teor de umidade.....	67
3.3.4.	Determinação do teor de lignina .....	67
3.3.5.	Determinação do teor de proteína.....	68
3.3.6.	Determinação do teor de holocelulose.....	69
3.3.7.	Determinação de teor de alfacelulose .....	70
3.4.	Pré-Tratamento das Macroalgas.....	71
3.4.1.	Tratamento alcalino .....	71
3.4.2.	Branqueamento.....	72
3.4.3.	Mercerização combinada com branqueamento.....	72
3.5.	Caracterização Química da Macroalga Pré-tratada.....	73
3.6.	Caracterização das Macroalgas Pré-tratada .....	73
3.6.1.	Análise de Espectroscopia da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	73
3.6.2.	Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV).....	74
3.7.	Obtenção dos Nanocristais de Celulose.....	74
3.7.1.	Análise Estatística .....	76
3.8.	Caracterização dos Nanocristais de Celulose .....	77
3.8.1.	Análise de Espectroscopia da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	77
3.8.2.	Análise Termogravimétrica (TGA) .....	77
3.8.3.	Potencial Zeta.....	77
3.8.4.	Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS).....	77
3.8.5.	Difração de raio-X (DRX) .....	78
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....		79
4.1.	Caracterização Química da Biomassa <i>In natura</i> .....	79
4.2.	Obtenção e Caracterização da Biomassa Pré-Tratada .....	81
4.2.1.	Obtenção da biomassa pré-tratada.....	81
4.2.2.	Caracterização química da biomassa pré-tratada .....	82
4.2.3.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	84
4.2.4.	Análise de Espectroscopia da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	86
4.3.	Obtenção e Caracterização dos Nanocristais de Celulose .....	91
4.3.1.	Obtenção dos nanocristais de celulose via hidrólise ácida .....	91
4.3.2.	Caracterização dos Nanocristais de Celulose.....	103

5. CONCLUSÃO.....	116
6. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	118
7. REFERÊNCIAS .....	119

## CAPÍTULO 1:INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o avanço do processo de globalização, uma demanda crescente por práticas industriais sustentáveis, o desenvolvimento da nanotecnologia e as mudanças no comportamento da sociedade têm colaborado para a busca de novos produtos com origem renovável e com menor custo ambiental associado. Isso tem levado à busca por soluções avançadas que conciliem o crescimento econômico com a preservação ambiental, estimulando a pesquisa e o desenvolvimento de tecnologias inovadoras. Essas tecnologias fazem uso de novos materiais de origem renovável, aplicáveis em diversos setores, onde a nanotecnologia desempenha um papel importante nesse desenvolvimento (Zaki *et al.*, 2021; Mihhels *et al.*, 2023; Dias, Lacerda e Arantes, 2023).

A nanotecnologia oferece oportunidades para desenvolver materiais com propriedades aprimoradas, resultando em menor consumo de materiais e produtos mais leves e eficientes. Um material nanoestruturado que tem ganhado destaque é a nanocelulose (Squinca *et al.*, 2020; Mihhels *et al.*, 2023; Barhoum *et al.*, 2023). Derivada da celulose, um dos biopolímeros mais abundantes da terra, a nanocelulose tem um amplo potencial de aplicação em vários setores industriais, incluindo papel, química, embalagens de alimentos, aplicações farmacêuticas e inovação (Zhao *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2020; So *et al.*, 2021).

Em 2022, empresas que atuam no mercado brasileiro investiram 290 milhões de reais em pesquisa, desenvolvimento e inovação relacionados à nanocelulose (IBA, 2022). De acordo com a empresa de pesquisa de mercado Markets and Markets (2020) a estimativa é que o mercado global de nanocelulose atinja 783 milhões de dólares em 2025, um crescimento de quase 490 milhões de dólares em relação a 2020 (Floresta.pt, 2020). Diante disto, vários estudos têm sido realizados para o desenvolvimento de bioprodutos nanoestruturados, provenientes de recursos lignocelulósicos e celulósicos naturalmente disponíveis. Essa abordagem é impulsionada pelo menor custo ambiental quando comparado aos produtos sintetizados a partir do petróleo (Ramesh, Palanikumar e Reddy, 2017; Mihhels *et al.*, 2023; Dias, Lacerda e Arantes, 2023).

A nanocelulose desperta interesse devido às suas características únicas e as propriedades melhoradas em comparação com as fibrilas de celulose, como sua elevada razão de aspecto e área superficial específica. Quando combinada com outros materiais, ela aumenta a resistência à tração e rigidez, além de proporcionar leveza e benefícios

ambientais, pois é de origem renovável, reciclável e biodegradável (Chen *et al.*, 2016; So *et al.*, 2021). A celulose nanoestruturada possui alto valor agregado, podendo servir como base para os próximos nanomateriais verdes (Huang *et al.*, 2020). Além, de diversas aplicações na indústria, como a produção de adesivos, compósitos, hidrogéis, filmes e membranas, papel, farmacêutica e eletrônica (Zaki *et al.*, 2021; Bangar *et al.*, 2022).

Recentemente, vários estudos têm se concentrado na preparação de materiais celulósicos nanoestruturados a partir de biomassas com origens diversas, tais como: fibra de capim, fibra de sisal, bagaço de cana-de-açúcar e celulose de algodão (Bettaieb *et al.*, 2015; Aguiar *et al.*, 2020; Billato *et al.*, 2020; So *et al.*, 2021). Isso destaca o crescente reconhecimento das fibras vegetais como materiais de reforço (Pietak *et al.*, 2007).

A obtenção de nanocristais de celulose a partir de biomassa lignocelulósica ou celulósica pode ser realizada por meio de diversas rotas, utilizando tratamento químico, mecânico, enzimático ou pela combinação destes métodos. Contudo, um desafio comum ao processamento dessa biomassa para obtenção de nanocelulose é a remoção de alguns compostos presentes na matriz rica em celulose. A necessidade de processos de purificação pode resultar em aumento de custos e impactar o rendimento da produção de nanocelulose (Lee, Hamid e Zain, 2014; Baghel, Reddy e Singh, 2021).

Visando reduzir os custos associados à obtenção de nanocelulose, outras biomassas têm sido avaliadas como matéria-prima. Neste contexto, a biomassa de macroalgas surge como alternativa às fontes lignocelulósicas, estando facilmente disponível, apresentando crescimento rápido, não compete por terras aráveis, baixa ou nenhuma barreira físico-química natural na biomassa, eliminando a necessidade de tratamento químico agressivo para acesso a celulose (Andrade *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2016; Bettaid *et al.*, 2015; Do, Lee e Whiteside, 2020).

Diante do exposto, é importante o conhecimento sobre como o pré-tratamento influencia a purificação da biomassa das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp. e no rendimento mássico da reação de hidrólise. Além disso, é importante avaliar também o impacto das condições operacionais para hidrólise (tempo, temperatura e relação ácido:biomassa). Essas variáveis podem ter influência nas características morfológicas e de superfície, mas também podem definir possíveis aplicações para a nanocelulose, além de impactarem no rendimento mássico da reação de hidrólise ácida.

## 1.1.Objetivos

### 1.1.1. Geral

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a influência do pré-tratamento químico (alcalino, branqueamento e alcalino combinado com branqueamento) da biomassa e parâmetros operacionais (tempo e temperatura) na obtenção de nanocristais de celulose a partir das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp.

### 1.1.2. Específicos

- Realizar a caracterização dos gêneros de macroalgas coletados para analisar a viabilidade para obtenção de nanocelulose.
- Realizar a caracterização da biomassa pré-tratada para verificar a influência do pré-tratamento.
- Realizar comparação de diferentes condições operacionais para condução da reação de hidrólise da biomassa pré-tratada (tempo e temperatura).
- Avaliar a influência das condições de hidrólise ácida da biomassa pré-tratada sobre o rendimento da reação, determinando as melhores condições operacionais.
- Realizar a caracterização dos nanocristais obtidos para as melhores condições operacionais.

## CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Algas Marinhas

As algas marinhas são organismos fotossintéticos que podem ser encontrados tanto na forma de organismos microscópicos unicelulares, conhecidos como microalgas, quanto como organismos multicelulares macroscópicos, chamados de macroalgas. Eles podem ser encontrados em uma variedade de habitats, desde crostas na superfície das rochas até regiões eufóticas (Beetul *et al.*, 2016)

As algas, sejam elas macroalgas ou microalgas, desempenham um papel fundamental como produtores primários na cadeia alimentar marinha. Além disso, apresentam um potencial promissor como fontes de bioprodutos e biocombustíveis, também podendo ser utilizadas como alimento funcional elevando o valor nutricional dos alimentos (Borowitzka, 2013; Simas-Rodrigues *et al.*, 2015).

#### 2.1.1. Microalgas

As microalgas são microrganismos fotossintéticos, capazes de converter água e dióxido de carbono com o auxílio da luz solar em bioprodutos de interesse econômico, com velocidade de síntese superior as plantas terrestres (Andrade e Costa, 2008; Brennan e Owende, 2008; Honda *et al.*, 2012; Shuba e Kifle, 2018). Sua biomassa possui composição bioquímica variada em função da espécie cultivada e de fatores ambientais, tais como: meio e condições operacionais de cultivo (Zamalloa *et al.*, 2011; Beer *et al.*, 2009). No geral é rica em lipídeos, proteínas e carboidratos, podendo ser utilizada na produção de biocombustíveis, suplementação alimentar e obtenção de outros produtos de interesse econômico (Wang *et al.*, 2012).

As microalgas apresentam uma elevada taxa de crescimento, sua produtividade em termos de produção de biocombustíveis é da ordem de  $9,3\text{L}\cdot\text{m}^{-2}$  por ano enquanto outros tipos de cultura como a do milho apresenta rendimento em biocombustíveis da ordem de  $0,06\text{L}\cdot\text{m}^{-2}$  por ano, demonstrando assim que esse tipo de biomassa requer uma área menor para uma maior produtividade (Ullah *et al.*, 2014).

A composição da biomassa é influenciada pela disponibilidade de nutrientes, podendo ser ajustada conforme os bioprodutos de interesse, além das condições de

extração e bioconversão. Essa manipulação permite otimizar a produção de bioprodutos específicos, melhorando a eficiência dos processos de extração e conversão biológica (Zanchetta *et al.*, 2021). A utilização de microalgas para produção de bioprodutos está diretamente ligada a capacidade destes microrganismos produzirem e armazenarem macromoléculas (Silva e Bertucco, 2016; Magroet *al.*, 2016). Os carboidratos mais abundantes nas microalgas são: amido (composto por amilose amilopectina) compõe a parede celular e funciona como reserva de energia e a celulose (polímero de glicose) com função estrutural, compondo da parede celular (Chenet *al.*, 2013; Onay, 2019).

Um aspecto importante para viabilidade deste processo é o sistema de cultivo, tipo de biorreator, que deve atender as necessidades da espécie de microalga escolhida podendo apresentar características adequadas, tais como: distribuição da intensidade da luz uniforme, taxa de liberação de oxigênio e controle de agitação. Estes biorreatores podem ser do tipo abertos ou fechados. Os abertos são os mais tradicionais, utilizados desde a década de 50 (Borowitzka, 1999; Brennan e Owende, 2010), apresentam como maiores vantagens baixo custo de instalação e manutenção e como desvantagem restrição de controle dos parâmetros operacionais, maior possibilidade contaminação e baixa produtividade volumétrica. Os sistemas abertos podem ser de águas naturais ou artificiais, devendo ter controle da agitação e profundidade (20 e 50 cm) deve ser dimensionada de modo a garantir o fluxo adequado de energia luminosa para que ocorra o crescimento uniforme da biomassa, não apenas na camada mais superficial (Terry e Raymond, 1985).

### 2.1.2. Macroalgas

As macroalgas, também conhecidas como algas marinhas, utilizam dióxido de carbono, luz e nutrientes para seu desenvolvimento e manutenção de suas estruturas, são essenciais para continuidade da vida de diversas outras espécies marinhas, pois funcionam como base da cadeia alimentar e abrigo (Ariede *et al.*, 2017; Zemah-Shamir *et al.*, 2021; Pardilhó *et al.*, 2022; Korobushkin *et al.*, 2023). São consideradas talófitas, apresentam estrutura simples não vascularizada sem a presença de raízes, caules e folhas, são semelhantes às plantas superiores na composição dos carboidratos de reserva, proteínas e pigmentos fotossintetizantes (Lee, 2012; Aliyu, Lee e Harvey, 2021; Pereira, 2021).

As algas marinhas apresentam altas taxas de crescimento, seu processo fotossintético possui eficiência da ordem de 4 vezes superior as plantas terrestres que possuem eficiência entre 1,8 – 2,2% (Fernand *et al.*, 2017), elevado rendimento em biomassa, não necessita de terras aráveis, baixo consumo de água (quando comparado as plantas superiores), baixo teor de estruturas de lignina, (Del Río *et al.*, 2019; Gomes-Dias *et al.*, 2020; Del Río *et al.*, 2021), elevada concentração de carboidratos (mono e polissacarídeos) entre outras características que as tornam uma matéria-prima com potencial para produção e desenvolvimento de vários bioprodutos de alto valor agregado (Lordan, Ros e Stanton, 2011; Wei, Quarterman e Jin, 2013; Roldán *et al.*, 2017; Parsons *et al.*, 2019; Urrea-Victoria *et al.*, 2022). E em decorrência disto ao longo dos últimos anos tem sido objeto de diferentes estudos para estruturação de processos que viabilizem sua obtenção e emprego (Roldán *et al.*, 2017; Parsons *et al.*, 2019; Pardilhó *et al.*, 2023; Binhweel *et al.*, 2023).

Dentre os compostos oriundos das macroalgas com potencial comercial temos moléculas com propriedades antioxidantes (Raymundo, Horta e Fett, 2004; Kumar *et al.*, 2020), compostos bioativos que têm aplicação no tratamento de diversas patologias (Zhao *et al.*, 2018; Abdelrheem *et al.*, 2021). Também podem ser utilizadas para o desenvolvimento de embalagens ativas para a indústria de alimentos (Singh, Gaikwad e Lee, 2018; Oliveira *et al.*, 2019). Além disso, é fonte de proteína, gelificantes e estabilizante (Gajaria *et al.*, 2017; Perumal *et al.*, 2022) e seus altos teores de carboidratos possibilita sua utilização como matéria-prima na produção de biocombustíveis, como destacado por Del-río *et al.* (2019) e Sudhakar *et al.* (2019).

Outras aplicações incluem o uso das macroalgas como matéria-prima para obtenção de materiais nanoestruturados (Chen *et al.*, 2016; Doh, Lee e Whiteside, 2020; Zaki *et al.*, 2021). Atualmente cerca 250 espécies de macroalgas são exploradas comercialmente em todo mundo com o objetivo de produzir principalmente gelificante, carboidratos e proteínas, demonstrando o potencial de crescimento para os produtos das macroalgas (Chen *et al.*, 2016; Baghel, Reddy e Singh, 2021; Pradhan *et al.*, 2022).

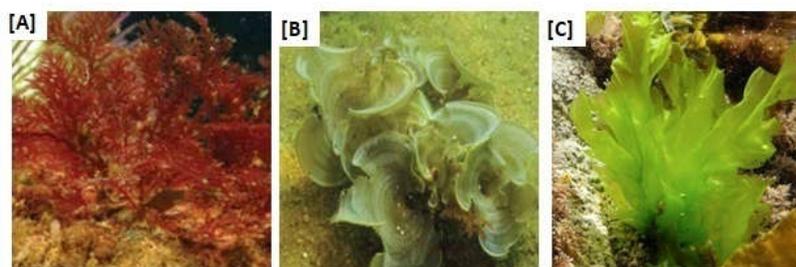
A ampliação dos estudos deste tipo de biomassa, denominada biomassa de terceira geração, e a crescente demanda por soluções sustentáveis despertaram o interesse para a busca de outras aplicações dos seus derivados de celulose (Chen *et al.*, 2016; Doh, Lee e Whiteside, 2020). As macroalgas apresentam composição química variável de acordo com a espécie, maturação e as condições de cultivo, no entanto a celulose está presente na composição química de todas elas (Sudhakar *et al.*, 2019; Doh, Lee e Whiteside,

2020; So *et al.*, 2021). Além disso, apresenta pouca ou nenhuma lignina em sua cadeia de celulose ampliando suas possibilidades de aplicações (Halib *et al.*, 2017; So *et al.*, 2021). A tabela 1 apresenta algumas macroalgas utilizadas para obtenção de bioproduto.

**Tabela 1:** Macroalgas utilizadas como matéria-prima na obtenção de bioprodutos.

<b>Macroalga</b>	<b>Bioproduto</b>	<b>Rota utilizada</b>	<b>Referência</b>
<i>Sargassum muticum</i>	Bioetanol	Tratamento hidrotérmico por micro-ondas.	del Río <i>et al.</i> , 2021
Alga vermelha	Nanocristal de celulose	Hidrólise ácida	Singh, Gaikwad e Lee, 2018
<i>Gelidium sesquipedale</i>	Gelificante (Agar-based)	Aquecimento combinado com tratamento ultrassônico.	Oliveira <i>et al.</i> , 2019
<i>Ulva lactuca</i>	Proteína, lipídio e celulose	Aquecimento combinado com tratamento alcalino, extração com solvente e hidrólise ácida.	Gajaria <i>et al.</i> , 2017
<i>Gelidium elegans</i>	Nanocristal de celulose	Hidrólise ácida	Chen <i>et al.</i> , 2016

Usualmente as macroalgas são classificadas de acordo com sua pigmentação dominante em: algas marrons (Phaeophyceae), algas verdes (Chlorophyceae) e algas vermelhas (Rhodophyceae) (Chen *et al.*, 2015; Goh e Lee, 2010; Lordan, Ros e Stanton, 2011; Barbot, Al-Ghaili e Benz, 2016), representantes de cada uma das classes pode ser visto na figura 1.



**Figura 1:** Classificação das macroalgas: [A] Alga vermelha; [B] Alga marrom; [C] Alga verde. **Fonte:** Adaptado de Central Nuclear Almirante Alvaro Alberto, 2015.

As macroalgas apresentam um número diverso de espécies adaptadas a diferentes habitats e condições ambientais (Makkar *et al.*, 2016). Sendo compostas principalmente por água, carboidratos, proteínas lipídios e cinzas, podendo sua composição centesimal variar de acordo com a espécie e época da colheita (Makkar *et al.*, 2016; Andrade *et al.*, 2020). Podem ser encontradas ao longo de toda a costa Brasileira, região tropical, região de transição e região quente e temperada (Schmitz *et al.*, 2018; Caldeira e Reis, 2019).

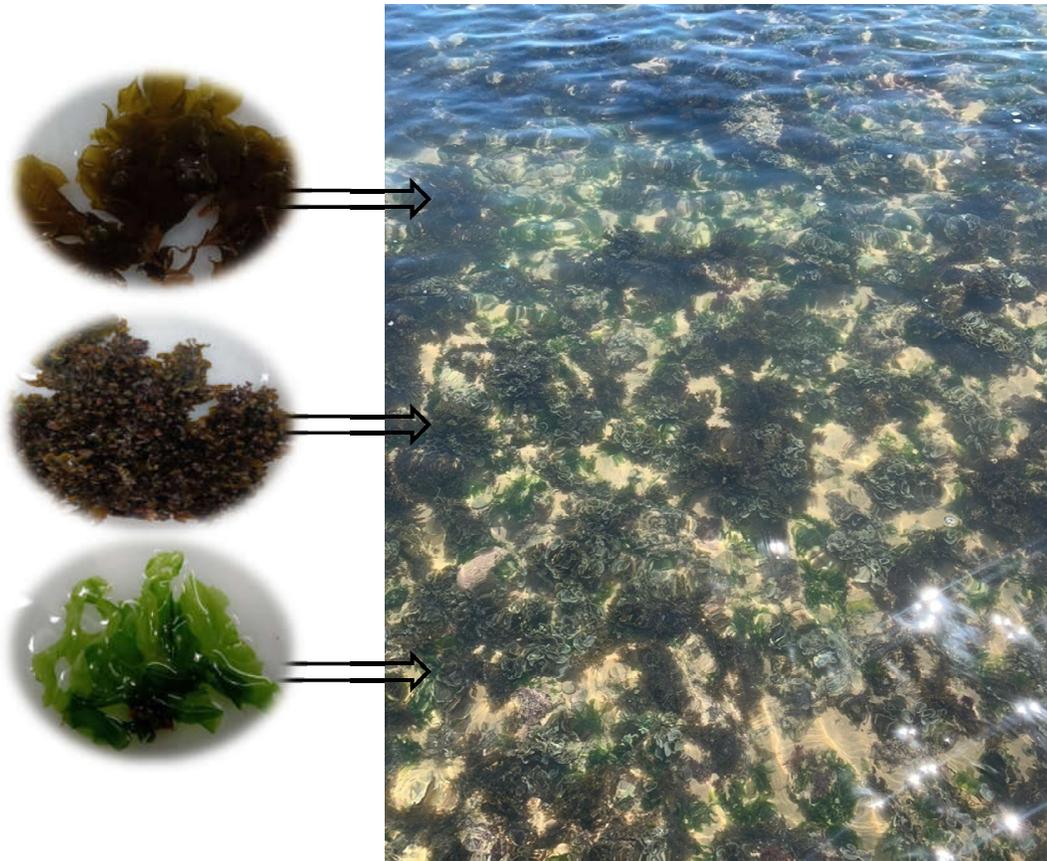
Sua composição varia entre as espécies, região de desenvolvimento e época da colheita, mas de modo geral são organismos ricos em água, podendo chegar a 85% (Badmus, Taggart e Boyd, 2019) os outros aproximadamente 15% são matéria orgânica e mineral, sua composição em base seca é: lipídios totais (0,5 - 3,5%), proteínas (3,0 – 50,0%), carboidratos (21,0 – 61,0%) e minerais (12,0 – 46,0%) (Beetul *et al.*, 2015; Baghel, Reddy e Singh, 2021). A tabela 2 apresenta a composição química média das macroalgas de acordo com sua classificação.

**Tabela 2:** Composição química média das macroalgas.

	Alga Marrom	Alga Vermelha	Alga Verde	Referência
Carboidratos (%)	30 – 50	30 – 60	25 – 50	Jung <i>et al.</i> , 2013
Proteínas (%)	10 – 15	6 – 15	10 – 20	Ramachandra e Hebbale, 2020
Lipídios (%)	1 – 2	0,5 – 1,5	1 – 3	Ramachandra e Hebbale, 2020
Cinzas (%)	14 – 28	5 – 15	13 – 22	Ramachandra e Hebbale, 2020

Dentre as mais de 800 espécies identificadas na costa brasileira 62% são Rhodophyceae, 25% pertencem à classe Chlorophyceae e 13% são Phaeophyceae, vale ressaltar que esses números podem ser bem diferentes, pois ainda existem áreas inexploradas e que não foram inventariadas, por falta de dados taxonômicos para vários grupos de macroalgas. No entanto mesmo com toda essa diversidade no Brasil são poucas as espécies exploradas comercialmente, as exploradas comercialmente são principalmente dos gêneros *Gracilaria*, *Gracilaropsis* e *Hypnea* (Marinho-Solano, 2017) e mais recentemente no sul do país o gênero *Kappaphycus* (Andrade *et al.*, 2020; Santos e Hayashi, 2022)

O litoral nordestino é uma das regiões brasileiras com o ecossistema marinho mais diversificado, apresentando parâmetros ambientais praticamente constantes ao longo das várias estações do ano. Essa diversidade é também favorecida pela presença de recifes de arenito e coralíneas, além de regiões de estuários e manguezais que permitem a manutenção da vida de várias espécies marinhas, entre eles as macroalgas (Marinho-Soriano, 2017; Andrade *et al.*, 2020). As macroalgas são beneficiadas pelas condições da temperatura, salinidade e intensidade luminosa encontradas no litoral nordestino, além da presença de substrato rígido formado predominantemente por arrecifes de arenito (Marinho-Soriano, 2017). A figura 2 mostra a parte da diversidade de espécies de macroalgas na região.



**Figura 2:** Diversidade de espécies de macroalgas presente no litoral nordestino. **Fonte:** Autor, 2021.

#### 2.1.2.1. Rhodophytas - Macroalgas vermelhas

As macroalgas vermelhas são plantas não vasculares, não possuem flagelos e apresentam diversas formas e tamanhos (Kumar, Tarafdar e Badgujar, 2021). Um aspecto notável das macroalgas vermelhas é a presença de ficocolóides (principalmente ágar e carragenana) nas paredes celulares, que atuam como uma barreira de proteção contra os efeitos das ondulações do mar e dessecação durante os períodos de maré baixa, contribuindo para a sobrevivência em ambientes costeiros adversos (Bukhari *et al.*, 2023).

As algas vermelhas são quase exclusivamente pluricelulares e marinhas, são espécies amplamente distribuídas pelo mundo, presente nos mais diversos habitats, mas é predominante no continente Asiático (Afonso *et al.*, 2021; Pei *et al.*, 2021). Elas

contêm clorofila *a* e como pigmentos fotossintetizantes, além de pigmentos acessórios, como carotenoides e as ficobilinas, que desempenham um papel fundamental ao ampliar a faixa de absorção de luz. Isso permite que elas se desenvolvam e sobrevivam em ambientes com menos incidência de luz (Gamal, 2010; Makkar *et al.*, 2016; Bukhari *et al.*, 2023), essa classe possui mais de 8000 espécies conhecidas (Gamal, 2010).

A parede celular das Rhodophytas, semelhante às outras classes de macroalgas, é principalmente composta por celulose, disposta em uma matriz amorfa e mucilaginosa. Essa composição confere às macroalgas flexibilidade, resistência e textura as macroalgas (Kloareg *et al.*, 2021; Chevenier, Jouanneau e Ficko-Blean, 2023). Comuns em água tropicais, geralmente fixadas em rochas ou a outras macroalgas. É rica em agarose, polissarídeos presentes na parede celular que possui capacidade gelificante, muito utilizado na indústria de cosméticos e em carragenina, um polissacarídeo sulfatado também utilizado com gelificante, na indústria de embalagens e farmacêutica (Rhin, 2011; Abdul Khalil *et al.*, 2017).

As algas vermelhas vêm ganhando destaque também como fonte de metabólitos biologicamente ativos, superando outras classes de algas nesse aspecto (Gamal, 2010; Zhao *et al.*, 2018; Mandal *et al.*, 2023). Várias espécies de Rhodophyceae são exploradas comercialmente para produção de espessantes, emulsificante e ficocolóides, além de ser utilizada na indústria de tintas, têxteis e farmacêuticas (Smit, 2004; Blunt *et al.*, 2006; David, Baharulnizam e Rajabalaya, 2022; Budiyo *et al.*, 2022).

Dentre os gêneros de Rhodophytas podemos destacar as *Pyropia*, *Porphyra*, *Chondrus* e *Palmaria*, fonte de sais minerais, vitaminas, fibras e proteína, representando a maior fonte de alimentos proveniente de algas vermelhas, sendo cultivadas em larga escala no Japão, China e Coreia do Sul (Makkar *et al.*, 2016). Além de serem ricas em proteínas, já sendo utilizadas para suplementação da alimentação animal em Países como Suécia e França (Makkar *et al.*, 2016).

Em 2019, a produção global de macroalgas vermelhas atingiu 18,3 milhões de toneladas, representando 52,6% da produção total em massa de algas marinhas e 47,6% em termos de valor monetário, pouco mais de 7 bilhões de dólares americanos. E os gêneros mais cultivados incluíram *Kappaphycus*, com 11,6 milhões de toneladas, sendo cultivado em diversos continentes, Ásia, África, Oceania e América. A *Gracilaria* foi cultivada em quantidade significativa, totalizando 10,5 milhões de toneladas, principalmente nas regiões do leste e sudeste asiático. Além dessas, a *Porphyra*, conhecida como alga nori e amplamente utilizada na culinária asiática, contribuiu com 3

milhões de toneladas, sendo cultivada principalmente nas águas frias da Ásia oriental (Cai *et al.*, 2021).

#### 2.1.2.2. Chlorophyta - Macroalgas Verdes

As Chlorophytas apresentam uma coloração esverdeada devido à presença dos pigmentos fotossintéticos clorofila *a* e clorofila *b*, que em seus cloroplastos estão em concentrações mais elevada do que nas Rhodophytas e Phaeophyceae e está em proporções semelhantes às observadas nas plantas superiores (Gamal, 2010; Gupta e Abu-Ghannam, 2011), possui também os pigmentos acessórios betacaroteno e xantofilas (Kumar, Tarafdar e Badgujar, 2021).

Essas algas verdes são encontradas em diversas regiões do mundo e representam o grupo mais diversificado de algas, exibindo uma ampla variedade de formas, tamanhos e comportamentos (Bukhari *et al.*, 2023). Elas podem ser predominantemente aquáticas e são frequentemente encontradas em simbiose com fungos, protozoários de água doce, esponjas e celenterados (Raven *et al.*, 2007).

As algas verdes, principalmente as do gênero *Ulva* sp. apresentam teor de carboidrato de aproximadamente 54%, considerado alto para a produção de nanocelulose (Kim *et al.*, 2011; Zanchetta *et al.*, 2021). No entanto, é importante notar que há poucos relatos de metabólitos secundários nas algas verdes, e dentre os filos é o que apresenta uma quantidade menor de espécies catalogadas, cerca de 600 espécies (Kumar, Tarafdar e Badgujar, 2021).

As Chlorophytas são encontradas em abundância no litoral brasileiro, habitam principalmente a região do supralitoral (região que permanece coberta apenas nas marés mais altas de sizígia – marés mais altas que o normal) e mesolitoral (região que fica exposta ao ar durante a maré baixa e submersa durante a maré alta) e regiões de pouca profundidade onde ocorre a maior incidência de luz solar (Marinho – Soriano e Carneiro, 2021). Estando assim sujeitas a grandes flutuações de umidade, temperatura, salinidade, intensidade luminosa, ação dos movimentos da arrebentação. Além de variações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas decorrentes da ação das marés (Denis *et al.*, 2010; Smale *et al.*, 2016).

Os gêneros principais de algas referenciados são *Ulva*, *Codium*, *Enteromorpha*, *Chaetomorpha* e *Cladophora*, conforme destacado por Makkar *et al.* (2016). Essa classe de algas tem uma variedade de aplicações, incluindo seu uso como alimento para

animais, na produção de biofertilizantes, produtos farmacêuticos, cosméticos e no tratamento de resíduos (FAO, 2018; Caiet *et al.*, 2021).

O cultivo das macroalgas verdes ainda é consideravelmente menor em comparação com o de Rhodophytas e o de Phaeophyceae, com uma produção total de quase 17 mil toneladas em 2019, o que representa apenas 0,05% de toda a produção mundial de macroalgas. Dessas, 6,3 mil toneladas são da espécie *Monostroma nitidum*, produzida exclusivamente pela República da Coreia. Outro gênero cultivado foi o *Ulva*, também conhecida como “alface do mar”, com uma produção de 2,15 mil toneladas na África do Sul. Vale mencionar a produção das espécies *Capsosipho fulvescens* e *Codium fragile*, cultivadas pela República da Coreia, que sozinha é responsável por 77% da produção mundial de algas verdes (Cai *et al.*, 2021).

As espécies de macroalgas verdes apresentam teores interessantes de proteínas, aminoácidos, vitaminas e sais minerais (Lordan, Ross e Stanton, 2011; Mo’o *et al.*, 2020; Brain-Isasi, Carú e Lienqueo, 2021; Harsha, Madhusudan e Baskaran, 2023) e tem sido utilizadas na alimentação humana em várias partes do mundo, mas especialmente em países orientais (Bolton *et al.*, 2008; Wells *et al.*, 2017; Harsha, Madhusudan e Baskaran, 2023). Além destes, algumas espécies apresentam em sua composição celulose, hemicelulose, compostos fenólicos, terpenos e esteróis (Harnedy e Fitzgerald, 2011; Morelli *et al.*, 2019; Mo’o *et al.*, 2020).

Durante muito tempo a principal aplicação foi na indústria de alimentos, porém vários estudos têm sido realizados com o objetivo de explorar o potencial dos vários componentes destas macroalgas (Harsha, Madhusudan e Baskaran, 2023). Dentre as possíveis aplicações estão: matéria-prima para produção de bicompostíveis (Prablu *et al.*, 2020; Qarri e Israel, 2020; Binhweel *et al.*, 2023), medicina e indústria farmacêutica por apresentar em sua composição compostos de químicos com ação antioxidante e antimicrobiana (Robic *et al.*, 2009; Farasat *et al.*, 2014; Moawad *et al.*, 2022; Amim *et al.*, 2022), produção de celulose e nanocompostos de celulose (Gajaria *et al.*, 2017; Moral *et al.*, 2019; Jmel *et al.*, 2019; Wahlström *et al.*, 2020).

### 2.1.2.3. Phaeophyceae - Algas Marrons

As Phaeophyceae possuem os pigmentos fotossintetizantes clorofila *a*, clorofila *b* e pigmentos acessórios carotenos e xantofilas, sendo a fucoxantina (carotenóide) o

pigmento responsável pela cor castanha desses organismos (Pereira, 2021; Bukhari *et al.*, 2023). Sendo capazes de viver em águas com profundidade entre 30 e 50 metros, além de se adaptarem a ambientes costeiras (Song *et al.*, 2015).

Morfologicamente, as algas castanhas são compostas por uma lâmina longa, uma haste e o suporte que funciona como uma estrutura de ancoragem da alga ao substrato rígido em ambientes marinhos. São 2030 espécies classificadas como macroalgas marrons (Kumar, Tarafdar e Badgujar, 2021), nesta classe estão às maiores representantes, com algumas espécies medindo de 2 a 65 metros, como por exemplo, *Saccharina* sp. ou comumente chamada “Kelp”, enquanto outras têm tamanhos entre 30 e 60 centímetros, como por exemplo, *Sargassum* sp. (Kumar, Tarafdar e Badgujar, 2021; Bukhari *et al.*, 2023). Além disso, apresentam uma maior produtividade quando comparadas às Chlorophytas e Rhodophytas (Song *et al.*, 2015).

A parede celular das algas castanhas é formada por uma rede de polímeros que formam uma estrutura fibrosa dispersa em uma matriz amorfa, permitindo a interação com o meio ambiente (Kloareg *et al.*, 2021; Bennett, Robinson e Gomez, 2023; Chevenier, Jouanneau e Ficko-Blean, 2023). A composição química da parede celular varia entre os gêneros e espécies, com os carboidratos presentes em altas concentrações (variando entre 34 e 76% em base seca) (Deniaud-Bouët *et al.*, 2014).

As algas marrons são predominantemente marinhas, fixando-se em substrato ou flutuando (arribadas) ao longo de toda a área costeira (Shahnaz e Shameel, 2009; Andrade *et al.*, 2013; Beetul *et al.*, 2016). Elas são frequentemente encontradas em regiões de temperaturas elevadas devido às suas características morfológicas, que permitem adaptações às condições ambientais restritivas, como: exposição à radiação ultravioleta, correntes marinhas e disponibilidade limitada de luz (Sudhakar *et al.*, 2019; Zaki *et al.*, 2021).

O cultivo de macroalgas castanhas tem registrado um crescimento médio superior a 10% ao longo das décadas de 1950 até 2019, superando o crescimento de outros cultivos da aquicultura mundial. Em 2019, a produção global das algas marrons atingiu 16,46 milhões de toneladas, correspondente a 47,3% da produção mundial de algas marinhas em termos de massa, e representando 52% em termos de valores monetários (Cia *et al.*, 2021).

Mais de 90% da produção de macroalgas pardas provém dos gêneros *Lamaria/Saccharin*, com uma produção de 12,3 milhões de toneladas, e *Undaria*, com

produção de 2,6 milhões de toneladas. A maior parte desse cultivo é realizada pela China e República da Coreia (Cai *et al.*, 2021).

Ao longo dos últimos anos as biomoléculas que compõem as Phaeophyceae têm tido suas estruturas químicas, propriedades físico-químicas e atividades biológicas amplamente estudadas como fonte de compostos bioativos naturais e com o objetivo de desenvolver novos bioprodutos (Grupta e Abu-Ghannam, 2011; Imane *et al.*, 2022). Sendo muito utilizadas em produtos alimentícios (Birch, Skallerud e Paul, 2019; Rhein-Knudsen e Meyer, 2021), na suplementação dietética (Meng *et al.*, 2022; Maghawri *et al.*, 2023), como fertilizante e biofertilizante (Jumadi *et al.*, 2023; Lama-Calvente *et al.*, 2024), produtos farmacêuticos (Imane *et al.*, 2022; Hans *et al.*, 2024) , bioplástico (Cheah *et al.*, 2023; Tennakoon *et al.*, 2023), produção de biocombustível (Dias *et al.*, 2023; Farobie *et al.*, 2023), entre outros.

Um dos desafios a utilização integral dessa biomassa tão versátil é o desenvolvimento de um processo extrativo seletivo, uma vez que os extratos estão em uma mistura complexa de polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos, proteínas, pigmentos, entre outros (Balboa *et al.*, 2013; Kumar, Tarafdar e Badgujar, 2021; Hempel, Colepicolo e Zambotti-Villela, 2023).

#### 2.1.2.3.1. *Sargassum* sp.

A macroalga *Sargassum* sp. é um dos gêneros classificado como Phaeophyceae, pertencente à família das Sargassaceae. Esta alga pode ser encontrada em quase todos os oceanos, em regiões com climas temperados, subtropicais e tropicais. Apresenta estrutura foliácea ou tubulosa, com ramificações que propiciam a colonização extensiva por diversos outros organismos marinhos nas áreas que ocupam (Phillips e Blackshaw, 2011; Liu *et al.*, 2012). como pode ser visto na figura 3.



**Figura 3:** Macroalga do gênero *Sargassum* sp. coletada no litoral de Maceió – AL.  
**Fonte:** Autor, 2021.

Sua morfologia ainda apresenta vesículas esféricas ou pneumatocistos que auxiliam na flutuação, especialmente quando desprendidas do substrato, arribada, levando a formação de tapetes com quilômetros de extensão em alto mar (Liu *et al.*, 2012; Oviatt *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2022).

Das espécies do gênero *Sargassum* reconhecidas 14 ocorrem ao longo da costa brasileira, popularmente conhecida como sargaço (Coração *et al.*, 2020). A *Sargassum* sp. apresenta uma ampla variedade fenotípica atribuída as condições do meio (temperatura, presença de correntes, fauna e flora associados ao seu talo) (Coração *et al.*, 2020; Lui e Lin, 2020).

As condições do meio ambiente durante o desenvolvimento da macroalga, a época de colheita e a espécie podem promover variações no perfil bioquímico da biomassa da *Sargassum*, dados da literatura demonstram que o carboidrato é o componente mais abundante com cerca de 50% em peso seco (Liu *et al.*, 2012) e teor de lignina em torno de 15% (Flores *et al.*, 2022) o que torna atrativa a utilização dessa biomassa para obtenção de uma ampla variedade de bioprodutos.

No Brasil a *Sargassum* está amplamente distribuída, podendo ser encontrada ao longo de quase todo o litoral, sendo frequentemente encontrada em regiões ricas recifes de corais e em costões rochosos minimamente protegidos da ação direta das ondas (Széchy e Sá, 2008; Santos Filho *et al.*, 2012).

A biomassa da *Sargassum* é popularmente utilizada como fitoterápico na Ásia (Liu *et al.*, 2012; Saraswati *et al.*, 2019), como alimento e suplementação dietética

(Milledge, Nielsen e Bailey, 2016; Melchor-Martínez *et al.*, 2023), para a produção de biofertilizantes e estimuladores agrícolas (Jumadi *et al.*, 2023; Abdool-Ghany *et al.*, 2023) , biosorvente para remoção de metais pesados (Coração *et al.*, 2020), fonte de compostos bioativos (Liu *et al.*, 2012; Urrea-Victoria *et al.*, 2022), como biocombustível (Thompson, Young e Baroutian, 2021) e como fonte de ficocolóides (Molina *et al.*, 2022).

#### 2.1.2.3.2. *Padina* sp.

A macroalga *Padina* sp. está na classe das Phaeophytas e pertence à família das Dictyotaceae. Esta macroalga é comumente encontrada em águas de mares tropicais a temperados. Morfologicamente, apresenta um talo ereto ou prostrado, fixado a um suporte, com comprimento de até 20 cm, adotando uma forma de leque ou lacerada, com borda arredondada lisa, coberta por feoficocotanos, que se estende desde a base rizoidal (Rushdi *et al.*, 2021), como pode ser observado na Figura 4.



**Figura 4:** Macroalga do gênero *Padina* sp. coletada no litoral de Maceió – AL. **Fonte:** Autor, 2021.

Desenvolvendo-se em fragmentos de conchas, planícies de maré, rochas e em recifes rochosos, a maioria dos representantes está limitada à zona tropical do Brasil. No entanto, algumas espécies podem ser encontradas ao longo de toda a extensão da costa, que se estende do Rio Grande do Sul ao Maranhão, incluindo Fernando Noronha (Nunes e Paula, 2000).

A biomassa das espécies do gênero *Padina* possui várias aplicações na indústria de alimentos (Lee *et al.*, 2023; Hans *et al.*, 2024), indústria farmacêutica e cosmética (Rushdi *et al.*, 2021; Sharma e John, 2023; Hans *et al.*, 2024), remoção de metais e indicador de qualidade de corpos d'água (Nassar *et al.*; 2022; Wu *et al.*, 2023), obtenção de ficocolóides (Rhein-Knudsen *et al.*, 2017), entre outras.

#### 2.1.2.4.Cultivo de Macroalgas

A biomassa macroalgal utilizada em escala industrial pode ser obtida a partir de bancos naturais (extrativismos) ou de cultivos controlados. No entanto, o avanço suportável dessa indústria é fundamentalmente dependente dos cultivos, uma vez que os recursos naturais não são capazes de suprir a crescente demanda das últimas décadas, especialmente na produção de ficocolóides e aplicação na indústria de alimentícia (Baghel *et al.*, 2021; Jagtap e Meena, 2022; Cerca *et al.*, 2023).

De acordo com a FAO – Food and Agriculture Organization, 2022, a produção mundial de macroalgas proveniente da aquicultura em 2020 foi de 36 milhões de toneladas, correspondente a 97% de toda a macroalga processada. Esta produção representa um crescimento de 1,4% em relação a 2019, com um crescimento acumulado na última década (2010 - 2020) de 5,7%. A tabela 3 apresenta os dados de produção mundial de macroalgas via aquicultura no mundo para os anos de 2010 e 2020.

**Tabela 3:** Produção mundial de aquicultura por região e grandes produtores selecionados.

Continente e regiões com maior produção		2010	2020
		Massa expressa em mil toneladas	
<b>África</b>	<b>Percentual no mundo</b>	<b>138,3</b>	<b>104,1</b>
		<b>(0,69)</b>	<b>(0,30)</b>
Nordeste da África	Percentual na África	-	0,3
		-	(0,27)
África Subsaariana	Percentual na África	138,3	103,8
		(100,0)	(99,73)
<b>Américas</b>	<b>Percentual no mundo</b>	<b>12,9</b>	<b>25,3</b>
		<b>(0,06)</b>	<b>(0,07)</b>
Chile	Percentual nas	12,2	19,6

	Américas	(94,17)	(77,39)
Resto da América Latina e Caribe	Percentual nas Américas	0,8	5,4
	Américas	(5,83)	(21,43)
América do Norte	Percentual nas Américas	-	0,3
	Américas	-	(1,19)
<b>Ásia (Excluindo Chipre)</b>	<b>Percentual no mundo</b>	<b>20.008,2 (99,18)</b>	<b>34.916,3 (99,54)</b>
China	Percentual na Ásia	12.273,3 (61,34)	20.086,9 (59,75)
Índia	Percentual na Ásia	4,2 (0,02)	5,3 (0,02)
Indonésia	Percentual na Ásia	3.915,0 (19,57)	9.618,4 (27,55)
Vietnam	Percentual na Ásia	18,2 (0,09)	13,9 (0,04)
Resto da Ásia	Percentual na Ásia	3.797,4 (18,98)	4.415,8 (12,65)
<b>Europa (Incluindo Chipre)</b>	<b>Percentual no mundo</b>	<b>2,1 (0,01)</b>	<b>21,8 (0,06)</b>
Noruega	Percentual na Europa	-	0,3 (1,54)
União Europeia	Percentual na Europa	1,4 (70,17)	0,5 (2,38)
Resto da Europa	Percentual na Europa	0,6 (29,83)	20,9 (96,08)
<b>Oceania</b>	<b>Percentual no mundo</b>	<b>12,8 (0,06)</b>	<b>10,1 (0,03)</b>
<b>Mundo</b>		<b>20.174,3</b>	<b>35.077,6</b>

Fonte: FAO, 2022.

Os dados apresentados mostram a importância da Ásia na produção mundial de macroalgas marinhas, sendo China o maior produtor mundial, com 59,75% do total produzido em 2020, seguida da Indonésia, com 27,55% do total produzido (Tabela 3).

As espécies mais cultivadas no período de 2010 - 2020 foram *Laminaria japonica* com 12,4 milhões de toneladas (35,5% do total produzido), *Eucheuma* spp. com 8,1 milhões de toneladas (23,2% do total produzido) e *Gracilaria* spp. com 5,2 milhões de toneladas (14,8% do total produzido), todos os percentuais em base úmida. Sendo estas espécies utilizadas principalmente para obtenção de ficocolóides (FAO, 2022).

Os bioprodutos provenientes da biomassa de macroalgas podem servir como matéria-prima para vários processos industriais, tais como: fertilizantes agrícolas, excipientes de medicamentos, antioxidantes, antimicrobianos, combustível, alimentação entre outros (Cootier-Cook *et al.*, 2021; FAO, 2022; Cerca *et al.*, 2023).

Segundo dados da FAO (2022), o comércio de macroalgas aumentou significativamente, passando de 65 milhões de dólares em 1976 para atingir a marca de 1,1 bilhões de dólares em 2020. Nesse cenário, a China, Indonésia e a República da Coreia despontam como os principais exportadores, enquanto os Estados Unidos da América e o Japão se destacam como os maiores importadores.

A produção aquícola mundial tem crescido ano a ano, com o aumento gradativo da produção de macroalgas marinhas, demonstrando uma tendência em termos de sustentabilidade econômica e ecológica. A aquicultura marinha tem grande capacidade de produção de biomassa em curto espaço de tempo, e estudos indicam que seu cultivo pode desempenhar um papel importante na restauração de ambientes degradados, aumentar a biodiversidade oceânica e na atenuação dos efeitos das alterações climáticas e costeira (Cootier-Cook *et al.*, 2021; FAO, 2022).

O cultivo de macroalgas no Brasil ainda está em seus estágios iniciais de desenvolvimento. Durante muitos anos, especialmente na região Nordeste, a obtenção de biomassa de algas baseava-se na colheita em campos naturais, contribuindo para a superexploração de espécies nativas. No entanto ao longo da última década, houve uma mudança nesse cenário e métodos de cultivo vêm sendo desenvolvidos para o cultivo principalmente das macroalgas *Gracilaria birdiae* e *Kappaphycus alvarezii*. Essas espécies são muito utilizadas para a produção de ficocolóides de mais recentemente tem despertado interesse da indústria de biofertilizantes (Hayashi *et al.*, 2011; Marinho-Soriano, 2017; Andrade *et al.*, 2020) .

De acordo com os dados apresentados por Santos e Hayashi (2022), o cultivo de *Kappaphycus alvarezii* no litoral do estado de Santa Catarina obteve uma produtividade média de 58,12 ton/ha na safra 2021/2022. Produtividade obtida utilizando os sistemas

de cultivo: offshore (fixado em cordas) e integrado (algas e moluscos). A produção na região tem sido impulsionada pelo crescente interesse das algas como matéria-prima para biofertilizantes, demonstrando o potencial econômico e sustentável do setor.

O cultivo de macroalgas apresenta várias vantagens frente o método de extração nos bancos naturais, porém é necessário que as macroalgas sejam nativas da região configurando-se assim adaptadas aos fatores ambientais para o seu crescimento (Gelli *et al.*, 2020; García-Poza *et al.*, 2020). Esse crescimento é influenciado por fatores como: temperatura, radiação solar, salinidade, pH e disponibilidade de nutrientes (Rebours *et al.*, 2014; Loureiro *et al.*, 2015; Gelli *et al.*, 2020).

A aquicultura de macroalgas marinhas pode ser realizada por meio do cultivo offshore, onshore e integrado. O determinante na escolha do método de cultivo é considerar a escala de cultivo, custos operacionais, área disponível, necessidades nutricionais da espécie escolhida, impactos ambientais e possível competição da área com outros usos (García-Poza *et al.*, 2020).

A aquicultura offshore acontece diretamente na água do mar (sistema aberto), as algas são fixadas em substratos (áreas rochosas naturais) ou em estruturas artificiais (como cordas, redes ou linhas), a forma mais comum é a ancoragem de cordas, pois possui custos menores para instalação e manutenção (García-Poza *et al.*, 2020). Este tipo de cultivo apresenta como principais desvantagens a susceptibilidade das estruturas de cultivo as intempéries marinhas, dependência da disponibilidade natural de nutrientes no oceano, além da possibilidade de cultivo de espécies sem interesse comercial (Fernand *et al.*, 2017; García-Poza *et al.*, 2020).

Já o cultivo onshore de macroalgas ocorre em um sistema fechado, utilizando tanques, canais ou lagoas, nos quais a água é mantida sob agitação para garantir uma circulação adequada de nutrientes no sistema. Este método de cultivo oferece a grande vantagem de permitir a padronização das características da macroalga cultivada, uma vez que é possível ajustar as condições operacionais conforme necessário. Isso inclui a capacidade de controlar a concentração de nutrientes, intensidade luminosa, salinidade entre outros parâmetros, bem como adaptar-se a número maior de espécies e facilitar o controle de doenças e predadores (García-Poza *et al.*, 2020).

No entanto, esse método apresenta uma desvantagem significativa, que são os elevados custos associados à implantação e manutenção da estrutura necessária para o cultivo onshore. A infraestrutura pode limitar as previsões econômicas desse método em comparação com os outros sistemas de cultivo de macroalgas (García-Poza *et al.*, 2020).

No cultivo integrado, a aquicultura de macroalgas esta associada ao cultivo de diferentes organismos, como peixes, camarões, moluscos, entre outros. Essa associação tem como objetivo permitir que as macroalgas consumam os nutrientes presentes no efluente dos sistemas fechados durante seu crescimento, atuando como biofiltro. Essa prática surge da necessidade de mitigar os efeitos negativos dos sistemas intensivos de aquicultura, principalmente aqueles voltados para a produção de peixes e camarões (Knowler et al., 2020; Fraga-Corral *et al.*, 2022).

Esse modelo integrado demonstra a capacidade das macroalgas de remover nutrientes, como amônia, fosfato e dióxido de carbono, do meio, ao mesmo tempo em que estabilizam os níveis de oxigênio. Essa abordagem não apenas reduz efeitos nocivos dos efluentes da aquicultura sobre o ecossistema circundante, mas também cria um sistema sustentável capaz de atender as demandas de mercado (Knowler et al., 2020;Fraga-Corral *et al.*, 2022).

## 2.2.Celulose

A celulose, biopolímero mais abundante da terra, é o principal componente estrutural das células vegetais – representando aproximadamente 30% dos tecidos vegetais (Samir, Alloin e Dufrese, 2005; Zhu *et al.*, 2021), sendo processada por diversas indústrias química (Nasrollahzadeh *et al.*, 2020; Chang *et al.*, 2021), de papel (Liu *et al.*, 2023; He *et al.*, 2023) , têxtil (Novakovic et al., 2020; Vera *et al.*, 2023) e de materiais (Murali *et al.*, 2013; Hasanin *et al.*, 2024). É um recurso renovável, biodegradável e atóxico, podendo ser utilizado em muitos processos como substituto para os derivados de petróleo (Uyama, 2018; Murali *et al.*, 2013; Bhutiya *et al.*, 2018), a tabela 4 apresenta os dados de produção dos maiores produtores de celulose no mundo em 2021.

**Tabela 4:**Maiores produtores de celulose no mundo em 2021.

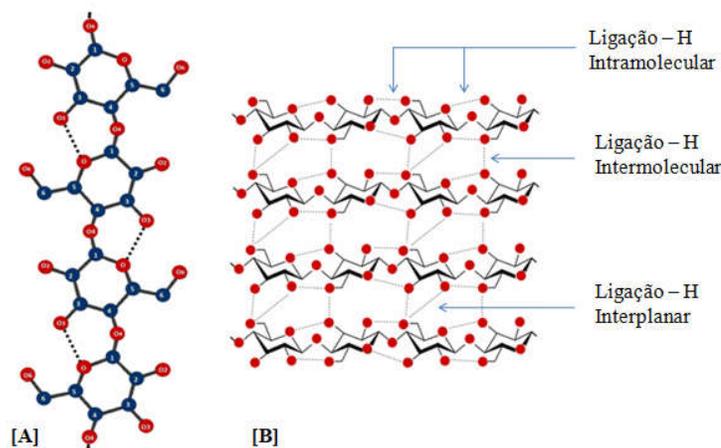
País	Produção (10 <sup>6</sup> Tonelada)
EUA	50,9
Brasil	22,5

Canadá	15,4
China	14,9
Suécia	12,0
Finlândia	10,5
Rússia	8,8
Indonésia	8,4
Japão	7,2
Chile	5,2

**Fonte:** IBÁ, 2022.

A produção de celulose em escala global está concentrada nos países listados na tabela 4. Em 2021 o Brasil se consolidou como maior exportador de celulose no mundo exportando cerca de 70% de sua produção para países como China, EUA e Itália, que estão entre os maiores importadores de celulose do mundo. Nesse mercado bilionário a produção nacional de celulose cresceu 7,4% entre os anos de 2020 e 2021, representando um acréscimo de receita de 1,7 bilhões de dólares, demonstrando a importância da celulose na economia nacional (IBÁ, 2022).

A estrutura química desta macromolécula é composta por um homopolissacarídeo semicristalino linear, formando por uma cadeia longa de D-glucopiranos e unidos por 7000 a 15000 ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas. Os grupos hidroxila e os oxigênios presentes na cadeia formam ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, formando fibrilas elementares que se unem e formam microfibrilas maiores, conferindo estabilidade e a configuração linear da cadeia (Samir, Alloin e Dufrese, 2005; Moon *et al.*, 2011). A figura 5 ilustra as ligações  $\beta$ -glicosídicas e outras interações presentes na cadeia de celulose.

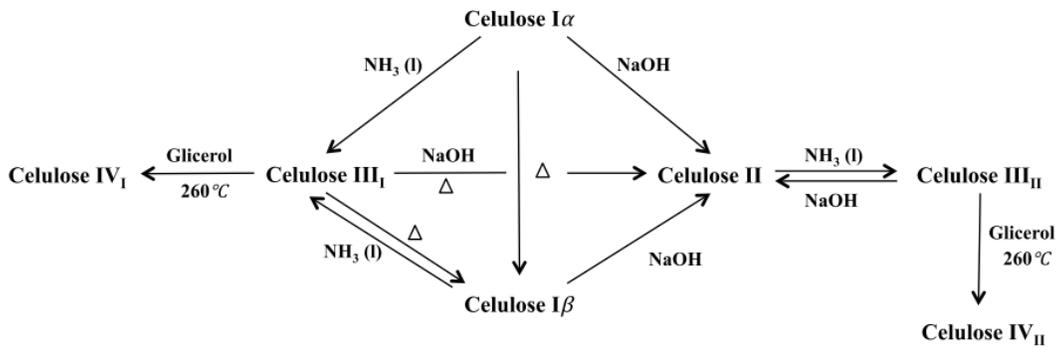


**Figura 5:** [A] Estrutura química básica da celulose mostrando as unidades de repetição; [B] Arranjo paralelo de moléculas de celulose e sua estrutura de rede estabilizada através das ligações de hidrogênio intra e intermolecular. **Fonte:** Adaptado de Janaswamy *et al.*, 2022.

As interações intra e intermoleculares entre os grupos funcionais presentes na molécula de celulose, como pode ser visto na Figura 5 – B, a tornam um polímero com boa estabilidade e conferem elevada rigidez axial as suas microfibrilas (Moon *et al.*, 2011, Janaswamy *et al.*, 2022). Contudo a celulose está envolvida em uma matriz de polímeros amorfos hemicelulose e lignina ou pectina, são responsáveis por manter unidas as microfibrilas de celulose formando uma barreira natural (Habibi, Lucia e Rojas, 2010; Moon *et al.*, 2011; Chopra, 2022) é esse conjunto que determina as propriedades físicas da matriz como flexibilidade e resistência mecânica (Zhu *et al.*, 2023).

As fibrilas de celulose podem apresentar dimensões e formas de empacotamento variáveis. Essa alteração de arranjo provoca variação na orientação das cadeias das unidades formadoras da celulose e na intensidade das ligações moleculares, resultando na formação de até quatro formas polimórfas que apresentam padrões de difração distintos, com possibilidade de conversão entre elas (Moon *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2023).

Dentre as formas de polimórfos a celulose nativa, também chamada de celulose I, é o único polimorfo produzido naturalmente pelos organismos e termodinamicamente metaestável, no entanto pode ser convertida a outro polimorfo se submetida a tratamentos químicos e/ou térmicos (Moon *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2023), processo representado na figura 6.

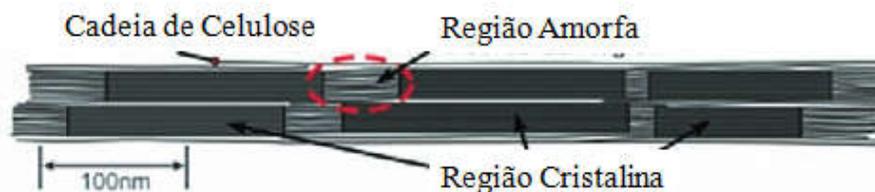


**Figura 6:** Transformação da celulose nativa em vários polímeros. **Fonte:** Adaptado de Klemm et al., 2002.

De acordo com a figura 6, os polímeros são obtidos através da dissolução da celulose I. Para a conversão em celulose II uma das possibilidades é processo de mercerização na presença de uma solução básica e sob aquecimento, resultando em uma conversão irreversível decorrente formação de um maior número de ligações de hidrogênio, a nova configuração estrutural espacial é por isso termodinamicamente mais estável (Wang *et al.*, 2023).

A celulose III pode ser obtida a partir da celulose I ou celulose II com tratamento utilizando amônia líquida. Já o processo de obtenção da celulose IV se inicia com celulose III e envolve o aquecimento a alta temperatura num líquido polar (Wang *et al.*, 2023).

A celulose é formada por microfibrilas constituídas de regiões amorfas e regiões cristalinas. Estas regiões se alternam ao longo de toda a estrutura da celulose (Zhu *et al.*, 2022), a figura 7 apresenta um esquema que apresenta a estrutura das cadeias na molécula de celulose e como estão distribuídos seus domínios (amorfo e cristalino).

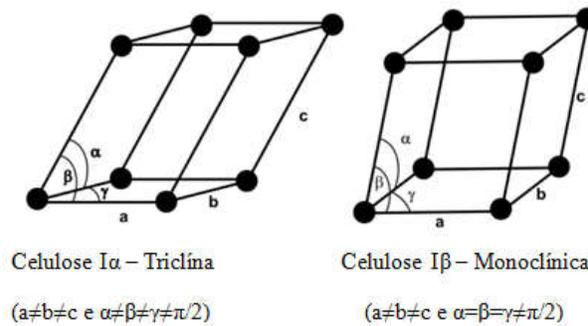


**Figura 7:** Representação gráfica das microfibrilas de celulose mostrando as regiões amorfas e cristalinas. **Fonte:** Adaptado de Moon *et al.*, 2011.

Na região cristalina da molécula de celulose as unidades formadoras dessa macromolécula estão numa conformação espacial que permite o maior empacotamento e consequentemente maior intensidade das forças atrativas. Já a região amorfa é uma

região da molécula onde ocorrem quebras e desordens nas ligações de hidrogênio, devido a distorções no arranjo das microfibrilas. Nessa região, há um menor índice de empacotamento e uma menor intensidade das forças atrativas, tornando-a mais frágil e, conseqüentemente, mais suscetível às reações de degradação. Geralmente, é a região mais propensa a ser atacada quando comparada com a região cristalina (El Bakkari *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2022).

Nas regiões cristalinas ocorre um arranjo geométrico que se repete ao longo dos principais eixos da estrutura cristalina. Na celulose nativa a estrutura cristalina pode ser apresentada de duas formas geométricas diferentes ( $I_\alpha$  – estrutura geométrica triclinica e  $I_\beta$  – estrutura geométrica monoclinica) que coexistem em proporção variável dependendo da fonte de celulose. O arranjo  $I_\alpha$  é a dominante na celulose proveniente de algas e bactérias, enquanto o arranjo  $I_\beta$  é a estrutura dominante em plantas (Nishiyama, 2009; Moon *et al.*, 2011). A figura 8 apresenta a estrutura destes arranjos.

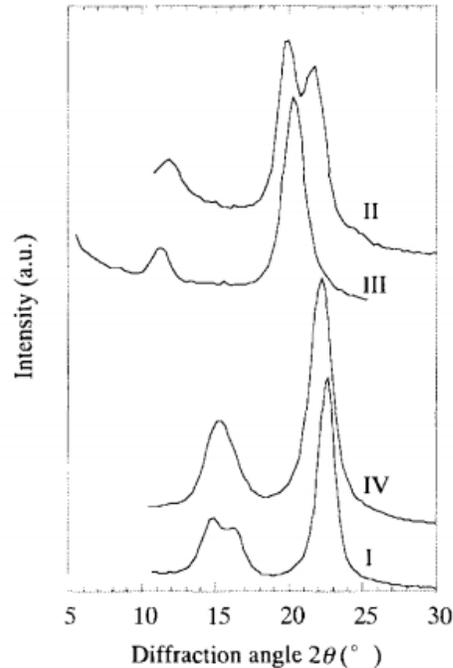


**Figura 8:** Estruturas geométricas propostas para a celulose nativa, a esquerda a estrutura triclinica  $I_\alpha$  e a direita a estrutura monoclinica  $I_\beta$ . **Fonte:** Adaptado de Moon *et al.*, 2011.

As diferenças de arranjo da cadeia de celulose,  $I_\alpha$  e  $I_\beta$ , afeta as ligações de hidrogênio, logo a estrutura cristalina da celulose pode ter suas propriedades físicas e mecânicas das fibras modificadas em função do arranjo predominante (Nishiyama, 2009; Moon *et al.*, 2011). O grau de cristalinidade da microfibrila de celulose varia de acordo com a matéria-prima de origem (Samir, Alloin e Dufresne, 2005).

Os polimorfos de celulose mais estudados incluem a celulose nativa ( $I_\alpha$  e  $I_\beta$ ), que é espontaneamente encontrada na natureza, e a celulose II, uma forma raramente presente na natureza, mas notável por sua estabilidade, excelentes propriedades e termodinamicamente mais estável quando comparada a celulose I (reação de formação

pode ser verificada na figura 6) (Gupta, Uniyal e Naithani, 2013; Martins, 2016; Mahmud *et al.*, 2019). Ishikawa, Okano e Sugiyama (1997) confirmaram a existência dessas diferentes espécies polimorfas por meio de estudos de difração de raio-X, que revelaram a ocorrência de curvas característica para cada celulose I, II, III e IV, ao analisarem as curvas de difração característica de cada um dos polimorfos perceberam alterações nos picos de maior intensidade, demonstrando mudanças na estrutura cristalina entre eles. O difratograma obtido pelos autores pode ser visto na figura 9.



**Figura 9:** Curvas de difração de raio-X para a celulose I, II, III e IV. **Fonte:** Ishikawa, Okano e Sugiyama, 1997.

Os polimorfos de celulose se diferenciam de outros biopolímeros por possuir alto grau de cristalinidade e polimerização, graças a essas características inúmeras estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de extrair a região cristalina da celulose e buscar aplicações tecnológicas para essas estruturas nanométricas de alto índice de cristalinidade (Bettaieb *et al.*, 2015; Doh, Lee e Whiteside, 2020; Huang *et al.*, 2020). A quantidade relativa de estrutura cristalina, conhecida como índice de cristalinidade, na molécula de celulose geralmente varia de 40% a 70%, dependendo principalmente da origem e do método de isolamento utilizado (Goswani *et al.*, 2023).

As características físicas e mecânicas da celulose a tornam cada vez mais promissora como matéria-prima para a fabricação de nanocompósitos, tais como fibras,

nanocristais, aerogéis, hidrogéis e filmes. Essa versatilidade se estende a diversas indústrias, incluindo as tracionais, como têxtil, farmacêutica e materiais poliméricos (Carolin C *et al.*, 2023; Heng, Weihua e Bachagha, 2023). A utilização da celulose não apenas atende às demandas desses setores, mas também contribui para o desenvolvimento sustentável do meio ambiente e social, uma vez que pode ser obtida a partir de fontes como: resíduos agroindustriais, macroalgas e resíduos lenhosos. A tabela 5 apresenta alguns trabalhos que exploram fontes alternativas para a produção de celulose e suas possíveis aplicações.

**Tabela 5:** Materiais alternativos utilizados como fonte de celulose, produtos obtidos e aplicações.

Fonte de Celulose	Material obtido	Aplicação	Referência
Macroalga <i>Gelidium amansii</i>	Microfibrila de celulose (MFC)	Cosméticos	Jang <i>et al.</i> , 2021.
Palmeira <i>Areca</i>	Nanofibrilas de celulose (NFC)	Embalagens sustentáveis	Poulose <i>et al.</i> , 2024.
Palha de arroz	Hidrogel	Agricultura	Kadry e El-Gawad, 2023.
Aguapé	Biopolímero	Remoção de corante	Santhosh <i>et al.</i> , 2024.
Banana (Casca, pseudocaule e pedúnculo)	Celulose	Potencial para produção de biocombustível	Baruah <i>et al.</i> , 2022.
Casca de arroz	Celulose	-	Hafid <i>et al.</i> , 2021.
Resíduo de tomate	Nanocristais de celulose (NCC)	Estabilização de emulsões	Moradi e Fathi, 2023.
Resíduo de pimenta ( <i>Piper nigrum</i> )	Nanocristal de celulose (NCC)	Biofilme	Holilah <i>et al.</i> , 2023.
Resíduo de chá	Aerogel	Adsorvente e armazenamento de energia	Tin <i>et al.</i> , 2023.
Palha de cana-de-açúcar	Nanocristal lignocelulósico	-	Bilatto <i>et al.</i> , 2020.

### 2.3. Nanocelulose

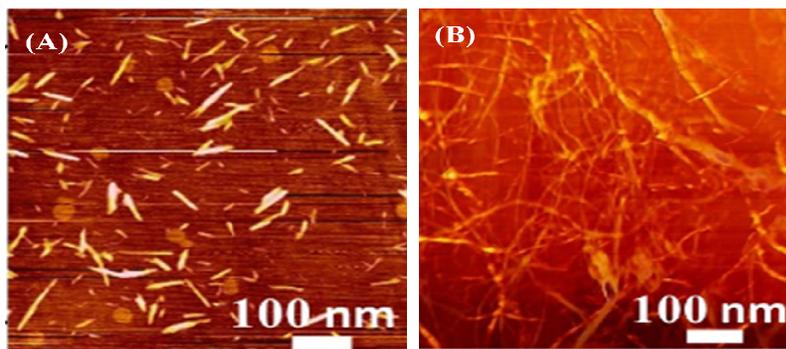
Nanocelulose é um material celulósico com regiões cristalinas e amorfas que possui ao menos uma de suas dimensões em escala nanométrica (Klemm *et al.*, 2011; Klemm *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2024). Algumas propriedades da molécula de celulose são mantidas após a redução da escala, incluindo biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade. No entanto, a nanoestrutura resultante apresenta características físicas e químicas que a tornam extremamente atrativa para a indústria. Entre essas propriedades, destacam-se a elevada relação comprimento/diâmetro (razão de aspecto), baixa densidade (aproximadamente  $1,6\text{g/cm}^3$ ), maior cristalinidade, maior área específica quando comparada à celulose (Moon *et al.*, 2011; Klemm *et al.*, 2018) e possui superfície reativa, pela presença de grupos funcionais (especialmente hidroxilas) que podem ser funcionalizados para melhoramento de várias propriedades do material (Phanthong *et al.*, 2018; Mujtaba *et al.*, 2023).

Muitos estudos têm sido publicados sobre as diversas aplicações de celulose nanoestruturada em diferentes setores. Na indústria de cosméticos, há investigações sobre seu uso clínico em afecções da pele (Jang *et al.*, 2021; Meftahi *et al.*, 2022). No campo da indústria química, a celulose nanoestruturada tem sido empregada no desenvolvimento de compósitos (Silva *et al.*, 2009; Zielinska *et al.*, 2023; Garavand *et al.*, 2023; Barhoum *et al.*, 2023). Na indústria de alimentos, destaca-se como agente estabilizante, revestimento, encapsulante e aditivo (Perumal *et al.*, 2022; Nia *et al.*, 2023; Ji e Wang, 2023; Zhang *et al.*, 2023). Além disso, há estudos voltados para sua aplicação na produção de embalagens/filmes plásticos (Salmieri *et al.*, 2014; Mostafa *et al.*, 2023; Raghav *et al.*, 2023), na biomedicina (Shojaeiarani, Bajwa e Chanda, 2021; Leong *et al.*, 2023), na indústria farmacêutica (Maurya, Mishra e Mishra, 2020; Mujtaba *et al.*, 2023), entre outras.

A nanocelulose pode ser utilizada em várias aplicações comerciais, funcionando como barreira quando aplicada em embalagens, para o desenvolvimento de materiais mais leves e resistentes, utilizada em nanocompósito, barreira para gases e biomedicina (Goswani *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2024). As diversas possibilidades de aplicação para a nanocelulose têm despertado grande interesse do mercado. Esse interesse é impulsionado pelo desempenho superior da nanocelulose em comparação com as fibras convencionalmente utilizadas pela indústria (Chen *et al.*, 2016; Klemm *et al.*, 2018). Além disso, a nanocelulose é obtida a partir de fontes renováveis, como resíduos

agroindustriais, macroalgas, resíduos de poda urbana, entre outros (Chen *et al.*, 2016; Bilatto *et al.*, 2020; Jang *et al.*, 2021).

A morfologia da celulose nanoestruturada varia de acordo com os métodos de obtenção e condições operacionais, podendo apresentar variação significativa na forma, dimensão, cristalinidade e composição estrutural. A celulose nanoestruturada pode ser classificada quanto à sua forma em dois tipos: as nanofibrilas de celulose (NFC), possuem formato de folha ou filamento, e os nanocristais de celulose (NCC), que podem apresentar forma esférica e de agulhas ou bigodes (nanowhiskers) (Moon *et al.*, 2018; Mujtaba *et al.*, 2023). A figura 10 apresenta imagens de microscopia de força atômica que ilustram algumas diferenças morfológicas entre os tipos de materiais nanoestruturados.



**Figura 10:** Morfologia dos tipos de nanocelulose obtidas: [A] Imagem obtida por Microscopia de força atômica (MFA) de NCC; [B] Imagem obtida por MFA de NFC; **Fonte:** Torabizadeh *et al.*, 2022.

As nanofibrilas de celulose (NFC) caracterizam-se por menor cristalinidade, maior flexibilidade, alta área superficial, porosidade e biocompatibilidade. Essas propriedades tornam as NFC adequadas para a produção filmes, géis, espumas, e diversos outros produtos. Por outro lado, os nanocristais de celulose (NCC) exibem elevado índice de cristalinidade e uma boa proporção entre o tamanho longitudinal e o tamanho lateral (razão de aspecto), além de possuírem propriedades mecânicas, ópticas, elétricas e térmicas notáveis. Os NCC podem ser utilizados como agente de reforço em materiais, bem como na produção de sensores e sistemas de distribuição de medicamentos (Yusuf *et al.*, 2023; Mujtaba *et al.*, 2023). A tabela 6 apresenta um comparativo entre as dimensões dos diferentes tipos de nanocelulose.

**Tabela 6:** Comparação das características dos diferentes tipos de celulose nanoestruturadas.

Tipo de Nanocelulose	Comprimento	Diâmetro	Grau de polimerização	Estrutura cristalina
Nanofibras de celulose (NFC)	0,1 – 2 $\mu\text{m}$	5 – 60 nm	$\geq 500$	Menor grau de cristalinidade
Nanocristais de celulose (NCC)	100 – 250 nm	5 – 70 nm	500 - 15000	Médio grau de cristalinidade

**Fonte:** Adaptado de Klemm *et al.*, 2018.

Os processos para obtenção de nanocelulose a partir de materiais celulósicos ou lignocelulósicos seguem geralmente a abordagem top-down, o que significa que começam de estruturas maiores, como fibrilas de celulose, para então produzir nanofibrilas e os nanocristais de celulose. Os métodos top-down incluem hidrólise enzimática e química (usando principalmente ácidos fortes, como ácido sulfúrico e clorídrico), utilização de líquidos iônicos, tratamentos térmicos e mecânico. Esses métodos visam reduzir as dimensões das fibrilas de celulose para a escala nanométrica, permitindo a produção de nanocelulose com propriedades versáteis (Ji *et al.*, 2023; Barhoum *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2024).

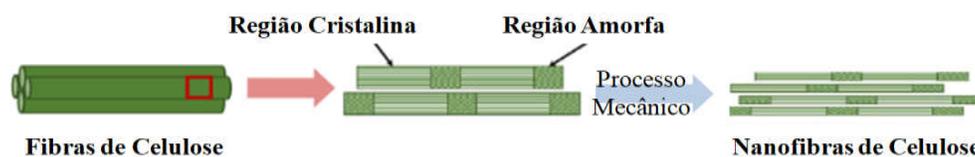
### 2.3.1. Nanofibrilas de Celulose - NFC

As nanofibras de celulose, também conhecidas como nanofibrilas de celulose, são finas e alongadas, apresentando diâmetro em escala nanométrica e comprimento variando de nano para micrômetro (Klemm *et al.*, 2018; Carolin C *et al.*, 2023). Sua estrutura filamentosa inclui um maior número de regiões amorfas, conferindo-lhes maior flexibilidade e um índice de cristalinidade reduzido, quando comparado aos nanocristais de celulose (Klemm *et al.*, 2018; Phanthong *et al.*, 2023).

As nanofibrilas de celulose (NFC) podem ser obtidas a partir de fontes renováveis, sejam elas celulósicas ou lignocelulósicas, o que pode resultar impurezas como pectina, hemicelulose, lignina e outros, provenientes da biomassa de origem (Acvioglu, 2022). No entanto, independente do material precursor, essas nanofibrilas

apresentam características como uma grande área superficial, elevada relação de aspecto, facilidade para funcionalização, boa resistência mecânica e elevada porosidade (Mokhena *et al.*, 2021; Torabizadeh *et al.*, 2022; Riseh *et al.*, 2023).

A extração das nanofibrilas de celulose geralmente ocorre por meio de métodos de desintegração mecânica que demandam fortes forças de cisalhamento, eliminando a necessidade de pré-tratamento das fibras de celulose. Contudo, devido ao elevado custo de energético associado a esses métodos (Phanthong *et al.*, 2018; Goswani *et al.*, 2023), com consumo energético variando entre 1550 e 21000 KWh/ton (Huang *et al.*, 2019), embora o consumo energético seja função das características da biomassa (Chen *et al.*, 2023), estudos estão sendo conduzidos para explorar técnicas de extração mecânica combinadas a outros métodos. Estes incluem a utilização de enzimas, funcionalização química, métodos oxidativos e cationização. Essas abordagens combinadas buscam otimizar o processo de extração, visando à redução de custos e a eficiência aprimorada na produção das NFC (Phanthong *et al.*, 2018; Goswani *et al.*, 2023). A figura 11 apresenta um esquema do processo de extração de nanofibras de utilizando desintegração mecânica.



**Figura 11:** Representação esquemática da extração de nanofibras de celulose via desintegração mecânica. **Fonte:** Adpatado de Phanthong *et al.*, 2023.

As NFC, por serem um material nanométrico, apresentam elevada área superficial e capacidade de formar ligações de hidrogênio. O número de ligações de hidrogênio disponíveis para interação entre as fibrilas é um fator determinante na resistência do material nanoestruturado, possibilitando a criação de uma rede densa e resistente à tração. Essas características tornam as nanofibrilas de celulose excelente para diversas aplicações industriais (Mokhena *et al.*, 2021; Riseh *et al.*, 2023).

Essas propriedades tornam as nanofibrilas de celulose substitutas atrativas para os derivados de petróleo na fabricação de embalagens e polímeros (Riseh *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2023). Seu uso agricultura também oferece vantagens para o gerenciamento de fertilizantes (França *et al.*, 2022; Riseh *et al.*, 2023). Além disso, diversas indústrias

exploram as NFC para aprimorar as propriedades físicas e mecânicas de vários produtos e compósitos (Noguchi *et al.*, 2023; Maroufi *et al.*, 2023).

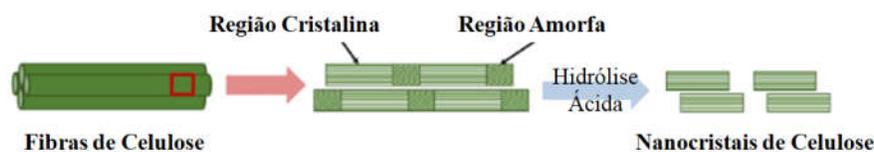
### 2.3.2. Nanocristais de Celulose - NCC

Os nanocristais de celulose, também conhecidos como nanowhiskers, são obtidos a partir da remoção de regiões amorfas da molécula de celulose (Jang *et al.*, 2021; Mujtaba *et al.*, 2023). Esse processo aumenta o volume de regiões cristalinas e confere a esse material uma estrutura mais rígida. Os nanocristais têm um formato cilíndrico que se assemelha a agulhas ou hastes, com diâmetro e comprimento variáveis (Klemm *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2020; So *et al.*, 2021; Mujtaba *et al.*, 2023).

A morfologia, o índice de cristalinidade e o tamanho dos nanocristais de celulose são influenciados pela biomassa de origem da celulose, pela técnica de obtenção e pelas condições operacionais aplicadas (Moon *et al.*, 2011; Shojaeiarani, Bajwa e Chanda, 2021). No entanto, algumas propriedades comuns incluem elevada resistência mecânica, estrutura altamente cristalina o que afeta a estabilidade térmica devido às ligações de hidrogênio inter-cadeias nas regiões cristalinas. Além disso, os NCC possuem elevada relação de aspecto, geralmente com uma proporção de comprimento para o diâmetro por volta de 70, uma grande área superficial, aproximadamente  $150\text{m}^2/\text{g}$  (Moon *et al.*, 2011; Mohan *et al.*, 2012; Klemm *et al.*, 2018; Goswami *et al.*, 2023), além da presença de hidroxilas em sua superfície, o que torna os nanocristais naturalmente hidrofílicos, possibilitando alterações químicas por métodos covalentes ou não covalentes. Essas características fazem dos nanocristais de celulose um material atraente para diversas aplicações industriais (Lu *et al.*, 2021; Mujtaba *et al.*, 2023).

A matéria-prima celulósica ou lignocelulósica utilizada para produção de nanocristais de celulose, normalmente está associada a outros biopolímeros que podem dificultar o acesso as regiões amorfas, sendo então necessária a realização de pré-tratamento para a retirada de materiais como extrativos, hemicelulose, lignina e outras impurezas (Chen *et al.*, 2016; Jang *et al.*, 2020; Bilatto *et al.*, 2021; Perumal *et al.*, 2022). O pré-tratamento em geral consiste no processo de extração de ceras e gorduras com solventes orgânicos, tratamento alcalino e branqueamento com o objetivo de remover a hemicelulose, lignina e outras moléculas presentes na matriz (Chen *et al.*, 2016; Carolin C *et al.*, 2023).

A obtenção de NCC pode ocorrer por meio de um processo único ou pela combinação de diferentes técnicas, aplicadas com objetivos de elevar a reatividade das fibrilas, e conseqüentemente o rendimento em nanocelulose, além reduzir os custos operacionais (Maurya, Mishra e Mishra, 2020). Os principais métodos para extração são: hidrólise enzimática, hidrólise ácida, processos oxidativos, dissolução com líquidos iônicos, fluidização, homogeneização de alta pressão e método ultrassônico (Chen *et al.*, 2016; Doh, Lee e Whiteside, 2020; Aryasena, Kusmono e Umami, 2022). Durante esses processos, a quebra da molécula de celulose ocorre por meio do rompimento da região amorfa, mais acessíveis, são mais rapidamente atacadas quando comparada a região cristalina. A figura 12 ilustra o processo de extração de celulose nanocristalina via hidrólise ácida.



**Figura 12:** Representação esquemática da hidrólise ácida atuando sobre a cadeia de celulose, o ácido forte solubilizando a região amorfa da estrutura liberando os nanocristais de celulose. **Fonte:**Adpatado de Phanthonget *al.*, 2023.

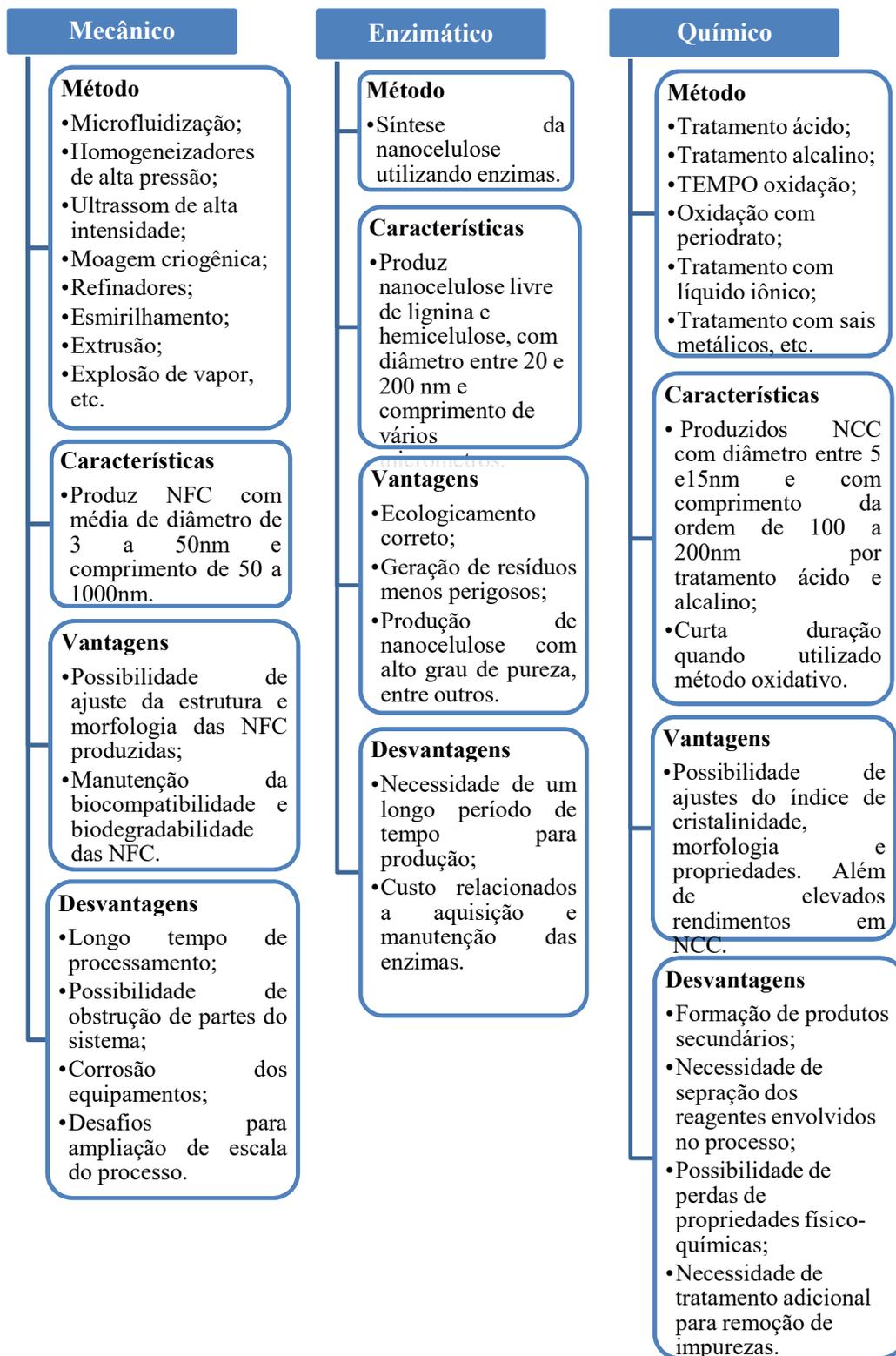
No processo de síntese de NCC, o controle de variáveis como tempo e temperatura desempenha um papel crucial da determinação do tamanho e índice de cristalinidade das estruturas obtidas. O índice de cristalinidade e a regularidade da estrutura são fatores importantes que influenciam nas propriedades do nanocristais de celulose obtidos e sua aplicabilidade em diferentes campos (Carolin C *et al.*, 2023).

### 2.3.3. Métodos de Obtenção de Nanocelulose

A obtenção da nanocelulose a partir de fibras ricas em celulose acontece em duas fases distintas. Na primeira, também chamada de pré-tratamento, ocorre a remoção de ceras, parte da lignina e hemicelulose. Em seguida, no branqueamento, há a remoção completa desses componentes, resultando no aumento da porosidade e a área superficial. Dessa forma, apenas a celulose fica exposta e homogeneizada, assegurando um desempenho mais consistente nos processos subsequentes. O tipo de pré-tratamento aplicado varia de acordo com a natureza da fonte de celulose e do tipo específico de

nanocelulose desejado (Moon *et al.*, 2011; Phanthong *et al.*, 2018; Goswani *et al.*, 2023; Yusuf *et al.*, 2023).

Na segunda etapa, ocorre o processo de dissolução das regiões amorfas e o subsequente isolamento dos domínios cristalinos da celulose. Geralmente, esse processo é realizado por meio de processos mecânicos, enzimáticos e químicos (Moon *et al.*, 2011; Phanthong *et al.*, 2018; Goswani *et al.*, 2023). A figura 13 apresenta um resumo das diferentes abordagens que podem ser utilizadas para síntese de nanocelulose.



**Figura 13:** Resumo dos métodos de síntese da nanocelulose com suas principais características, vantagens e desvantagens. **Fonte:** Adaptado de Ji *et al.*, 2023.

As abordagens mecânicas são comumente utilizadas para extração de nanofibrilas de celulose, sendo que na maioria dos sistemas, a força de cisalhamento é empregada para reduzir diâmetro e comprimento das fibras para escala nanométrica (Ji *et al.*, 2023).

Dentre os métodos de possíveis para a obtenção de nanocristais de celulose, alguns estão mais consolidados, como o uso da hidrólise ácida com ácido sulfúrico para extrair nanocristais de celulose com elevados rendimentos, cristais com boas características morfológicas e bom grau de dispersão do material devido à esterificação dos grupos funcionais hidroxila pelos íons sulfato (Singh *et al.*, 2017; Kusmono *et al.*, 2020; Leong *et al.*, 2022).

Outro método de obtenção que tem sido estudado frequentemente, visando melhorar sua eficiência e aproveitando as características morfológicas da nanocelulose produzida, é o método enzimático. Com essa abordagem, é possível obter nanocristais de celulose com elevado grau de pureza e com características morfológicas variáveis, especialmente quando combinado com métodos mecânicos (Ren, Chen e Shen, 2022; Goswani *et al.*, 2023; Yupanqui-Mendoza *et al.*, 2023; Zhang, Chen e Su, 2023).

#### 2.3.3.1. Pré-Tratamento

A etapa de pré-tratamento da biomassa é necessária para elevar a eficiência do processo de obtenção de materiais nanoestruturados, pois facilita o acesso às regiões cristalinas. Isso ocorre por meio do rompimento das ligações de hidrogênio e remoções de alguns componentes que estão ligados a macromoléculas. Esses componentes, lignina, hemicelulose, proteínas, entre outros, variam em função da composição da parede celular da biomassa utilizada. Durante esta etapa, ocorre a modificação dessas estruturas, levando à alterações conformacionais e ao aumento da área superficial (Velásquez-Cock *et al.*, 2016; Yusuf *et al.*, 2023; Yupanqui-Mendoza *et al.*, 2023).

Os pré-tratamentos geralmente realizados têm como objetivo a separação da fibras e remoção de todos os elementos da matriz, elevando assim o grau de disponibilidade das fibras de celulose da biomassa (Yusuf *et al.*, 2023).

Uma das alternativas para aumentar a concentração de celulose é o tratamento alcalino, também chamado de mercerização, durante esse processo a biomassa é submetida a aquecimento com um agente alcalino, promovendo a quebra das ligações de hidrogênio internas, resultando no inchamento das fibras de celulose. Esse

inchamento das fibras é fundamental, pois facilita as etapas subsequentes do processo de extração da cellulose (Chen et al., 2016; Noremylia, Hassan e Ismail, 2022).

Geralmente, o tratamento alcalino é seguido do processo de branqueamento, onde um agente oxidante é empregado para remoção da lignina e hemicelulose. Esse processo pode ocorrer em uma ou várias etapas, resultando em uma celulose altamente purificada com baixos ou nenhum teor de lignina e hemicelulose (Chen *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2023).

#### 2.3.3.2. Métodos Mecânicos

A obtenção de nanocelulose por meio de processos mecânicos envolve a aplicação de força cisalhante transversalmente ao longo do eixo longitudinal da fibra, promovendo a clivagem das fibrilas de celulose. Esse processo pode ser repetido diversas vezes até que a nanocelulose alcance as dimensões desejadas. No entanto, este método apresenta algumas desvantagens do método, como a heterogeneidade das dimensões das nanoestruturas e possíveis danos à estrutura cristalina. Entre os métodos mais empregados para esse fim estão a homogeneização de alta pressão, esmerilhamento, ultrasonificação e moedores (Moon *et al.*, 2011; Baheti *et al.*, 2014; Ji *et al.*, 2023).

O tratamento mecânico mantém biocompatibilidade e biodegradabilidade das fibras de cellulose. Contudo, as propriedades do material nanoestruturado podem sofrer alterações morfológicas, com implicações em suas características físico-químicas (Goswani *et al.*, 2023; Ji *et al.*, 2023).

A moagem utilizando um moinho microfibrilador é um dos métodos mecânicos mais comuns para obtenção de nanocelulose. Nesse equipamento, uma força cisalhante é aplicada sobre as fibras de cellulose localizadas entre os discos do moinho, que possuem uma distância ajustável. Um dos discos permanece estático enquanto o outro rotaciona, com o objetivo de romper as ligações de hidrogênio e a estrutura da parede celular (Velásquez-Cock *et al.*, 2016; Ji *et al.*, 2023).

Uma das vantagens dessa abordagem é a ausência do risco de obstruções no equipamento, possibilidade de ser utilizada na indústria química e farmacêutica (Zhang *et al.*, 2023), além de apresentar boa eficiência. No entanto, pode ser necessário várias passagens do material pelo moinho, reduzindo o espaçamento entre os discos a cada passagem, para diminuir as dimensões e melhorar a uniformidade da nanocelulose. Vale

destacar que o processo com sucessivas moagens pode superaquecer a matéria-prima, afetando a região cristalina e reduzindo o índice de cristalinidade, o que resulta em custos operacionais mais elevados e redução da qualidade da nanocelulose obtida (Khiari *et al.*, 2019; Ji *et al.*, 2023).

No método de homogeneização por alta pressão, as fibras de celulose são injetadas, com auxílio de uma bomba, por meio de bicos sob alta pressão. Essa combinação de equipamentos aplica sobre a biomassa uma força cisalhante e de impacto, devido a alta velocidade provocada pela queda brusca de pressão. Esse processo resulta na redução do tamanho das fibras, geralmente requerendo vários ciclos para atingir a escala nanométrica. Apesar disso, é um método de obtenção rápido que não requer a adição de agentes químicos para a extração da nanocelulose (Ji *et al.*, 2023; Goswani *et al.*, 2023; Yusuf *et al.*, 2023; Garavand *et al.*, 2023).

Comparado a outros métodos mecânicos, apresenta a vantagem de produzir nanocelulose com uma melhor distribuição de tamanho e garantia da manutenção de características como resistência a tração. No entanto, entre as desvantagens estão a maior ocorrência de danos mecânicos no sistema, obstrução dos bicos injetores, maior consumo de energia e a impossibilidade de extração contínua de nanocelulose (Ji *et al.*, 2023; Goswani *et al.*, 2023; Yusuf *et al.*, 2023).

Outro método mecânico frequentemente utilizado é a ultrassonicação, que utiliza ondas de ultrassom para gerar energia mecânica oscilante sobre as moléculas líquidas e realizar a extração da nanocelulose. A energia gerada rompe as ligações de hidrogênio dentro das microfibras de celulose que vão se desintegrando e gerando as nanofibras de celulose. Durante esse processo, ocorre geração de calor, e para evitar o superaquecimento da biomassa e preservar as características de interesse, é necessário utilizar um sistema de resfriamento (Hoo *et al.*, 2022; Rafiq *et al.*, 2023). Os principais parâmetros operacionais a serem observados na ultrassonicação são o tempo de processamento, frequência aplicada e a concentração inicial de celulose (Du *et al.*, 2022;). Além disso, a ultrassonicação pode ser utilizada na etapa de pré e pós tratamento para promover alterações químicas e físicas na matéria-prima, como por exemplo o efeito da cavitação gerada aumenta a perturbação da região amorfa provocando o aumento das regiões cristalinas no processo de hidrólise enzimática (Squinca *et al.*, 2020), por meio da homogeneização pós tratamento químico e auxiliar a substituição do grupo hidroxila do carbono C6 em processos oxidativos. (Hoo *et al.*, 2022; Ji *et al.*, 2023). Assim como outras abordagens mecânicas, a principal desvantagem é o elevado

consumo de energia, enquanto sua principal vantagem é a eficiência de produção e homogeneidade do nanocelulose (Ji *et al.*, 2023).

#### 2.3.3.3.Método Enzimático

O processo de hidrólise enzimática ocorre em condições operacionais amenas, resultando em um processo com menor consumo energético, menor produção de resíduos, quando comparado aos métodos químicos. Além disso, possibilita o controle das características morfológica e obtenção de nanocelulose com alto teor de pureza (Tong *et al.*, 2020; Michelin *et al.*, 2020; Sayyed *et al.*, 2021). Entretanto, um dos desafios na produção de nanocelulose por meio da abordagem enzimática é a obtenção de baixos rendimentos e a necessidade de remoção de outros componentes da matriz em que a celulose está inserida, como a lignina e a hemicelulose. Esse processo é essencial para facilitar o acesso das enzimas às regiões de clivagem (Tong *et al.*, 2020; Sayyed *et al.*, 2021).

Com o intuito de melhorar os rendimentos em nanocelulose, a hidrólise enzimática tem sido associada a tratamentos mecânico ou químico, como: sonicação seguida da hidrólise enzimática, uma associação que resultou em um aumento de rendimento, com um acréscimo de aproximadamente 20% no índice de cristalinidade (Squinca *et al.*, 2020). A cavitação hidrodinâmica associada à hidrólise enzimática também proporcionou elevação um rendimento elevado de nanocristais, atingindo 60%, e índice de cristalinidade variando entre 81 e 85% (Yupanqui-Mendoza *et al.*, 2023). Outra estratégia que levou a resultados promissores envolve o pré-tratamento da biomassa com celulase, resultando em um aumento significativo no rendimento em nanocristais de celulose da etapa subsequente de hidrólise ácida, com um acréscimo de pelo menos 9 pontos percentuais e alcançando rendimento superior a 80% (Beltramino *et al.*, 2016).

O método enzimático pode envolver várias classes de enzimas na obtenção de nanocelulose, sendo as celulasas a classe predominante nesse processo. Essas enzimas são categorizadas de acordo com seu mecanismo de ação em endoglucanases, atuam no interior da cadeia clivando as ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas, facilitando a abertura da estrutura da molécula de cellulose para atuação de outras enzimas, já as exoglucanases atacam as extremidades da cadeia de cellulose, degradando a cadeia de celulose de maneira ordenada liberando nanocelulose. A combinação adequada dessas enzimas pode

otimizar a eficiência do processo de extração e obtenção de produtos de alta qualidade (Johnson *et al.*, 2008; Sacui *et al.*, 2014; Michelin *et al.*, 2020).

A hidrólise enzimática pode resultar na formação tanto de NFC quanto de NCC, dependendo do conjunto específico de enzimas utilizado. Esse método é altamente específico ao atacar as fibras de celulose, garantindo a obtenção de produtos dispersos e com tamanho uniforme (Johnson *et al.*, 2008; Sacui *et al.*, 2014; Michelin *et al.*, 2020; Sayyed *et al.*, 2021).

No entanto, os custos elevados associados à aquisição das enzimas industriais (isoladas) ainda representam um desafio para o processo em escalas maiores (Tibolla, Pelissari e Menegalli, 2014). Para superar essa barreira, algumas linhagens de fungos filamentosos, que produzem hidrolases em substratos industriais, têm sido testadas como agentes catalisadores, com resultados satisfatórios obtidos (Stroparo *et al.*, 2012; Squinca *et al.*, 2020).

#### 2.3.3.4. Métodos Químicos

Nos métodos químicos o material nanoestruturado é geralmente obtido a partir da ação de ácidos, bases, solventes orgânicos e líquidos iônicos (Ji *et al.*, 2023). Neste tipo de abordagem o agente químico atua degradando a região amorfa, podendo reduzir o consumo de energia e promover o aumento do rendimento (Sayyed *et al.*, 2021). Dentre esses métodos os mais utilizados comercialmente é a hidrólise ácida, utilizando ácido sulfúrico, porque produz nanocelulose com alta estabilidade coloidal (Leong *et al.*, 2022), elevado índice de cristalinidade e boas propriedades térmicas (Mhlongo *et al.*, 2022). Além disso, a hidrólise ácida é mais barata e rápida quando comparado aos processos mecânicos que demandam alto consumo de energia de aproximadamente 20000 a 30000 kWh/ton (Mishra, Sabu e Tiwari, 2018), enquanto os processos de hidrólise enzimática demandam tempo mais longo (Habibi, Lucia e Roja, 2010; Squinca *et al.*, 2020; Dias, Lacerda e Arantes, 2023).

A hidrólise ácida da celulose para a extração de nanocelulose começa com a remoção dos polissacarídeos ligados à superfície das fibrilas. Os íons de hidrogênio atacam as regiões amorfas da molécula de celulose, que estão unidas por ligações frágeis, além de realizarem a clivagem das ligações 1,4- $\beta$ -glicosídica (Yusuf *et al.*, 2023; Ji *et al.*, 2023; Goswani *et al.*, 2024). Enquanto a região cristalina permanece praticamente inalterada, isso ocorre porque essa região possui ligações mais fortes e

maior índice de empacotamento. Este mecanismo de ação é parte essencial para obtenção de nanocelulose (Chen *et al.*, 2016; Yusuf *et al.*, 2023; Ji *et al.*, 2023; Goswani *et al.*, 2024).

A nanocelulose obtida apresenta dimensões diferentes devido à grande liberdade de movimento depois da formação dos seguimentos hidrolíticos e elevado índice de cristalinidade quando comparado a biomassa de origem (Chen *et al.*, 2016; Doh, Lee e Whiteside, 2020; Ji *et al.*, 2023). O ácido mais utilizado neste tipo de abordagem é o ácido sulfúrico, pois contribui para a formação de cargas de sulfato na superfície do material nanoestruturado, estabilizando a suspensão e evitando a formação de aglomerados (Chen *et al.*, 2016; Doh, Lee e Whiteside, 2020; Yusuf *et al.*, 2023). O tipo de ácido, concentração do agente de clivagem, tempo e temperatura de hidrólise são os parâmetros que influenciam diretamente no rendimento e nas características da nanocelulose. Tempos de reação muito longos podem levar a hidrólise total da celulose em monossacarídeos, enquanto tempos de reação muito curtos podem levar à produção de segmentos de celulose grandes e aglomerada. Já temperaturas mais elevadas podem produzir nanocelulose com menor diâmetro e maior carga superficial (Ka *et al.*, 2011; Haldar e Purkait, 2020).

Neste processo de extração, via rota ácida, outros ácidos, como ácido clorídrico e ácidos orgânicos (fórmico e maleico), podem ser utilizados, sendo os ácidos orgânicos mais vantajosos devido à sua natureza menos tóxica (Mhlongo *et al.*, 2022). Em um estudo conduzido por Mhlongo *et al.*, (2022), foram extraídas nanofibras de celulose a partir de fibras de cânhamo via método químico, utilizando hidrólise com os ácidos sulfúrico, fórmico e maleico. O estudo constatou que sob as mesmas condições operacionais, as nanofibras extraídas com o auxílio dos diferentes ácidos não apresentaram diferença significativa de morfologia e de estabilidade térmica. A tabela 7 apresenta características de nanocelulose obtidos por meio de hidrólise utilizando diferentes ácidos.

**Tabela 7:** Nanocelulose obtida de biomassas diversas por meio da hidrólise ácida utilizando diferentes ácidos.

Biomassa	Nanocelulose produzida	Agente de hidrólise	Índice de cristalinidade	Rendimento	Referência
Casca de batata doce roxa	Nanocristal de celulose	Ácido maléico assistida por ultrassom;	58,3% – 71,3%	8,59%	Zhu <i>et al.</i> , 2023.
Fibras de rami	Nanocristal de celulose	Ácido sulfúrico	80,32% - 90,77%	Não informado	Kusmono <i>et al.</i> , 2020.
Polpa de eucalipto branqueada	Nanocristal de celulose	Ácido acético intensificado com ácido sulfúrico	69,3% – 81,1%	60% - 93%	Wang <i>et al.</i> , 2020.
Polpa de papel	Nanocristal de celulose	Ácido sulfúrico e ácido fórmico	78,3%– 82,1%	70,65%	Wang <i>et al.</i> , 2021.
<i>Cladophora glomerata</i>	Nanocristal de celulose	Ácido sulfúrico	Não informado	67±2%	Mihhels <i>et al.</i> , 2023.
<i>Pinnus sp.</i>	Nanocristal de celulose	Ácido sulfúrico	69% - 71%	58,5% - 85,7%	Pirich <i>et al.</i> , 2019.
<i>Eichhornia crassipes</i>	Nanocristal de celulose	Ácido acético	65,5% - 87,6%	Não informado	Hemida <i>et al.</i> , 2023.
Algodão	Nanocristal de celulose	Ácido sulfúrico	81,23%	Não informado	Pandi, Sonawane e Kishore, 2021.
Casca de arroz	Nanocristal de celulose	Ácido sulfúrico	59,0%	Não informado	Johar, Ahmad e Dufresne, 2012

<i>Gelidium elegans</i>	Nanocrystal de celulose	Ácido sulfúrico	73%	52,1%	Chen <i>et al.</i> , 2016
-------------------------	-------------------------	-----------------	-----	-------	---------------------------

A literatura também apresenta estudos combinando os métodos químicos a outros métodos, como o estudo conduzido por Samsalee, Meerasti e Sothornvit (2023) que produziu nanocelulose a partir da casca do arroz utilizando o ácido sulfúrico via hidrólise ácida, combinado com método mecânico. Eles obtiveram nanocelulose com índice de cristalinidade variando entre 64 e 72% e rendimento superiores em comparação à extração apenas utilizando método mecânico. Esses resultados demonstram que o método químico contribui para a melhoria das características morfológicas da nanocelulose produzida.

Uma alternativa para produção de nanocelulose por meio de tratamento químico envolve métodos que empregam a oxidação mediada por TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-óxido). Esse agente oxidante fraco possui ação seletiva, atuando sobre o grupo funcional hidroxila ligada ao carbono C-6 nas moléculas de celulose. No sistema de oxidação, o TEMPO, radical solúvel em água, atua em conjunto com catalisadores, geralmente NaClO (Clorito de sódio – agente de branqueamento) e NaBr (Brometo de sódio) (Dhali *et al.*, 2021; Jin e Spontak, 2023; Ji *et al.*, 2023).

A nanocelulose obtida por esse método possui alta cristalinidade, baixa densidade e processo de reação suave (Zhang *et al.*, 2020; Ji *et al.*, 2023). Essa abordagem destaca-se por fornecer características específicas ao material produzido. O método de oxidação TEMPO pode ser utilizado também para promover mudanças de superfície da nanocelulose (Dhali *et al.*, 2021; Jiang, Zhu e Jiang, 2021). Li *et al.*, (2015) realizaram um estudo sobre a produção de nanocelulose por meio de hidrólise utilizando ácido orgânico em condições brandas, seguido pelo processo oxidativo mediado por TEMPO para modificação da superfície da nanocelulose resultante. Os pesquisadores conseguiram obter nanocristais de celulose com uma estrutura cristalina mais ordenada e uma carga superficial maior. Essas características conferem um comportamento reológico mais viscoso para a nanocelulose na fase aquosa.

Por outro lado, Isogai e Zhou (2019) demonstraram ao revisar a literatura que, ao utilizar o método de oxidação TEMPO catalisado por NaBr em meio alcalino a partir de fibras celulósicas, provenientes de madeira, é possível obter nanofibras com diâmetros de 3nm e nanocristais de celulose com formato de agulha e razão de aspecto de 50. Estudos com o objetivo de otimizar os custos operacionais e ambientais do processo de

oxidação TEMPO tem sido desenvolvido. Nesse sentido Xu *et al.*, (2023) investigaram parâmetros que afetam a reutilização do meio oxidativo e seu impacto sobre a nanocelulose produzida. Os resultados demonstram que o parâmetro determinante no processo oxidativo é a consistência da polpa a ser tratada e que reaproveitamento de até 75% do meio para polpa de celulose de alta consistência não provoca alterações significativas nas características da nanocelulose obtida.

O método químico para produção de nanocelulose utilizando líquidos iônicos, sais orgânicos ou uma mistura de sais orgânicos fundidos, com ponto de fusão menor que 100°C, destaca-se como uma abordagem com menor geração de resíduos perigosos (Yoo, Pu, Ragauskas, 2017; Phanthong *et al.*, 2017; Dhali *et al.*, 2021).

Os líquidos iônicos são reconhecidos como solventes mais amigáveis ao meio ambiente quando comparados aos solventes orgânicos convencionais, pois podem ser recuperados e reutilizados com facilidade após a separação da celulose (Yoo, Pu, Ragauskas, 2017; Haron *et al.*, 2022; Zaini *et al.*, 2023). Além dessas vantagens, a composição do líquido iônico pode ser ajustada, tornando-os solventes projetáveis. A estrutura química flexível dos líquidos iônicos, com diferentes combinações de cátions e ânions, permitindo sua modificação com grupos funcionais específicos para atender a requisitos particulares de solubilidade e reatividade. Eles também apresentam elevada mobilidade iônica e, em geral não são inflamáveis, possuem baixa pressão de vapor, boa estabilidade química e térmica (Mondal, 2017; Phanthong *et al.*, 2017; Haron *et al.*, 2022).

Os líquidos iônicos atuam sobre a molécula de celulose, promovendo a ruptura das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares presentes nas fibrilas de celulósicas, levando ao inchamento do material lignocelulósico. As hidroxilas presentes na celulose interagem com o líquido iônico, onde os cátions do líquido iônico funcionam como receptores de elétrons da molécula de celulose, enquanto os ânions atuam como doadores de elétrons a serem recebidos pelo hidrogênio do grupo hidroxila (Jiang, Zhu e Jiang, 2021). A taxa de dissolução da celulose é influenciada pelas características do líquido iônico, sendo que a presença de ânions favorece o processo de dissolução (Haron *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023).

A dissolução da celulose via líquido iônico para obtenção de nanocelulose tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores (Iskak, Julkapli e Hamid, 2017; Grzabka-Zasadzinska, Skrzypczak e Borysiak, 2019; Sankhla, Sardar e Neogi, 2021). Esses estudos evidenciam que o método atua na ruptura da região amorfa das fibrilas de

celulose, produzindo nanocelulose com elevado índice de cristalinidade e razão de aspecto.

Além disso, pesquisas também são desenvolvidas com o objetivo de combinar os líquidos iônicos a outros métodos, bem como para avaliar a influência da reutilização desses líquidos sobre a qualidade do nanomaterial produzido. Essas investigações visam aprimorar a compreensão do processo e melhorar as condições para a produção eficiente e sustentável de nanocelulose. Phanthong *et al.*, (2017), em seu estudo, combinaram método mecânico ao método químico com líquidos iônicos com o objetivo de produzir nanocelulose, alcançando um rendimento de 93,1%. Eles investigaram a influência da reutilização do líquido iônico nas características da nanocelulose produzida, demonstrando a possibilidade de reutilização por até quatro vezes sem afetar significativamente as propriedades do material nanoestruturado produzido. Por outro lado, Paredes *et al.*, (2023) adotaram a integração do tratamento com líquido iônico e a hidrólise química para extrair nanocelulose, obtendo rendimentos entre 60 e 73% sob condições amenas de temperatura e tempo. Além disso, avaliaram o potencial de reciclagem do líquido iônico, observando que suas características e as da nanocelulose produzidas se mantiveram praticamente inalteradas ao longo de até cinco ciclos. Isso demonstra que o processo de separação e recuperação do líquido iônico foi eficiente, possibilitando sua reutilização.

#### 2.3.4. Nanocelulose Extraída de Macroalgas

As macroalgas têm sido investigadas como uma fonte de celulose para a produção de bioetanol e outros bioprodutos há algum tempo. No entanto, em comparação com outras biomassas lignocelulósicas, como madeira e resíduos agroindustriais, ainda há poucos registros de pesquisas focadas na obtenção de nanocelulose a partir dessas fontes (Baghel *et al.*, 2021).

Dentre esses trabalhos publicados nos últimos anos utilizando biomassa de macroalgas ou seus resíduos, está o trabalho desenvolvido por Chen e colaboradores (2016). Neste estudo, nanocelulose foi extraída a partir da macroalga *Gelidium elegans* através de 3 etapas consecutivas de tratamento da biomassa: tratamento alcalino, tratamento de branqueamento e hidrólise ácida com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. A nanocelulose obtida apresentou um diâmetro médio de 21,8±11,1nm e um comprimento médio de 547,3±23,7 nm, resultando em uma razão de aspecto de aproximadamente 25. Além

disso, o índice de cristalinidade da nanocelulose aumentou de 33% na biomassa in natura para 73% após o tratamento. Os resultados demonstraram o potencial promissor das macroalgas como fonte de celulose.

Outros trabalhos foram desenvolvidos utilizando outros gêneros e resíduos de biomassa de macroalgas. Sucaldito e Camacho (2017) extraíram nanocristais de celulose a partir da macroalga *Cladophora rupestris*. O processo de extração seguiu várias etapas: tratamento alcalino, branqueamento, tratamento ácido com HCl e hidrólise ácida com HBr. A nanocelulose obtida revelou-se altamente cristalina, com um índice de cristalinidade de 94%. Além disso, seu diâmetro médio foi de 20nm, enquanto o comprimento médio foi de 483nm, resultando em uma razão de aspecto de 25,2, um resultado semelhante ao obtido por Chen *et al.*, (2016).

Os estudos de Doh, Dunno e Whiteside (2020) e Fortunati *et al.* (2015) exploraram a extração de nanocelulose a partir de diferentes gêneros de macroalgas com o objetivo de melhorar as propriedades de nanocompósitos. Doh e colaboradores utilizaram as algas marrons *Laminaria japonica* e *Sargassum fluitans*, enquanto Fortunati *et al.* focaram na macroalga *Posidonia oceanica*.

Em seu trabalho, Doh, Dunno e Whiteside empregaram uma combinação de métodos mecânicos e químicos, incluindo a hidrólise ácida com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como etapa final. Os nanocristais de celulose obtidos apresentaram formato de haste e agulha, facilitando sua incorporação em filmes nanocompósitos. Os tamanhos médios encontrados foram de 204nm de comprimento para a *Laminaria japonica* e 53,6nm para a *Sargassum fluitans*, com diâmetros médios de 40,9nm e 8,1nm, respectivamente. Os índices de cristalinidade foram de 98,1% para *Laminaria japonica* e 87,3% para *Sargassum fluitans*, valores similares aos obtidos na literatura por Liu *et al.*, (2017).

Já Fortunati *et al.*, (2017) realizaram a extração de nanocelulose a partir de resíduos da macroalga *Posidonia oceanica*. Seu processo de obtenção envolveu pré-tratamento químico e hidrólise com ácido sulfúrico. Os nanocristais produzidos apresentaram comprimento de 180nm, diâmetro de 4,9nm e uma razão de aspecto de 36,7. Esses estudos evidenciam a viabilidade de diferentes gêneros de macroalgas como fonte potencial de nanocelulose, destacando sua importância na busca por materiais sustentáveis e de elevado desempenho. A tabela 8 apresenta alguns outros trabalhos que utilizaram macroalgas como fonte de celulose para extração de nanocelulose.

**Tabela 8:** Nanocelulose extraída a partir de Macroalgas.

<b>Macroalga</b>	<b>Método de obtenção</b>	<b>Nanocelulose produzida</b>	<b>Índice de Cristalinidade</b>	<b>Referências</b>
Resíduo de macroalgas vermelhas	Químico	Nanocristal de celulose	81 – 87%	El Achaby <i>et al.</i> , 2018
<i>Laminaria japonica</i>	Mecânico e Químico	Nanofibrila de celulose	55,1 – 66,6%	Wuet <i>et al.</i> , 2020.
<i>Gelidium amansii</i>	Químico	Nanocristal de celulose	-	Liet <i>et al.</i> , 2023
Alga vermelha (Não especificado gênero)	Químico	Nanocristal de celulose	69,5%	Hai <i>et al.</i> , 2015
Alga marrom (Não especificado gênero)	Químico	Nanofibrila de celulose	81,1%	Gaoet <i>et al.</i> , 2018
<i>Enteromorpha prolifera</i>	Químico	Nanocristal de celulose	65,2 – 72,6%	Kazharskaet <i>et al.</i> , 2019
<i>Gelidium sesquipedale</i>	Químico	Nanocristal de celulose	69,8%	Oliveira <i>et al.</i> , 2019
<i>Sargassum fluitans</i>	Químico	Nanocristal de celulose	81,3%	Doh e Whiteside, 2020

### 2.3.5. Aplicações Nanocelulose

A nanocelulose tem atraído atenção significativa da indústria devido às suas propriedades físicas e químicas, o que possibilita sua aplicação em diversos setores econômicos (Perumal *et al.*, 2022). Entre esses setores, destacam-se: biomédico, nanocompósitos, adesivos, hidrogéis, filme e membranas, farmacêutica e eletrônica (Bangar *et al.*, 2022). As características únicas da nanocelulose tornam um material

promissor para uma ampla gama de aplicações, oferecendo oportunidades significativas para o desenvolvimento de novos produtos e avanços em diferentes campos industriais.

Na área biomédica, a nanocelulose tem sido amplamente utilizada no desenvolvimento de implantes de substituição, biosensores, regeneração de tecidos, biocatalisadores, entre outras aplicações. O material nanoestruturado demonstra boa biocompatibilidade, toxicidade reduzida e uma estrutura que permite modificações de funcionalidade (Karimian *et al.*, 2019; Bangar *et al.*, 2022). Essas características tornam a nanocelulose um componente valioso para contribuir ainda mais para o desenvolvimento de novas aplicações em biomedicina, como carreador de medicamentos controlando a liberação química. Essa possibilidade de uso é viabilizada pelo fato de os nanocristais de celulose possuírem uma boa relação superfície-volume, estabilidade coloidal e carga superficial negativa (George e Sabpathi, 2018).

Os nanocristais de celulose apresentam diversas possibilidades de aplicação, incluindo a sua utilização em hidrogéis, combinado com quitosana, para atuarem como carreadores primários na administração de medicamentos específicos para estômago (Jeddi e Mahkam, 2019). Além disso, os compostos derivados de nanocristais de celulose foram explorados na engenharia de tecidos, com aplicações que incluem a produção de peças a partir de reticulação e impressão 3D, bem como a restauração de tecido vascular, muscular, cutâneo e ósseo (Moohan *et al.*, 2020; Bangar *et al.*, 2022). Esses nanocompósitos atendem aos requisitos fundamentais da engenharia de tecidos, como o crescimento sustentável, biodegradabilidade, biocompatibilidade, permeabilidade e capacidade de reter água (Mokhena e John, 2020).

Os NCC também pode ser usados como materiais de reforço para diversas matrizes poliméricas, sendo compatíveis com quitosana, ácido polilático, colágeno, entre outros (Moohan *et al.*, 2020). Além disso, seus efeitos de fortalecimento foram descritos na literatura para borracha, melhorando características termomecânicas e mecânicas desse material (Bras *et al.*, 2010), e para o cimento melhorando as características de flexão da pasta de cimento (Cao *et al.*, 2015).

Outro setor econômico que pode se beneficiar com a aplicação de nanocristais de celulose é o desenvolvimento de biosensores elétricos. Os nanocristais de celulose podem ter sua superfície modificada tornando-os condutores em dispositivos de detecção elétrica, fornecendo assim uma resposta para um sinal elétrico (Tortorella *et al.*, 2020). Isso os torna úteis para detecção sensível e seletiva da sequência de DNA, detecção de sequência de genes ou como sensores óticos (Marques *et al.*, 2008;

Morales-Narváez *et al.*, 2015). A tabela 9 apresenta uma lista de aplicações para a nanocelulose.

**Tabela 9:** Aplicações de nanocelulose e métodos de obtenção.

<b>Biomassa</b>	<b>Método de obtenção</b>	<b>Nanocelulose produzida</b>	<b>Aplicação sugerida</b>	<b>Referências</b>
Filtro de papel	Hidrólise ácida – Ácido sulfúrico	Nanocristal de celulose	Adsorção de metal pesado - Hg	Li, Ju e Zhang, 2019.
Folhas de Bambo	Hirólise ácida combinada ao tratamento mecânico	Nanofibra e nanocristal de celulose	Formação de filme ou pomada para curativas.	Singla <i>et al.</i> , 2017.
Celulose microcristalina comercial	Hidróxido de sódio e ureia	Nanocristal de celulose	Quimiosensor para detecção de metais pesados	Fraj <i>et al.</i> , 2023
Caixa de ovos usadas	Hirólise ácida combinada ao tratamento mecânico	Nanofibra de cellulose.	Embalagem ativa para indústria de alimentos	Raghav <i>et al.</i> , 2023.
Celulose microcristalina comercial	Hidrólise ácida	Não informado	Impressão de membrana para separação de fitoquímicos	Wu <i>et al.</i> , 2023
<i>Comercial obtida a partir de <u>Ciona intestinalis</u></i>	Não informada	Nanofibra de celulose	Reforço em implantes corneanos	Xeroudaki <i>et al.</i> , 2023
Celulose microcristalina comercial	Hidrólise enzimática	Nanofibra de celulose	Reforço em embalagens	Hasanin e Youssef, 2022

## CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

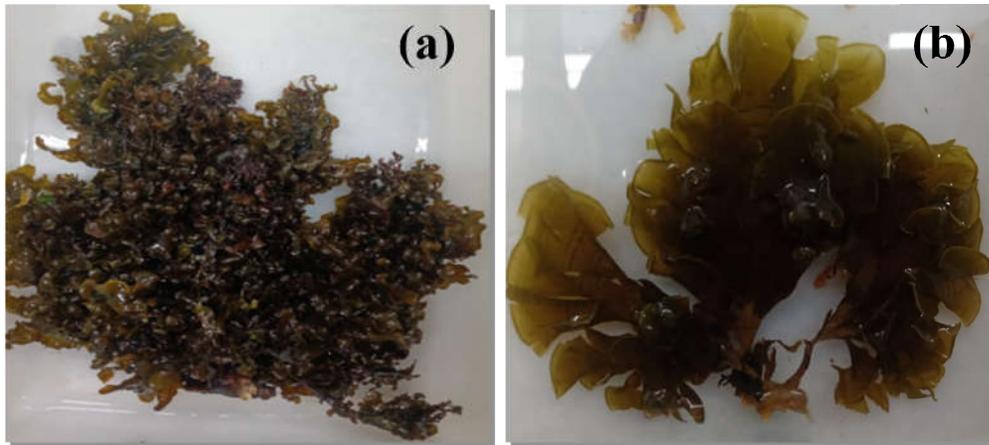
### 3.1. Coleta das Macroalgas

A seleção das macroalgas para o estudo foi realizada de acordo com a sua abundância. A coleta manual das algas marinhas foi realizada em dezembro de 2021, na praia de Riacho Doce, município de Maceió – AL (latitude -9,5647 e longitude -35,6454), a figura 14 mostra uma foto do local de coleta das algas. A coleta ocorreu durante as marés de sizíguas e as algas foram acondicionadas em sacos plásticos, sendo transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA) do Centro de Tecnologia (CTEC) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Foram coletadas algas Phaeophyceae, Rhodophyceae e Chlorophyceae, porém durante o processo de triagem da biomassa foi verificado que as macroalgas do tipo Rhodophyceae era menos abundante, tornando inviável o seu uso no estudo. Os gêneros mais prevalentes e, portanto, escolhidos para o desenvolvimento do trabalho foram: *Sargassum* sp. (alga marrom) e *Padina* sp. (alga marrom), que podem ser vistas na figura 15.



**Figura 14:** Local da coleta das macroalgas – Praia de Riacho Doce, Maceió – AL.  
**Fonte:** Autor, 2021.

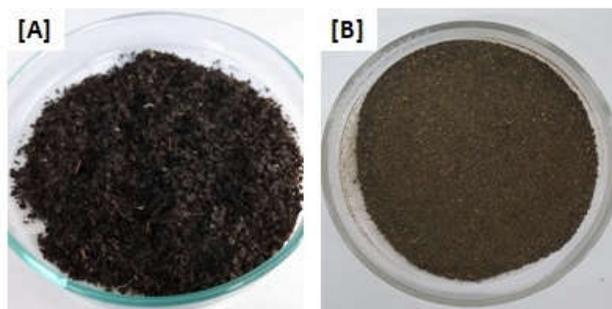


**Figura 15:** Macroalgas coletadas no município de Maceió, litoral alagoano, utilizadas na pesquisa foram dos gêneros: (a) *Sargassum*; (b) *Padina*. **Fonte:** Autor, 2021.

No laboratório, as macroalgas foram submetidas a um processo de triagem para a remoção de sedimentos, macroalgas de espécies diferentes das designadas para o estudo e epífitas, e outros resíduos ou organismos indesejados. Após a triagem, as algas foram lavadas e tiveram o excesso de água removido. Em seguida, foram secas em estufa termostatizada a 50°C por 72h. Esse procedimento tem como objetivo remover as impurezas e garantir as características da biomassa nas análises subsequentes do estudo.

### 3.2.Preparação das Amostras

Após o processo de secagem em estufa termostatizada, as amostras foram homogeneizadas em moinho de facas, usando malha (Mesh 28 – abertura de 0,0252in) para garantir o tamanho uniforme da biomassa em pó, como ilustrado na figura 16.



**Figura 16:** Amostras da biomassa após o processo de moagem, [A] *Sargassum* sp. *in natura*; [B] *Padina* sp. *in natura*. **Fonte:** Autor, 2021.

### 3.3.Caracterização Química das Macroalgas

#### 3.3.1. Determinação do teor de extrativos

Na determinação do teor extrativos totais, foram pesados entre 2 e 5g da amostra de biomassa moída em cartucho de papel de filtro ou celulose. Essas amostras foram submetidas ao processo de extração em aparelho Soxhlet, usando uma combinação de solventes orgânicos, hexano/etanol, na proporção de 2:1 por 7h. Essa metodologia foi adaptada da literatura, utilizando como referência o trabalho desenvolvido por Chen *et al.*, (2016). A combinação de solventes é necessária para garantir a remoção eficiente das diversas moléculas presentes nos extrativos, dada a complexidade dessa fração biomolecular.

Após o processo de remoção a amostra foi mantida em estufa e, em seguida, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente, esse processo foi repetido até o momento em que a massa se tornou constante. O percentual de extrativos totais foi determinado por meio da equação 1, apresentada abaixo:

$$\%TE = \frac{MRE - MRRS}{MA} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde: %TE é o teor de extrativos em percentual, MRE é a massa do conjunto recipiente/extrativos, MRRS é a massa do conjunto recipiente/resíduos sem extrativos e MA é a massa da amostra.

#### 3.3.2. Determinação do teor de cinzas

Para determinar o teor de cinzas em amostras de biomassa *in natura*, a amostra foi transferida para cadinhos de porcelana, previamente identificados e tarados. Posteriormente, os cadinhos contendo as amostras de 1,5g foram levados à mufla e aquecidos até a atingirem a temperatura de 550°C por 5h. Essa metodologia foi adaptada da literatura, fazendo referência o trabalho desenvolvido por Hojo *et al.*, (2008) e Araújo *et al.*, (2006).

O percentual de cinzas na amostra foi calculado utilizando a equação 2.

$$\%TC = \frac{MRRA - MR}{MA} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde: %TC é o teor de cinzas em percentual, MRRA é a massa do conjunto recipiente/resíduo de amostra, MR é a massa do recipiente e MA é a massa da amostra.

### 3.3.3. Determinação do teor de umidade

Para a determinação do teor de umidade, a análise teve início pesando-se a biomassa a ser analisada, com uma massa de aproximadamente 2g, em cadinho ou placa de petri, previamente tarados. O conjunto cadinho/amostra foi, então, transferido para estufa termostatizada, onde foi mantido a uma temperatura de 105°C por 2h. Após a permanência na estufa, o conjunto foi retirado e mantido em dessecador por no mínimo 30 min. Depois desse tempo, o conjunto foi pesado e retornou a estufa por mais 30 min. O procedimento de resfriamento e pesagem foi repetido mais vez após 24h em estufa, até obter uma massa constante ( Adaptado de TAPPI, 2002). O percentual de umidade foi então calculado com base na perda de massa em relação à amostra inicial, conforme equação 3.

$$\%TU = \frac{MRA - MRAF}{MA} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Onde: %TU é o teor de umidade em percentual, MRRA é a massa do conjunto recipiente/amostra, MRAF é a massa do final do conjunto recipiente/amostra e MA é a massa da amostra.

### 3.3.4. Determinação do teor de lignina

O teor de lignina nas amostras de biomassa, foi determinada por meio de adaptação da metodologia descrita por Gouveia *et. al.*, (2009). O procedimento envolve

a transferência de 2g da amostra moída e sem extrativos, para um béquer de 100mL, ao qual são adicionados 10mL de ácido sulfúrico 72% (v/v), sob agitação vigorosa com bastão de vidro, em um banho termostático a 45°C por 7 min. Após esse tempo, a reação é interrompida com a adição de 50mL de água destilada, e a amostra foi transferida quantitativamente para um erlenmeyer de 500mL. Em seguida, acrescenta-se 225mL de água destilada. A solução, com volume total de 275mL, é levada a uma autoclave por 30min a 121°C para realizar a hidrólise dos oligômeros remanescentes.

Após a descompressão da autoclave, os frascos contendo a solução foram resfriados à temperatura ambiente. A mistura reacional filtrada, e o material insolúvel retido no papel de filtro foi lavado com 1500mL de água destilada para remoção de ácido residual e ajuste do pH, para próximo da neutralidade. Depois de lavado, o material insolúvel é seco em estufa à temperatura de 80°C até atingir massa constante. O percentual de lignina foi obtido por meio da equação 4.

$$\%TL = \left( \frac{MFLI - MF}{MA} \times 100 \right) \times TC\% \quad \text{Equação 4}$$

Onde: %TL é o teor de lignina em percentual, MFLI é a massa de lignina insolúvel mais o filtro, MF é a massa do filtro, MA é a massa da amostra e TC% é o teor de cinzas.

O teor de lignina obtido a partir da equação 4, precisa ser corrigido pois o percentual encontrado é para a amostra de biomassa sem extrativos. Essa correção foi realizada por meio da equação 5, a qual ajusta o percentual de lignina levando em consideração o teor de extrativos presentes na biomassa *in natura*.

$$\%TLIC = \left( \frac{100 - TE\%}{100} \right) \times TL\% \quad \text{Equação 5}$$

Onde: %TL é o teor de lignina em percentual, TE% é teor de extrativos e %TLIC é o teor de lignina insolúvel corrigido.

### 3.3.5. Determinação do teor de proteína

O teor de proteína nas amostras de biomassa, foi determinada por meio da metodologia descrita por IAL (2008). O procedimento envolve a transferência de 0,5g da amostra moída, para um tubo Kjeldahl, ao qual são adicionados 2g de mistura

catalítica (sulfato de cobre, sulfato de sódio e dióxido de selênio na proporção 1:100:0,8, respectivamente), em seguida são adicionados 10mL de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida os tubos são acoplados ao digestor de Kjeldahl, e aquecido lentamente até a temperatura de 350°C, por um tempo de 1 a 4h, até que a amostra estar incolor ou levemente esverdeada.

Transcorrido o tempo de reação e com a solução reacional a temperatura ambiente, as amostras foram destiladas em destilador de nitrogênio, onde a amostra recebeu uma solução de hidróxido de sódio 40% em excesso. Em seguida a amostra foi titulada com ácido clorídrico 0,1N padronizado até aparecimento da coloração avermelhada. O percentual de proteínas foi obtido por meio da equação 6.

$$\%TPT = \left( \frac{V_{HCl} \times F \times N_{HCl} \times f_{HCl} \times 1,4}{MA} \right) \quad \text{Equação 6}$$

Onde:  $N_{HCl}$  é a normalidade da solução de ácido clorídrico utilizado na titulação,  $V_{HCl}$  é o volume gasto na titulação com ácido clorídrico 0,1N,  $f_{HCl}$  é o fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,1N,  $F$  é o fator de correspondência nitrogênio-proteína (valor de  $F$  para alimentos em geral é 6,25),  $MA$  é a massa da amostra e  $\%TPT$  é o teor de proteína total.

### 3.3.6. Determinação do teor de holocelulose

Para a determinação do teor de holocelulose (refere-se a soma da alfacelulose e hemicelulose) foi utilizada a metodologia adaptada de TAPPI (2009). A análise teve início pesando-se a biomassa sem extrativos a ser analisada, com uma massa de 3g, e transferindo para um erlenmeyer de 500mL onde foi adicionado 120mL de água destilada. O conjunto foi transferido para um banho termostático, com temperatura de 70°C, onde foi adicionado ao erlenmeyer 2,5g de clorito de sódio (com pureza mínima de 80%) e 1mL de ácido acético glacial, juntamente com uma barra magnética e o conjunto foi tampado com um erlenmeyer de 50mL e mantido em capela de exaustão durante todo o tempo.

Após 1h de reação foi adicionado ao meio reacional 2,5g de clorito de sódio e 1mL de ácido acético glacial. Depois de mais 1h de reação foi adicionado ao meio reacional 2,5g de clorito de sódio e 1mL de ácido acético glacial e a solução foi mantida

sob as mesmas condições por mais 3h. Passado esse tempo o conjunto (erlenmeyer + amostra) foi transferido para um banho de gelo por mais 30min. Em seguida a mistura foi filtrada e lavada até pH próximo 7, sendo adicionado de 10 a 20mL de acetona seguida de enxágue do material com água destilada em abundância.

O material sólido obtido foi então seco em estufa termostatizada a 100°C por aproximadamente 18h. O percentual de holocelulose na amostra foi então definido conforme equação 7.

$$\%TH = \left( \frac{MFH - MF}{MA} \right) \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

Onde: %TH é o teor de holocelulose em percentual, MFH é a massa do conjunto filtro/amostra, MF é a massa do filtro e MA é a massa da amostra.

O teor de holocelulose obtido a partir da equação 7, precisa ser corrigido pois o percentual encontrado é para a amostra de biomassa sem extrativos. Essa correção foi realizada por meio da equação 8, a qual ajusta o percentual de holocelulose levando em consideração o teor de extrativos presentes na biomassa *in natura*.

$$\%THC = \left( \frac{100 - TE\%}{100} \right) \times TH\% \quad \text{Equação 8}$$

Onde: %THC é o teor de holocelulose corrigido em percentual, %TE é o teor de extrativo percentual e %TH é o teor de holocelulose percentual.

### 3.3.7. Determinação de teor de alfacelulose

O teor de alfacelulose é determinado a partir da amostra holocelulose, metodologia Adaptada de TAPPI (2009), deve-se pesar aproximadamente 1g da amostra de holocelulose, e transferi para um almofariz com uma solução de hidróxido de sódio 17,5%, aguardar 2min de contato, e, então, triturar a amostra por 8min. Transcorrido esse tempo, adiciona-se água destilada e o material é transferido para um funil, o precipitado do funil deve então ser lavado até que o pH fique próximo ao da água utilizada. O conjunto funil/amostra deve então ser levado para estufa a 105°C, e seco até atingir massa constante. O percentual de alfacelulose na amostra foi então definido conforme equação 9.

$$\%TA = \frac{MFA - MF}{MAH} \times 100 \quad \text{Equação 9}$$

Onde: %TA é o teor de alfacelulose em percentual, MFA é a massa do conjunto funil/amostra, MF é a massa do funil e MAH é a massa da amostra de holocelulose.

O teor de alfacelulose corrigido é então obtido com base no teor de holocelulose corrigido, a partir da equação 10.

$$\%TAC = \left( \frac{\%THC \times TA\%}{100} \right) \quad \text{Equação 10}$$

Onde: %TAC é o teor de alfacelulose corrigido em percentual, %THC é o teor de holocelulose corrigido e %TA é o teor de alfacelulose percentual.

Já o teor de hemicelulose percentual corrigido é obtido por meio do cálculo da diferença entre os teores de holocelulose corrigido e alfacelulose corrigido, conforme equação 11.

$$\%THeC = \%THC - TAC\% \quad \text{Equação 11}$$

Onde: %TAC é o teor de alfacelulose corrigido em percentual, %THC é o teor de holocelulose corrigido e %THeC é o teor de hemicelulose corrigido em percentual.

### **3.4. Pré-Tratamento das Macroalgas**

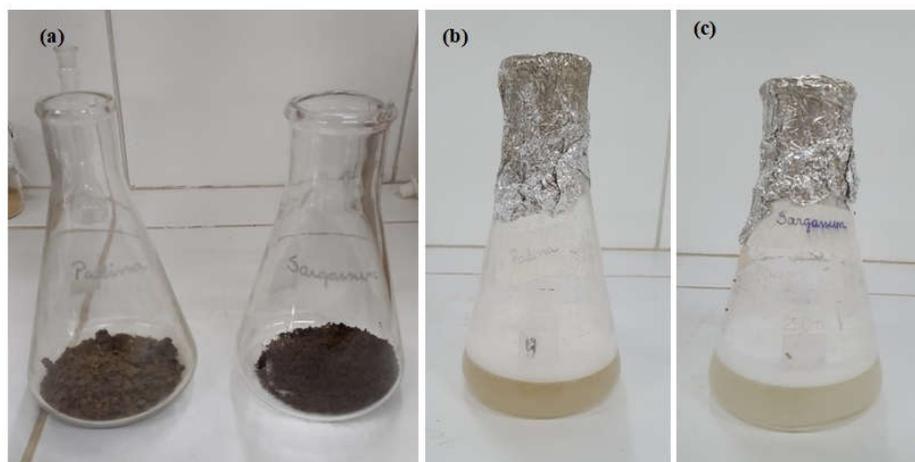
#### **3.4.1. Tratamento alcalino**

A biomassa sem os extrativos foi submetida ao processo de deslignificação, por meio de tratamento alcalino. O pré-tratamento de mercerização foi realizado com base na metodologia adaptada da literatura, utilizando como referência o trabalho desenvolvido por Chen *et al.*, (2016). As amostras de macroalgas foram mantidas sob agitação constante em conjunto com uma solução de hidróxido de sódio 2%, na proporção de 1g de biomassa para cada 20mL de solução de hidróxido de sódio 2%, por 2h a uma temperatura de 80°C. Após esse período a amostra foi filtrada e lavada com água destilada até que o pH da água de lavagem atingisse valores próximos ao pH da água utilizada para lavagem. Em seguida a biomassa mercerizada foi seca em estufa termostatizada a 55°C, por aproximadamente 24h.

### 3.4.2. Branqueamento

O branqueamento tem como objetivo principal remover a lignina presente na biomassa, esse processo foi realizado conforme a metodologia adaptada de Chen *et al.*, (2016). Nesse pré-tratamento a biomassa sem extrativos foi tratada com peróxido de hidrogênio a 30%, na proporção de 1g biomassa para cada 20mL de solução de peróxido de hidrogênio 30%, por 1,5h a uma temperatura de 80°C.

Após esse período a amostra foi filtrada e lavada com água destilada até que o pH da água de lavagem atingisse valores próximos ao pH da água utilizada para lavagem. Em seguida a biomassa branqueada foi seca em estufa termostatizada a 55°C, por aproximadamente 24h. A figura 17 apresenta a biomassa após o processo de branqueamento.



**Figura 17:** (a) Biomassa seca e sem extrativos antes de ser submetida ao processo de branqueamento (Macroalgas *Padina* sp. e *Sargassum* sp. respectivamente); (b) Macroalga *Padina* sp. após o processo de branqueamento; (c) Macroalga *Sargassum* sp. após o processo de branqueamento. **Fonte:** Autor, 2022.

### 3.4.3. Mercerização combinada com branqueamento

A biomassa sem os extrativos foi submetida ao processo de deslignificação, por meio do processo de mercerização seguido do branqueamento. A mercerização foi realizada utilizando metodologia adaptada da literatura, utilizando como referência o trabalho desenvolvido por Chen *et al.* (2016). As amostras de macroalgas foram

mantidas sob agitação constante juntamente com uma solução de hidróxido de sódio a 2%, na proporção de 1g de biomassa para cada 20mL de solução de hidróxido de sódio a 2%, durante 2h a temperatura de 80°C, transcorrido esse tempo a amostra foi filtrada e lavada com água destilada, até que o pH da água de lavagem esteja próximo ao pH da água utilizada para lavagem. Em seguida a biomassa foi seca em estufa termostatizada a 55°C, por aproximadamente 24h.

Na etapa de branqueamento, foi realizado conforme a metodologia adaptada de Chen *et al.*, (2016), a amostra mercerizada foi tratada com peróxido de hidrogênio a 30%, na proporção de 1g biomassa para cada 20mL de solução de peróxido de hidrogênio 30%, por 1,5h a uma temperatura de 80°C.

Após esse período a amostra foi filtrada e lavada com água destilada até que o pH da água de lavagem atingisse valores próximos ao pH da água utilizada para lavagem. Em seguida a biomassa branqueada foi seca em estufa termostatizada a 55°C, por aproximadamente 24h.

### **3.5. Caracterização Química da Macroalga Pré-tratada**

A composição química das macroalgas após o processo de pré-tratamento, que envolveu tratamento alcalino, branqueamento e tratamento combinado, foi realizada para determinar os teores de lignina, cinzas, holocelulose e alfacelulose. Essa análise proporciona informações sobre as mudanças na composição química da biomassa resultantes dos processos de pré-tratamento. A metodologia utilizada foi a mesma para caracterização da biomassa in natura, como descritas nos itens 3.3.2; 3.3.4; 3.3.6 e 3.3.7.

### **3.6. Caracterização das Macroalgas Pré-tratada**

#### **3.6.1. Análise de Espectroscopia da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

A técnica de espectroscopia na região de infravermelho foi utilizada para identificar matérias (nas diversas fases) e/ou investigar sua composição química. Nas amostras de macroalgas in natura e após pré-tratamento foi utilizada para observar as mudanças que ocorreram nas estruturas em cada um dos processos realizados.

As amostras secas foram analisadas na região entre 400 e 4000cm<sup>-1</sup> com uma resolução de 2cm<sup>-1</sup> em equipamento modelo Vertex 70-RAM II Espectrofotômetro

(Baker Scientific Instruments, EUA). Possibilitando a obtenção de informações sobre fragmentos moleculares, presença ou ausência de grupos funcionais específicos (Ahmad *et al.*, 2011).

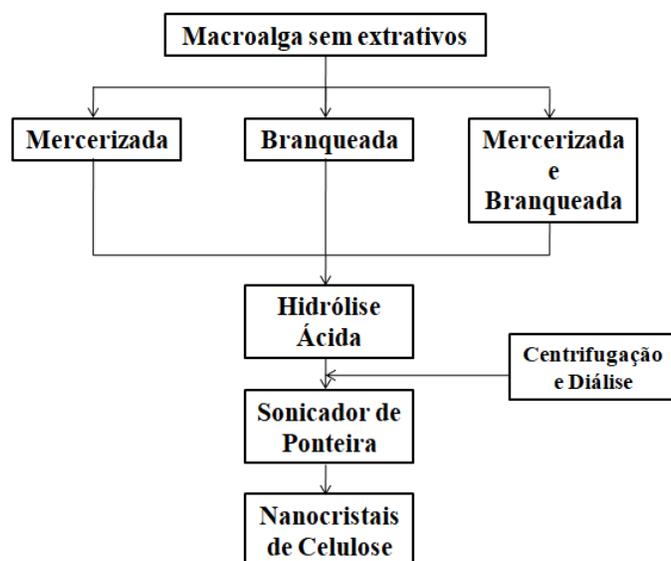
### 3.6.2. Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV)

A técnica de microscopia de varredura eletrônica consiste em avaliar a morfologia de superfície e verificação de estrutura presentes nas amostras avaliadas. Foram realizadas micrografias das amostras da macroalga *in natura*, sem extrativos, e após pré-tratamento. Possibilitando a avaliação dos tratamentos sobre a superfície da biomassa.

As análises microscópicas da biomassa *in natura* e após cada um dos pré-tratamentos foram realizadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (JSM-6510/GS, JEOL Ltda., Japão) operando em 10kV, com distância de trabalho de 10mm. As amostras foram dispersas em suporte de alumínio usando fita adesiva dupla-face de carbono, seguido de revestimento com uma fina camada de ouro, a fim de melhorar a condutividade.

### 3.7. Obtenção dos Nanocristais de Celulose

Os nanocristais de celulose foram obtidos a partir de diferentes pré-tratamentos dados a biomassa, conforme apresentado na figura 18.



**Figura 18:** Fluxograma do processo de obtenção de nanocristais de celulose via hidrólise ácida. **Fonte:** Autor, 2022.

Os nanocristais de celulose foram obtidos a partir de adaptações de procedimentos descrito por Chen *et al.*, (2016) e So *et al.*, (2021). A biomassa de macroalgas pré-tratada foi submetida à hidrólise ácida utilizando ácido sulfúrico 64% (m/m). Na proporção de 1g biomassa para 50mL de ácido sulfúrico. Foram avaliadas temperaturas de reação de 45 e 60°C e tempos de reação de 45 e 90min. Para todas as condições avaliadas foi mantida a agitação constante de 125rpm (Chen *et al.*, 2016 e Mihhels *et al.*, 2023).

Após a hidrólise ácida, a reação foi interrompida com o auxílio de água destilada gelada. As amostras foram centrifugadas durante 30 min a 3500rpm, com o objetivo de separar os sólidos da solução por centrifugação. O sobrenadante, que continha o excesso de ácido sulfúrico, foi removido e substituído por água destilada. Este procedimento foi repetido de 3 a 4 vezes. Posteriormente, as suspensões foram submetidas à diálise, utilizando membrana de celulose, com água destilada, até atingir o pH próximo ao da água destilada utilizada.

Na etapa seguinte, as amostras foram submetidas a tratamento ultrasônico, com potência de 800W por 12 min, com refrigeração para evitar o superaquecimento. A solução contendo os a suspensão foi armazenada sob refrigeração antes da caracterização. Para determinar o rendimento da suspensão, uma alíquota de 3mL foi retirada e seca em estufa termostatizada a 55°C por aproximadamente 18h. Em seguida,

foi possível definir a massa final do toda a suspensão. O rendimento da hidrólise foi determinado conforme a equação 12.

$$\%NCC = \frac{MFA}{MIA} \times 100 \quad \text{Equação 12}$$

Onde: %NCC é o rendimento mássico, MFA é a massa final da amostra e MIA é a massa inicial da amostra.

### 3.7.1. Análise Estatística

Os dados de rendimento da reação de hidrólise ácida foram obtidos a partir de um planejamento experimental completo do tipo 2<sup>3</sup>, considerando como fatores a biomassa pré-tratada das macroalgas (*Sargassum* sp. e *Padina* sp.), a temperatura (45°C e 60°C) e o tempo (45min e 90min). A tabela 10 apresenta os dados codificados e os dados reais. Os resultados encontrados foram submetidos a tratamento estatístico, análise de variância, para determinar se as alterações nos parâmetros avaliados foram estatisticamente significativas a um nível de confiança de 95%.

**Tabela 10:** Dados codificados e reais do delineamento estatístico das variáveis: tipo de biomassa pré-tratada, temperatura e tempo.

Ensaio	Dados Codificados			Dados Reais		
	Tipo de Biomassa/Pré-tratamento	Temperatura	Tempo	Tipo de Biomassa/Pré-tratamento	Temperatura	Tempo
1	-1,00	-1,00	-1,00	Sargassum	45°C	45 min
2	1,00	-1,00	-1,00	Padina	45°C	45 min
3	-1,00	1,00	-1,00	Sargassum	60°C	45 min
4	1,00	1,00	-1,00	Padina	60°C	45 min
5	-1,00	-1,00	1,00	Sargassum	45°C	90 min
6	1,00	-1,00	1,00	Padina	45°C	90 min
7	-1,00	1,00	1,00	Sargassum	60°C	90 min
8	1,00	1,00	1,00	Padina	60°C	90 min

### 3.8. Caracterização dos Nanocristais de Celulose

#### 3.8.1. Análise de Espectroscopia da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia na região de infravermelho foi utilizada para identificar matérias (nas diversas fases) e/ou investigar sua composição química. Nas amostras de macroalgas após hidrólise foi utilizada para observar as mudanças que ocorreram nas estruturas em cada um dos processos realizados.

As amostras secas foram analisadas na região entre 400 e 4000 $\text{cm}^{-1}$  com uma resolução de 2 $\text{cm}^{-1}$  em equipamento modelo Vertex 70-RAM II Espectrofotômetro (Baker Scientific Instruments, EUA). Possibilitando a obtenção de informações sobre fragmentos moleculares, presença ou ausência de grupos funcionais específicos (Ahmad *et al.*, 2011).

#### 3.8.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) foi utilizada para estudar o comportamento térmico da biomassa *in natura* e dos nanocristais de celulose obtidos. As avaliações termogravimétricas foram realizadas em analisador TGA-Q500 (TA Instruments, EUA). Nos ensaios foram usadas massas de aproximadamente 6 mg, cadinho de alumínio, atmosfera inerte de nitrogênio, com taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ , no intervalo de temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$  a 700 $^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.8.3. Potencial Zeta

O Potencial Zeta foi determinado utilizando equipamento Zetasizer Nano (ZS Malvern Instruments Ltda.; Reino Unido). Para os ensaios, as amostras foram diluídas na proporção de 1:10 (v/v) e, em seguida, foram submetidas a um ultrassom de ponteira por 3min a 200W.

#### 3.8.4. Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS)

As amostras diluídas na proporção de 1:10 (v/v) e, em seguida, foram submetidas a um ultrassom de ponteira por 3min a 200W. Teve o tamanho do

nanocelulose verificado a uma temperatura de 25°C com um analisador de distribuição de tamanho de partículas por sistema de espalhamento dinâmico de luz, modelo Zetasizer Nano (ZS Malvern Instruments Ltda.; Reino Unido).

### 3.8.5. Difração de raio-X (DRX)

A análise de difração de raio-X foi conduzida utilizando o equipamento Shimadzu Difratorômetro LabX, modelo XRD-6000, com uma tensão de 30kV e uma corrente de 30mA. O aparelho operou com radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda=0,15428\text{nm}$ ). Os padrões de raios-x foram obtidos no  $2\theta$  faixa angular de 5° a 40°, a uma taxa de varredura de 2°min<sup>-1</sup>.

Para estimar quantitativamente o índice de cristalinidade ( $I_c$ ) das amostras, foram utilizados os dados de intensidade de difração. Esse cálculo foi realizado conforme o método proposto por Segal *et al.*, (1959). A difração de raios-x é uma técnica importante para investigar a estrutura cristalina das amostras e fornecer informações sobre o arranjo dos nanocristais de celulose. O índice de cristalinidade foi obtido por meio da equação 13.

$$I_c = \left( \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 13}$$

Onde:  $I_c$  é o índice de cristalinidade,  $I_{002}$  é a intensidade de difração perto de  $2\theta=22^\circ$  e representa o material cristalino;  $I_{am}$  é a intensidade de difração perto de  $2\theta =18^\circ$  e representa o material amorfo.

## **CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados do estudo realizado começam com a avaliação da composição da biomassa *in natura*, composta pelas macroalgas dos gêneros *Padina* sp. e *Sargassum* sp. coletadas no litoral Alagoano. Esses gêneros foram escolhidos devido à sua abundância durante a coleta. Em seguida, essa biomassa passou por um processo de pré-tratamento, seguido da hidrólise ácida para obtenção de nanocristais de celulose.

### **4.1. Caracterização Química da Biomassa *In natura***

A caracterização dos gêneros selecionados para o estudo foi realizada com amostras secas por 72h a 50°C (Chen *et al.*, 2016), com o objetivo de garantir maior conservação da biomassa. As macroalgas dos gêneros *Sargassum* sp. e *Padina* sp. durante o procedimento de secagem perderam em massa aproximadamente 82% e 80%, respectivamente, uma perda esperada uma vez que as algas marinhas contêm entre 80 – 90% de água em sua composição total antes da secagem (Milledge *et al.*, 2018; Badmus, Taggart e Boyd, 2019; Zaki *et al.*, 2021).

A composição química das macroalgas (*Sargassum* sp. e *Padina* sp.) é apresentada na tabela 11.

**Tabela 11:** Análise da composição química da biomassa *in natura*.

Componente	Biomassa seca <i>in natura</i> - Teor percentual (médio±erro padrão)*	
	<i>Sargassum sp.</i>	<i>Padina sp.</i>
Extrativos	7,64±0,05 <sup>a</sup>	14,75±0,1 <sup>b</sup>
Umidade	10,93±0,04 <sup>a</sup>	9,88±0,02 <sup>b</sup>
Cinzas	15,54±0,11 <sup>a</sup>	26,80±0,49 <sup>b</sup>
Lignina	13,21±0,57 <sup>a</sup>	4,15±0,57 <sup>b</sup>
Celulose	29,57±0,33 <sup>a</sup>	30,27±0,50 <sup>a</sup>
Hemicelulose	12,83±1,52 <sup>a</sup>	11,94±0,08 <sup>a</sup>
Proteína	12,25±0,17 <sup>a</sup>	15,21±0,12 <sup>a</sup>

\* Os dados passaram por análise variância ANOVA seguida do teste de Tukey.

<sup>a,b</sup> Letras diferentes, na mesma linha, indicam diferenças significativas em relação aos tipos de macroalgas avaliadas (ANOVA one-way,  $p < 0,05$ ).

Com base nos resultados apresentados na tabela 8 e na aplicação da ANOVA, pôde-se observar que alguns componentes das macroalgas avaliadas apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os gêneros estudados. No entanto, as macroalgas *Padina sp.* e *Sargassum sp.*, apresentaram teores de celulose estatisticamente similares. Resultados obtidos neste estudo estão dentro da faixa descrita por Beetulet *al.*, (2015) e Baghel, Reddy e Singh (2021), onde o teor de celulose das macroalgas podem variar entre 21 e 61%. Esses valores são influenciados por fatores como estação do ano, localização geográfica e as condições de cultivo (Pillai *et al.*, 2023).

O teor de cinzas das macroalgas pode variar consideravelmente, dependendo da região onde foi cultivada e/ou coletada e do gênero. No caso da macroalga do gênero *Sargassum sp.*, o teor de cinzas de 15,54% encontrado está dentro da faixa reportada na literatura, com registros de variação entre 1,8% e 46,94% (Rossignolo *et al.*, 2022; Kavitha *et al.*, 2023). Para a *Sargassum angustifolium*, Mastalinezhad, Osfouri e Azin (2023) relataram teores de cinzas de 22,9%, enquanto para a *Sargassum polycystum*, o teor de cinzas em peso seco foi de 29% (Perumal *et al.*, 2018). Por outro lado, Taipa-Martinez *et al.*, (2019) reportaram um teor de cinzas de 11,7% para a espécie *Sargassum fluitans*.

A significativa variação no teor de cinzas também foi verificada para as macroalgas dos gêneros *Padina*, 26,8 %. Esse percentual está próximo do reportado na

literatura para espécies desse gênero. Para a espécie *Padina pavonica* o teor de cinzas foi de 37,91% (Drira et al., 2021) e para a *Padina tetrastromatica* o teor de cinzas é de 42% (Hans et al., 2023). Os demais constituintes das macroalgas também apresentam variações, porém é possível definir que as algas marinhas normalmente contêm até 50% de carboidratos, lipídios entre 1 – 5%, e proteína entre 10-47% (Doh, Lee e Whiteside, 2020).

Contudo, se compararmos os valores obtidos com a composição média para as macroalgas é possível verificar discrepância no teor de lignina na amostra da *Sargassum* sp. quando comparada ao apresentado por Chen et al., (2016) para a macroalga *Gelidium* sp. de 4,5%, o que pode ser justificável pela grande variabilidade entre os vários gêneros e espécies, diferença de metodologia, condições climáticas do ambiente marinho, época do ano, local de desenvolvimento, condições de colheita e armazenamento pós-colheita.

## 4.2.Obtenção e Caracterização da Biomassa Pré-Tratada

### 4.2.1. Obtenção da biomassa pré-tratada

A realização do pré-tratamento químico da biomassa de macroalgas teve como objetivo realizar a remoção de compostos indesejados, tais como: lignina e hemicelulose, e conseqüente aumento do teor de celulose na amostra. Além disso, o pré-tratamento promove o inchaço das fibras, aumentando a área superficial da biomassa.

Foram realizados três pré-tratamentos: mercerização, branqueamento e tratamento combinado (associando mercerização e branqueamento). Essa etapa é importante porque a presença de lignina dificulta o acesso do agente de hidrólise, levando a redução de rendimento em nanocristais de celulose.

A tabela 12 apresenta o código de identificação adotado para o tratamento das amostras e a tabela 13 o rendimento de cada pré-tratamento químico realizado.

**Tabela 12:** Codificação das amostras das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp. submetidas a pré-tratamento químico.

Biomassa	Código - Pré-Tratamento Químico		
	Mercerização	Branqueamento	Mercerização e Branqueamento

<i>Sargassum</i> sp.	SM	SB	SMB
<i>Padina</i> sp.	PM	PB	PMB

**Tabela 13:** Rendimento do pré-tratamento químico realizado na biomassa das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp.

Biomassa	Rendimento - Pré-Tratamento Químico (%)		
	Mercerização	Branqueamento	Mercerização e Branqueamento
<i>Sargassum</i> sp.	33,23%	40,48%	26,62%
<i>Padina</i> sp.	35,19%	41,04%	29,59%

A perda de massa observada após o pré-tratamento de mercerização das macroalgas estudadas sugere que a biomassa, quando na presença da solução de hidróxido de sódio 2%, teve ligações estruturais entre a lignina e a estrutura da celulose, promovendo também dissolução parcial da hemicelulose.

Também se observou perda de massa no processo de branqueamento com peróxido de hidrogênio 30%, ocorrido principalmente pela solubilização da hemicelulose e oxidação da lignina. Comportamento semelhante aconteceu com tratamento combinado (mercerização seguido de branqueamento). Além da perda de massa decorrente do processo de degradação de estruturas de ligninas e carboidratos, é possível a perda de massa durante do processo de lavagem para neutralização e recuperação da biomassa.

Os rendimentos da biomassa SMB e PMB, 26,62 e 29,59%, respectivamente, foram superiores aos 15,5% relatados por Chen *et al.*, (2016) ao utilizar macroalga do gênero *Gelidium* cultivada em laboratório. Essa diferença pode ser justificada pelo fato de Chen e colaboradores (2016) terem realizado duas etapas de branqueamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Estudos realizados com outras biomassas frequentemente realizam mais de uma etapa de branqueamento com o objetivo de elevar ao máximo o nível de pureza da celulose obtida (Johar, Ahmad e Dufresne, 2012; Tarchoun *et al.*, 2019).

#### 4.2.2. Caracterização química da biomassa pré-tratada

A caracterização dos gêneros selecionados foi realizada tendo como base o peso seco das amostras ao final de cada um dos pré-tratamentos químicos. A composição química centesimal encontrada foi apresentada na tabela 14.

**Tabela 14:** Composição química da biomassa das macroalgas após pré-tratamento.

Macroalga		Componentes			
		Cinzas	Lignina	Celulose	Hemicelulose
<i>Sargassum</i>	<i>In Natura</i>	15,54±0,11	13,21±0,57	29,57±0,33	12,83±1,52
	Mercerizada	15,41±0,21	6,29±0,16	41,12±0,21	9,73±0,57
	Branqueada	14,21±0,38	2,15±0,29	48,24±0,66	7,10±0,19
	Combinado	8,25±0,75	1,26±0,15	82,23±0,42	5,02±0,58
<i>Padina</i>	<i>In Natura</i>	26,80±0,49	4,15±0,57	30,27±0,50	11,94±0,08
	Mercerizada	20,95±0,23	3,92±0,43	44,31±0,23	10,26±0,68
	Branqueada	15,23±0,16	2,68±0,31	45,12±0,65	9,51±0,10
	Combinado	10,23±0,40	1,26±0,57	79,23±0,32	5,62±0,58

Após os diferentes pré-tratamentos químicos, observou-se um aumento consistente no teor de celulose conforme esperado, à medida que outros constituintes da matriz celulósica foram removidos.

O tratamento alcalino isolado demonstrou eficácia na remoção de 52,4% da massa de lignina e 24,2% da massa de hemicelulose na macroalga *Sargassum* sp. Esse resultado indica que, em biomassas com baixos teores de lignina, o tratamento alcalino, conforme realizado, é eficiente para romper as ligações éster entre a lignina e a hemicelulose presentes na matriz rica em celulose.

Resultados semelhantes ao macroalga *Padina* sp. foram relatados por Chen e colaboradores (2016) ao utilizarem a macroalga *Gelidium elegans*, obtendo uma redução do teor de lignina de pouco mais de 1% após o tratamento alcalino sob as mesmas condições realizadas neste estudo. É importante ressaltar que o tratamento alcalino apresenta outras vantagens além da redução dos teores de lignina e hemicelulose, tais como: inchamento da molécula de celulose, aumento da área superficial e redução do grau de polimerização (Noremylia, Hassan e Ismail, 2022).

Por outro lado, o processo de branqueamento resultou em uma redução mais significativa nos teores de lignina e hemicelulose em comparação ao tratamento alcalino. No entanto, observou-se uma redução menor para a macroalga *Padina* sp. Por

fim, o tratamento combinado, ou seja, tratamento alcalino seguido do branqueamento, resultou em um aumento exponencial no teor de celulose e uma redução acentuada dos teores de lignina, que foram reduzidos para menos de 2%.

Isso demonstra que todos os pré-tratamentos propostos são eficazes na redução de impurezas da matriz celulósica, favorecendo a extração da celulose. No entanto, o tratamento combinado mostrou-se particularmente eficiente, aumentando o teor de celulose da biomassa da *Sargassum* sp. de 29,6% para 82,2% e o da *Padina* sp. de 30,27% para 79,2%. Esse comportamento é semelhante ao descrito no estudo realizado por Chen *et al.*, (2016) com a macroalga *Gelidium elegans* sob as mesmas condições, e elevou o teor de celulose de 17% para 88,6%. Além disso, a redução do teor de cinzas ao longo do processo de pré-tratamento resultante da degeneração e lixiviação da biomassa durante a lavagem e neutralização (Mihhels *et al.*, 2023).

Os resultados evidenciam a importância de equilibrar o grau de pureza da celulose e o rendimento do processo, uma vez que à medida que novas etapas de pré-tratamento são incluídas tendem a reduzir o rendimento em biomassa e o custo operacional. Neste contexto, um parâmetro essencial para orientar a tomada de decisão é a análise das características da nanocelulose, resultante de cada método de pré-tratamento, que contribui para otimização de processo de extração e desempenho dos produtos finais.

#### 4.2.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

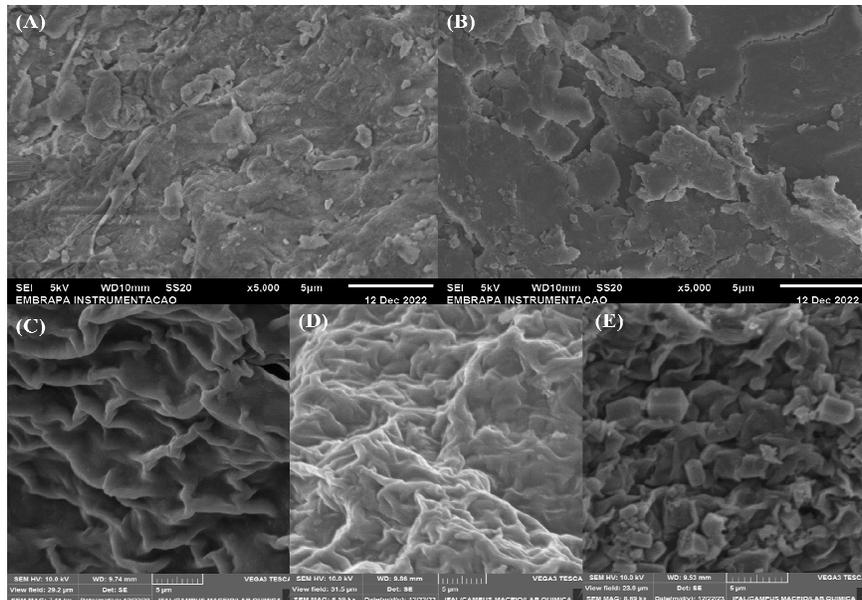
No microscópio eletrônico de varredura foram analisadas as amostras de biomassa *in natura*, biomassa sem extrativos, biomassa submetida ao tratamento alcalino, biomassa apenas branqueada e biomassa submetida ao tratamento combinado. As amostras foram fotografadas em diferentes estágios de pré-tratamento. As figuras 19 (A) e 20 (A) mostram a biomassa *in natura* com uma superfície mais íntegra e lisa devido à presença de óleos e ceras, comportamento comum e relatado anteriormente na literatura (Chen *et al.*, 2016; Bilatto *et al.*, 2020; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023). Já as figuras 19 (B) e 20 (B) apresentam uma remoção parcial de componentes macromoleculares superficiais após a etapa de extração via Soxhlet, tornando a superfície menos uniforme.

Ao comparar as figuras 19 e 20 (A) com as figuras 19 e 20 (C), sugere-se um afrouxamento da estrutura da biomassa, provocado pelo processo de alcalinização (Chen *et al.*, 2016). Esse efeito indica a remoção parcial de compostos presentes na

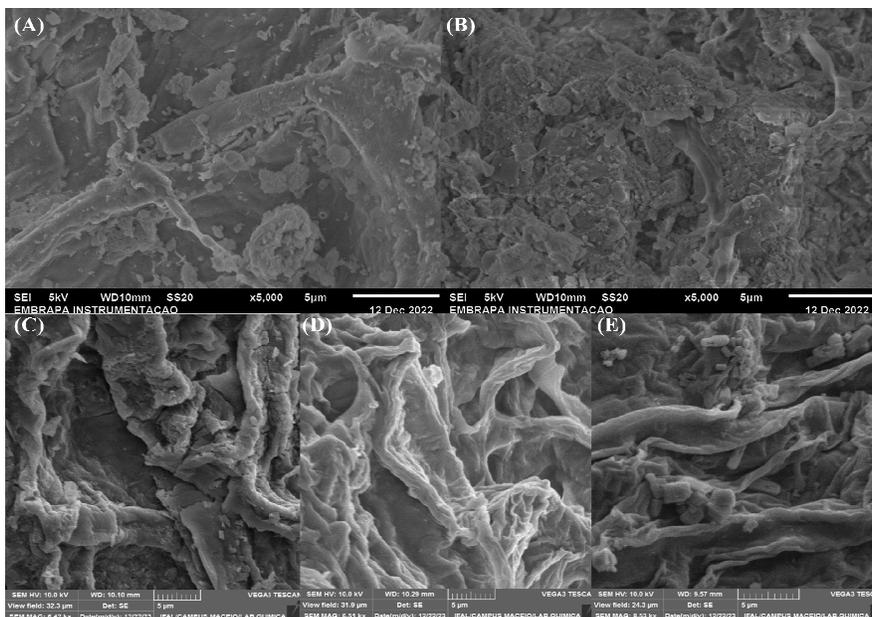
matriz rica em celulose, tais como: hemicelulose, lignina e outras impurezas (Johar, Ahmad e Dufresne, 2012; Chen *et al.*, 2016; Bilatto *et al.*, 2020), evidenciada na caracterização realizada após o tratamento alcalino. Além disso, a estrutura da biomassa tornou-se mais rugosa e irregular, indicando um aumento na área superficial específica, sendo possível observar que o início do processo de fibrilação.

A partir das figuras 19 (D) e 20 (D), a biomassa após o processo de branqueamento com peróxido de hidrogênio indicou a formação de feixes de fibras e aparente redução do diâmetro das fibras, quando comparado as fibras apresentadas nas figuras 19 (C) e 20 (C). A aparente redução do diâmetro das fibras pode ser atribuída a destruição da parede celular da biomassa, processo relatado em outros trabalhos (Chen *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2023).

Já nas figuras 19 (E) e 20 (E), a biomassa submetida tratamento alcalino seguido de branqueamento com peróxido de hidrogênio, apresentou um aparente aumento da área superficial específica quando comparada ao outros pré-tratamentos, além de sugerir a redução do diâmetro das fibras como reflexo principalmente da remoção de lignina e hemicelulose que pode ser verificado nos dados de caracterização da biomassa após o tratamento (Singh *et al.*, 2023).



**Figura 19:** Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura para as amostras das macroalgas *Sargassum* sp.: (A) *Sargassum* sp. *in natura*, (B) *Sargassum* sp. após remoção de extrativos, (C) *Sargassum* sp. após tratamento alcalino, (D) *Sargassum* sp. após processo de branqueamento e (E) *Sargassum* sp. após tratamento combinado, com aumento de 5000x. **Fonte:** Autor, 2022.



**Figura 20:** Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura para as amostras das macroalgas *Padina* sp.: (A) *Padina* sp. *in natura*, (B) *Padina* sp. após remoção de extrativos, (C) *Padina* sp. após tratamento alcalino, (D) *Padina* sp. após processo de branqueamento e (E) *Padina* sp. após tratamento combinado, com aumento de 5000x **Fonte:** Autor, 2022.

Ao analisar as figuras 19 (A-E) e 20(A-E), torna-se evidente que o pré-tratamento, combinado das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp., resultou em uma maior disponibilidade das fibras de celulose e um aumento da área superficial específica para etapa de hidrólise ácida. Esse aumento na disponibilidade das fibras contribui para a produção nanocristais de celulose. Demonstrando que o pré-tratamento alcalino e branqueamento sozinhos são menos eficazes na remoção de todos os componentes indesejáveis, como a lignina e hemicelulose. A eficácia do pré-tratamento combinado para a remoção de impurezas já foi relatada para diversos tipos de biomassa, utilizando vários agentes químicos no processo (Johar, Ahmad e Dufresne, 2012; Chen *et al.*, 2016; Bilatto *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2023).

#### 4.2.4. Análise de Espectroscopia da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros realizados na região de infravermelho das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp. *in natura*, sem extrativos, mercerizada, branqueada e submetida a tratamento químico combinado, são apresentadas nas figuras 21 e 22, respectivamente.

Sendo possível observar diferenças na composição química da biomassa *in natura* e aquela submetida à pré-tratamento.

Ao utilizar a técnica de FTIR para avaliar qualitativamente as mudanças na composição da biomassa das macroalgas estudadas, vale ressaltar que os principais grupos funcionais presentes na molécula de celulose são os álcoois, ésteres, cetonas e alcenos, com oxigênio presente em diferentes posições (Yang *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2023). A celulose apresenta picos significativos no espectro correspondente ao grupo funcional hidroxila e ligação simples carbono-oxigênio (Yang *et al.*, 2007).

Ao analisar as curvas de FTIR, apresentadas nas figuras 21 e 22, é possível verificar que todas as amostras que passaram por tratamento químico apresentam um pico amplo em torno de  $3400\text{ cm}^{-1}$ , principalmente devido à vibração de estiramento do grupo hidroxila, resultantes das ligações de hidrogênio intra e intermolecular, demonstrando a tendência hidrofílica do material (Chen *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2023; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023). O aumento do pico nessa região para as amostras tratadas das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp. em relação a biomassa *in natura* provavelmente decorre do aumento da área superficial da amostra, permitindo uma maior exposição dos grupos hidroxila (Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023).

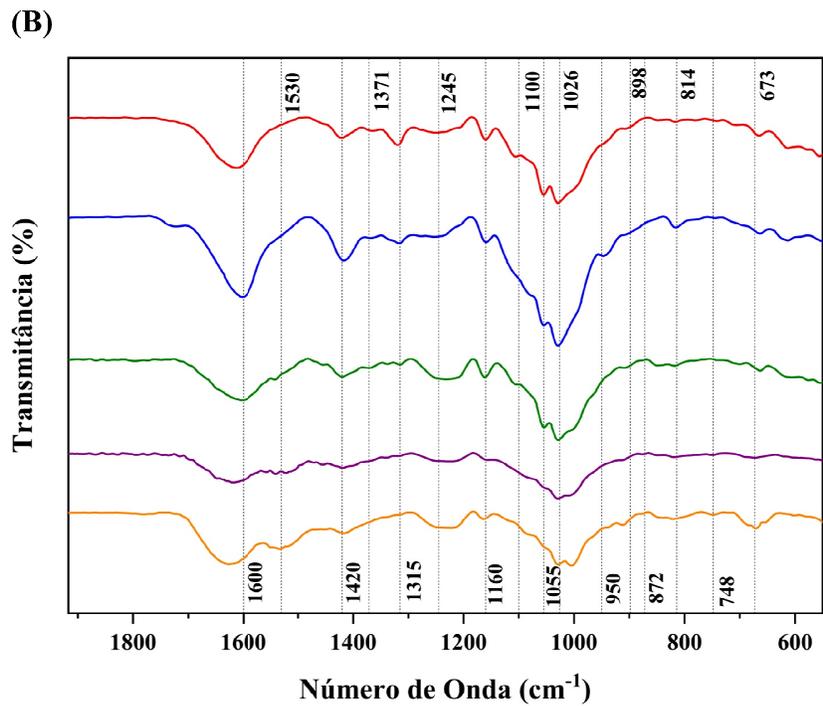
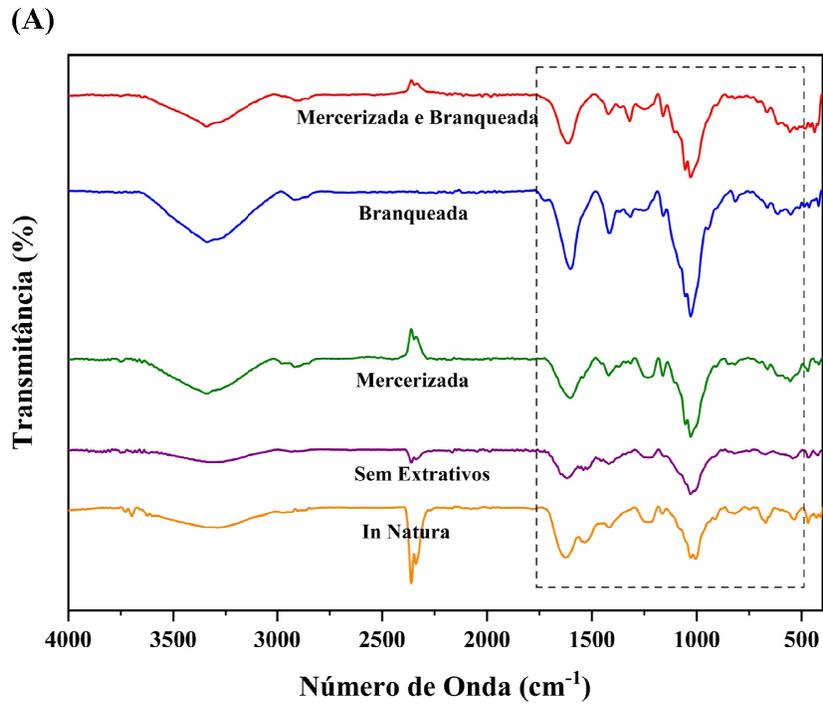
Um pico em torno de  $2900\text{ cm}^{-1}$  surge no espectro da biomassa *Sargassum* sp. (Figura 21) após o tratamento de mercerização e torna-se ligeiramente mais amplo e intenso na amostra de biomassa apenas branqueada. Já para a *Padina* sp. (Figura 22), após o tratamento de mercerização o pico é menos intenso quando comparado à biomassa branqueada e à submetida ao tratamento combinado. Esse pico é característico da vibração de estiramento alifático da ligação simples carbono-hidrogênio, presente em polissacarídeos como a celulose, submetida a tratamento químico (Wang *et al.*, 2022; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023).

O pico observado em  $1600\text{ cm}^{-1}$  indica a presença do estiramento do grupo funcional carboxilato, confirmando a presença de manuronato e guluronato neste polímero (Rhein-Knudsen *et al.*, 2017). Já o pico de  $1640\text{ cm}^{-1}$  é decorrente da flexão da molécula de água absorvida (Johar, Ahmad e Dufresne, 2012; Singh *et al.*, 2017; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023).

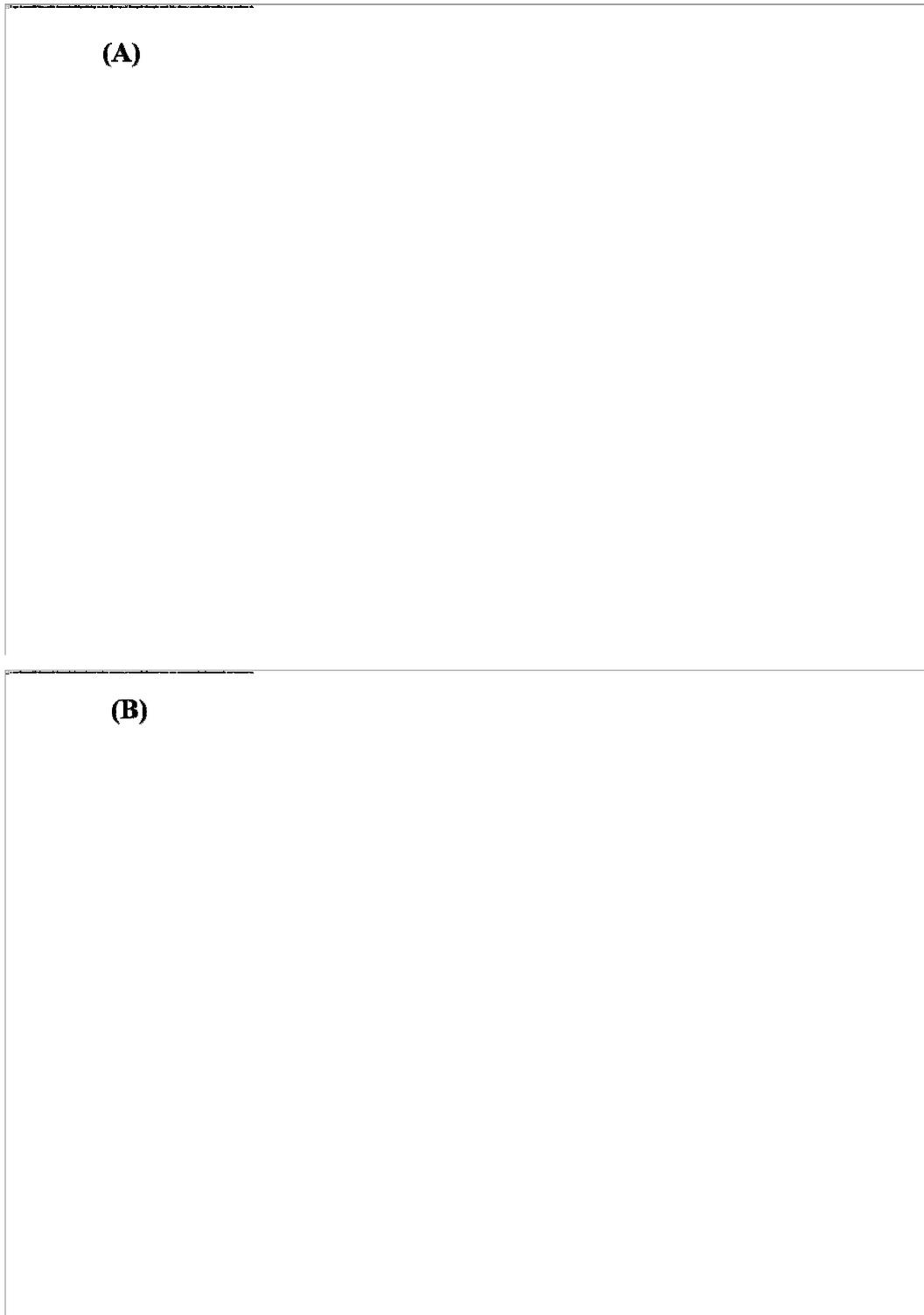
Pode-se notar a redução do pico característico da molécula lignina a  $1500\text{ cm}^{-1}$ , correspondente a vibração do anel aromático, à medida que a biomassa foi submetida a tratamento químico (Chen *et al.*, 2016; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023). Além

disso, ocorre também a redução do pico característico da hemicelulose em  $1245\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à vibração de estiramento do grupo funcional carboxílico (Chen *et al.*, 2016; He *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2024).

Os picos em torno de  $1420\text{ cm}^{-1}$ ,  $1371\text{ cm}^{-1}$ ,  $1315\text{ cm}^{-1}$  e  $1160\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao movimento de tesoura de  $\text{CH}_2$  e integridade da celulose, flexão da CH e integridade cristalina em celulose, dobramento  $\text{CH}_2$  em celulose, vibrações de alongamento do anel CC da celulose e alongamento da ligação éter glicosídica da celulose, respectivamente (Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023). Enquanto os picos em torno de  $1100\text{ cm}^{-1}$  e  $1055\text{ cm}^{-1}$ , correspondem as vibrações de estiramento COC e ao alongamento do anel de piranose, típicos da celulose (Singh *et al.*, 2023; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023).



**Figura 21:** (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga *Sargassum* sp. in natura e após tratamento químico, e (B) destaque da região de 1900 – 550  $\text{cm}^{-1}$ .  
**Fonte:** Autor, 2022.



**Figura 22:** (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga *Padina* sp. in natura e após tratamento químico, e (B) destaque da região de 1900 – 550  $\text{cm}^{-1}$ . **Fonte:** Autor, 2022.

As elevações na região do espectro entre 500 e 700  $\text{cm}^{-1}$  correspondem a estiramentos decorrentes da vibração assimétrica da ligação  $\beta$ -glicosídica (Oliveira *et al.*, 2014), e o pico em torno de 900  $\text{cm}^{-1}$  é característico da ligação  $\beta$ -glicosídica entre as moléculas de glicose formadoras da celulose (Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023; Wu *et al.*, 2024).

Baseado nos espectros obtidos para as amostras *in natura* e pré-tratada, foi possível observar diferenças na composição química das biomassas estudadas antes e após o pré-tratamento químico, como o aumento da intensidade dos picos característicos de celulose e redução dos picos característicos de lignina e hemicelulose. Esses resultados são consistentes com estudos anteriores que utilizaram macroalgas como biomassa (Chen *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2017; Jang *et al.*, 2021).

Os espectros das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp. submetidas apenas ao processo de branqueamento e ao tratamento combinado (mercerização associada ao branqueamento) apresentaram perfis semelhantes, sugerindo conformação e grupos químicos semelhantes. Os pequenos picos indicativos de lignina e hemicelulose observados perdem intensidade principalmente após os processos de branqueamento e combinado, corroborando com os resultados de composição química obtidos. Além disso, isso demonstra a possibilidade de redução de etapas no processo de pré-tratamento.

Outras alterações no perfil dos espectros podem ser verificado na região de 3400  $\text{cm}^{-1}$ , onde se nota mudança na intensidade do pico para as amostras submetida apenas ao branqueamento e as amostras que passaram pelo tratamento combinado (mercerização seguida de branqueamento), sugerindo diminuição nas ligações de hidrogênio intramoleculares. Isso pode estar relacionado a mudanças na estrutura cristalina da celulose tipo I para a celulose tipo II, comportamento semelhante pode ser observado em outros pontos característicos da celulose, como a região entre 1371 e 1055  $\text{cm}^{-1}$  (Wu *et al.*, 2024).

### **4.3. Obtenção e Caracterização dos Nanocristais de Celulose**

#### **4.3.1. Obtenção dos nanocristais de celulose via hidrólise ácida**

Nesta etapa, outro fator importante é a determinação dos parâmetros operacionais para a realização da reação de hidrólise ácida. Com o objetivo, de

identificar as melhores condições para condução da hidrólise ácida da biomassa, foi estudada a influência da biomassa pré-tratada, do tempo e da temperatura de reação.

Os resultados dos rendimentos mássicos obtidos para cada uma das condições avaliadas são apresentados na tabela 17.

**Tabela 15:** Rendimento mássico para as diferentes condições de tempo e temperatura.

Tipo de biomassa		Temperatura (°C)	Tempo (min)	Rendimento (%)
SM	(T45t45)	45	45	87,41
	(T60t45)	60	45	48,21
	(T45t90)	45	90	72,65
	(T60t90)	60	90	50,89
SB	(T45t45)	45	45	25,81
	(T60t45)	60	45	18,77
	(T45t90)	45	90	15,56
	(T60t90)	60	90	25,77
SMB	(T45t45)	45	45	45,58
	(T60t45)	60	45	23,43
	(T45t90)	45	90	29,34
	(T60t90)	60	90	16,91
PM	(T45t45)	45	45	62,59
	(T60t45)	60	45	37,72
	(T45t90)	45	90	54,38
	(T60t90)	60	90	49,61
PB	(T45t45)	45	45	39,87
	(T60t45)	60	45	25,93
	(T45t90)	45	90	34,21
	(T60t90)	60	90	30,77
PMB	(T45t45)	45	45	42,10
	(T60t45)	60	45	21,38
	(T45t90)	45	90	32,31
	(T60t90)	60	90	34,09

Ao verificar os dados apresentados na tabela 17 é possível ver uma tendência de queda nos dados de rendimento com o aumento da temperatura e do tempo de reação. Esse comportamento pode ser explicado pela solubilização das regiões amorfas que gera redução da massa inicial. Os melhores rendimentos foram obtidos com o tempo de 45 min e temperatura de 45°C para todas as biomassas utilizadas.

A utilização de condições operacionais mais elevadas de tempo e temperatura levaram a redução do rendimento da reação de hidrólise, comportamento semelhante foi obtido por Mihhels e colaboradores (2023), que estudaram a influência das condições operacionais sobre a hidrólise ácida da macroalga *Cladophora glomerata*. Esse comportamento pode ser resultante de um maior inchamento das fibras, aumento da fragmentação das cadeias celulósicas e hidrólise de regiões cristalinas com cristais pouco perfeitos e mais sensíveis a penetração do ácido sulfúrico. Além disso, temperaturas mais elevadas também podem aumentar a transferência de massa, o que tende a favorecer a redução do rendimento em massa e do tamanho do hidrolisado, podendo ocasionar perdas durante o processo de purificação e separação. (Klemm *et al.*, 2011).

A elevação da temperatura também provocou o escurecimento rápido da celulose, obtidas a partir das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp., demonstrando a degradação térmica da celulose (Mihhels *et al.*, 2023).

Ao observar o efeito da temperatura no rendimento dos nanocristais de celulose, fica evidente que a biomassa das macroalgas marrons dos gêneros *Sargassum* sp. e *Padina* sp. pode exigir condições de hidrólise mais suaves para facilitar a penetração do ácido. Sugerindo a viabilidade de preparar nanocristais de celulose em condições menos severas, o que pode ser benéfico para evitar degradação excessiva de celulose, além das reduções dos custos operacionais do processo.

Ao avaliar a influência do pré-tratamento da biomassa sobre o rendimento da reação de hidrólise observou-se uma redução do rendimento à medida que a biomassa ficava mais rica em celulose, que pode ser justificado pelo aumento da transferência de massa em poros intrafibra decorrente do aumento da área superficial. Sendo a biomassa submetida ao tratamento químico combinado (SMB e PMB) as que apresentaram menores rendimentos nas condições de maior tempo e maior temperatura.

Os rendimentos obtidos para a biomassa SMB e PMB, respectivamente 45,58% e 42,10%, nas condições mais brandas de temperatura (45°C) e tempo (45min) realizadas no estudo foram superiores ao rendimento relatado por Hai, Son e Seo

(2015), que obtiveram rendimento de 20,5%, via hidrólise com ácido sulfúrico e utilizando macroalga vermelha. Esses rendimentos também foram superiores ao obtido por Fortunati et al., (2015), que utilizaram macroalga marrom *Posidonia oceanica* em condições operacionais semelhantes e obtiveram rendimento de 14% em nanocristais de celulose por meio da hidrólise ácida. Rendimento semelhante aos obtidos neste estudo foi relatado Doh, Lee e Whiteside (2020), que obtiveram rendimentos de 42,7% utilizando a macroalga *Sargassum natans* via hidrólise ácida combinada com tratamento mecânico.

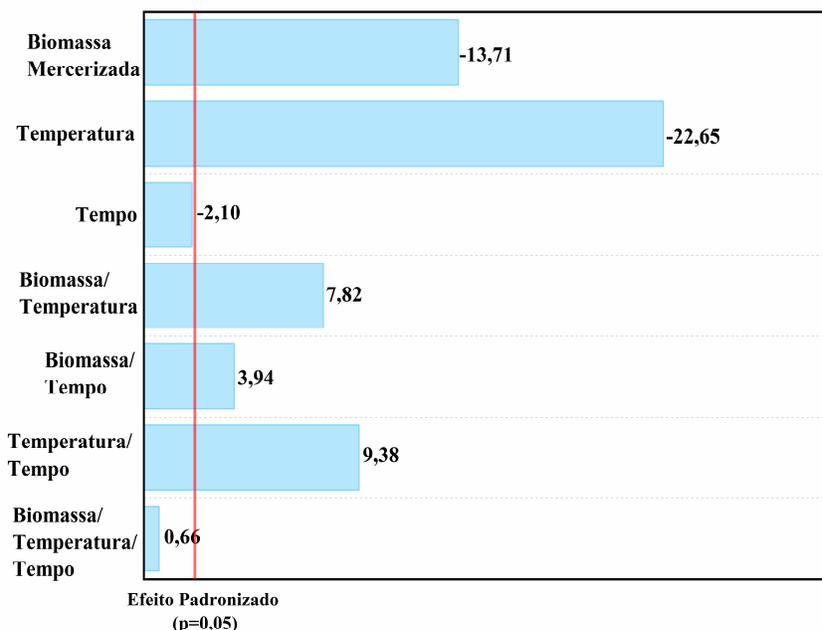
#### 4.3.1.1. Análise de Estatística

A combinação das condições operacionais (temperatura e tempo) e o gênero da biomassa pré-tratada foram submetidos à análise estatística para identificar quais desses fatores apresentam significância sobre o rendimento em massa da hidrólise ácida. Esse procedimento é importante para entender as relações entre as variáveis e otimizar as condições operacionais para obtenção de nanocristais de celulose a partir das macroalgas marrons dos gêneros *Sargassum* sp. e *Padina* sp. A tabela 18 apresenta os resultados dos efeitos principais e efeitos de interação de segunda e terceira ordem, obtidos a partir do planejamento experimental  $2^3$ , para os fatores biomassa das macroalgas *Padina* e *Sargassum* submetidas ao tratamento mercerizada, temperatura (45°C e 60°C) e tempo (45 min e 90 min).

**Tabela 16:** Efeitos principais e efeitos de interação dos fatores biomassa das macroalgas *Sargassum* e *Padina* mercerizada, temperatura (°C) e tempo (min) avaliados no rendimento em massa.

<b>Biomassa Mercerizada</b>	
Média Global	57,93±0,48
<b>Efeitos Principais</b>	
1. Biomassa Mercerizada	-13,71±0,96
2. Temperatura	-22,65±0,96
3. Tempo	-2,10±0,96
<b>Efeitos de Interação</b>	
12	7,82±0,96
13	3,94±0,96
23	9,38±0,96
123	0,66±0,96

Já a figura 23 apresenta os resultados obtidos para análise dos efeitos para os três fatores avaliados e quais desses possuem significância estatística de acordo com a distribuição T-Student e nível de confiança de 95%.



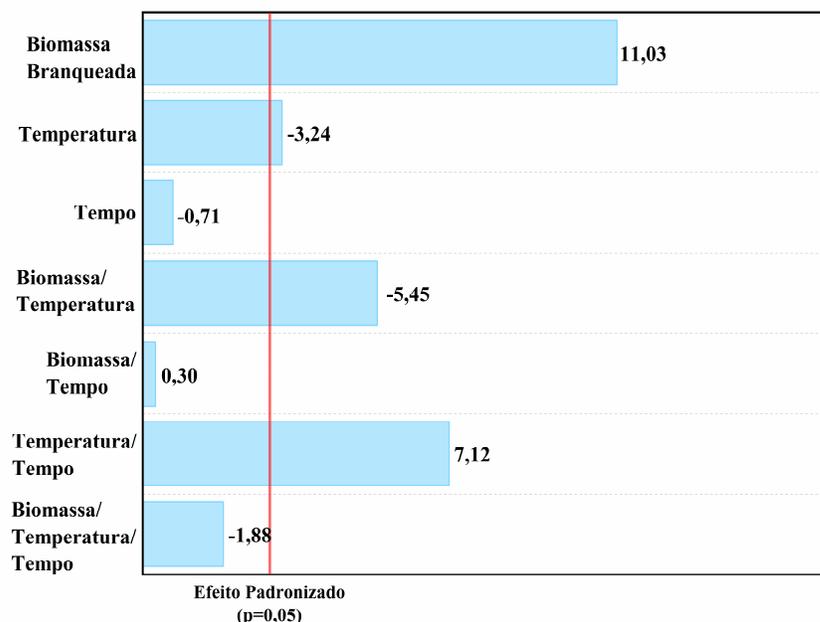
**Figura 23:** Efeitos principais e secundários para a biomassa mercerizada, temperatura e tempo. **Fonte:** Autora (2023).

A partir da análise dos dados apresentados na Figura 23 e na tabela 18, é evidente que, dos efeitos principais, apenas a biomassa mercerizada e a temperatura demonstram significância estatística em relação ao rendimento mássico. Demonstrando que o aumento da temperatura e o tipo de biomassa levam a redução do rendimento na reação de hidrólise, já a combinação dos efeitos secundários promove um aumento deste. Também apresentaram significância estatística todos os efeitos secundários. Os efeitos do fator tempo e o de interação de terceira ordem não foram significativos.

A tabela 19 apresenta os resultados dos efeitos principais e efeitos de interação de segunda e terceira ordem, obtidos a partir do planejamento experimental 2<sup>3</sup>, para os fatores biomassa branqueada, temperatura e tempo. Enquanto a figura 24 apresenta os resultados obtidos para análise dos efeitos para os três fatores avaliados e quais desses possuem significância estatística de acordo com a distribuição T-Student e nível de confiança de 95%.

**Tabela 17:** Efeitos principais e efeitos de interação dos fatores biomassa *Sargassum* e *Padina* branqueada, temperatura (°C) e tempo (min) avaliados no rendimento em massa.

<b>Biomassa Branqueada</b>	
Média Global	27,18±0,64
<b>Efeitos Principais</b>	
1. Biomassa Branqueada	11,03±1,28
2. Temperatura	-3,24±1,28
3. Tempo	-0,71±1,28
<b>Efeitos de Interação</b>	
12	-5,45±1,28
13	0,30±1,28
23	7,12±1,28
123	-1,88±1,28



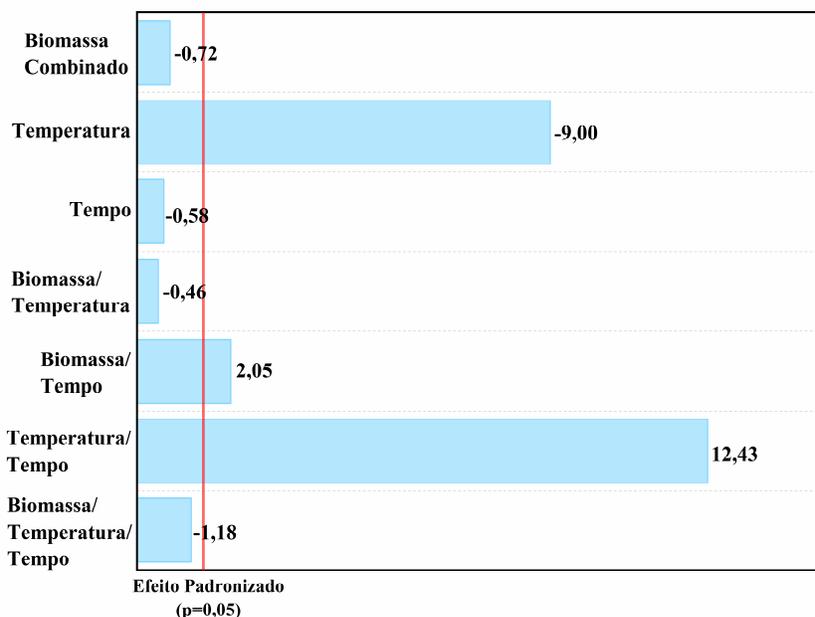
**Figura 24:** Efeitos de principais e secundários para a biomassa branqueada, temperatura e tempo. **Fonte:** Autora (2023).

Ao realizar a análise das informações apresentadas na Figura 24 e na tabela 19, é evidente que, dos efeitos principais, a biomassa branqueada exerce uma influência mais significativa, sugerindo que o gênero *Padina* sp. possui uma maior capacidade de conversão via hidrólise com ácido sulfúrico. Além disso, para a biomassa branqueada, a temperatura continua a reduzir o rendimento quando elevada de 45°C para 60°C. Entre os efeitos de interação secundários, apenas a interação entre biomassa branqueada e tempo não demonstrou significância estatística. Vale ressaltar que os efeitos do fator tempo e o efeito de interação de terceira ordem não foram significativos para a biomassa branqueada.

A tabela 20 apresenta os resultados dos efeitos principais e efeitos de interação de segunda e terceira ordem, obtidos a partir do planejamento experimental 2<sup>3</sup>, para os fatores biomassa submetida ao tratamento combinado, temperatura e tempo. Enquanto a figura 25 apresenta os resultados obtidos para análise dos efeitos para os três fatores avaliados e quais desses possuem significância estatística de acordo com a distribuição T-Student e nível de confiança de 95%.

**Tabela 18:** Efeitos principais e efeitos de interação dos fatores biomassa submetida ao tratamento combinado, temperatura (°C) e tempo (min) avaliados no rendimento em nanocristais de celulose.

<b>Biomassa Mercerizada e Branqueada</b>	
Média Global	32,83±0,31
<b>Efeitos Principais</b>	
1. Biomassa Tratamento	-0,72±0,63
Combinado	
2. Temperatura	-9,00±0,63
3. Tempo	-0,58±0,63
<b>Efeitos de Interação</b>	
12	-0,46±0,63
13	2,05±0,63
23	12,43±0,63
123	-1,18±0,63



**Figura 25:** Efeitos de principais e secundários para a biomassa submetida ao tratamento combinado (mercerizada seguido do branqueamento), temperatura e tempo. **Fonte:** Autora (2023).

Ao observar a análise dos dados apresentados na Figura 25 e na tabela 20, é possível perceber que o aumento sugerido da área superficial específica e a remoção de

impurezas da biomassa, resultante do pré-tratamento combinado, torna a biomassa mais sensível a influência da temperatura. Neste contexto, para esse pré-tratamento específico, apenas a temperatura emerge como efeito principal estatisticamente significativo. Em relação aos efeitos secundários, observa-se que apenas a interação entre biomassa e temperatura não apresenta significância estatística, um comportamento provavelmente atribuível à padronização alcançada na biomassa após a remoção de lignina e hemicelulose. Além disso, o efeito de interação de terceira ordem não demonstrou significância estatística para a biomassa submetida ao tratamento combinado.

Os dados apresentados para todas as análises estatísticas realizadas demonstram que os tempos avaliados não possuem significância estatística sobre o rendimento em massa da hidrólise ácida realizada com ácido sulfúrico a 64%. No entanto, as características da biomassa e a temperatura exercem uma influência significativa, principalmente para a biomassa mercerizada.

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para comparar a influência entre os vários pré-tratamentos aplicados à mesma biomassa, e os resultados mostraram que para a macroalga do gênero *Padina* sp. o tempo como efeito principal e como efeito de interação de segunda ordem associado a biomassa pré-tratada não apresentou significância estatística. No entanto, o efeito de interação de terceira ordem entre tempo, temperatura e biomassa pré-tratada foi estatisticamente significativo. A mesma análise realizada para o gênero *Sargassum* sp., para essa biomassa pré-tratada o tempo como efeito principal apresentou significância estatística, mas o efeito de interação de segunda ordem entre o tempo e a biomassa pré-tratada não apresentou significância estatística. A tabela 21 apresenta os resultados da análise variância (ANOVA) demonstrando quais dos efeitos apresentam significância estatística ao comparar os fatores tempo, temperatura e biomassa pré-tratada.

**Tabela 19:** Efeitos de primeira ordem e efeitos de interação avaliados no rendimento em nanocristais de celulose.

<i>Sargassum sp.</i>					
Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Quadrado Médio	F <sub>calculado</sub>	p – valor*
Tempo	1	64,03	64,03	18,47254	0,00104
Temperatura	1	908,78	908,78	262,17597	<0,0001
Biomassa pré-tratada	2	7958,24	3979,12	1147,9352	<0,0001
Tempo-Temperatura	1	660,27	660,27	190,48284	<0,0001
Tempo-Biomassa pré-tratada	2	25,29	12,64	3,64904	0,05781
Temperatura-Biomassa pré-tratada	2	1103,05	551,52	159,10923	<0,0001
Tempo-Temperatura-Biomassa pré-tratada	2	29,61	14,80	4,27126	0,03973
<i>Padina sp.</i>					
Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Quadrado Médio	F <sub>calculado</sub>	p – valor*
Tempo	1	5,57	5,57	1,33172	0,27097
Temperatura	1	725,40	725,40	173,16802	<0,0001
Biomassa pré-tratada	2	1824,62	912,31	217,78733	<0,0001
Tempo-Temperatura	1	469,86	469,86	112,16568	<0,0001
Tempo-Biomassa pré-tratada	2	5,79	2,89	0,69152	0,51971

Temperatura- Biomassa pré- tratada	2	44,61	22,30	5,32546	0,02211
Tempo- Temperatura- Biomassa pré- tratada	2	40,35	20,17	4,81639	0,02913

\* Significativo ao nível de 5% pelo teste T-Student.

Ao analisar as informações fornecidas pela análise estatística realizada para as várias combinações de condições operacionais, observamos um indicativo de que, entre os fatores principais estudados, o fator tempo nas condições estudadas (45min e 60min) não apresenta significância estatística na maioria dos conjuntos analisados. Esse resultado é consistente com um estudo anteriormente realizado por Mihhels *et al.* (2023), que avaliou a significância estatística do parâmetro tempo sobre o rendimento em nanocristais de celulose, utilizando a hidrólise ácida e a macroalga *Cladophora glomerata*. Além disso, ao observar os dados da análise estatística, é possível concluir que a temperatura e o pré-tratamento da biomassa exercem influência significativa sobre o rendimento das reações de hidrólise ácida, e o aumento da temperatura leva a redução do rendimento em massa da reação, esse comportamento da redução do rendimento com o aumento da temperatura também foi relatado por Merlini *et al.* (2018), utilizando como biomassa fibras de polpa kraft. Vale ressaltar que, para algumas condições, o parâmetro tempo apresentou significância estatística quando combinado com outros parâmetros. Demonstrando que há um indicativo de que a obtenção de nanocristais de celulose via hidrólise ácida, utilizando biomassa das macroalgas marrons dos gêneros *Padina* sp. e *Sargassum* sp. pode ser realizada em condições operacionais mais brandas quando comparada a outras biomassas.

#### 4.3.1.2. Influência da hidrólise ácida sobre o potencial zeta

O potencial zeta foi empregado para avaliar a força de atração ou repulsão entre os nanocristais de celulose formados, sendo considerado um parâmetro importante na caracterização da estabilidade da suspensão (Adel *et al.*, 2018; Makowski *et al.*, 2019; Feng, Zarei e Mousavipour, 2023). Como regra geral valores de potencial zeta, entre -30

e 30mV, são indicativos de uma propensão para agregação de partículas (Makowski *et al.*, 2019). Os dados referentes ao potencial zeta para todas as suspensões de nanocristais de celulose são apresentados na tabela 18.

**Tabela 20:** Dados para o potencial zeta das suspensões de nanocristais de celulose.

Amostras		Potencial Zeta (mV)
SM	(T45t45)	-50,6±8,76
	(T60t45)	-51,8±5,49
	(T45t90)	-41,7±5,65
	(T60t90)	-45,3±6,37
SB	(T45t45)	-42,5±4,83
	(T60t45)	-46,8±6,56
	(T45t90)	-41,6±6,37
	(T60t90)	-44,2±5,90
SMB	(T45t45)	-66,4±7,90
	(T60t45)	-49,2±6,93
	(T45t90)	-60,0±7,30
	(T60t90)	-47,5±6,85
PM	(T45t45)	-52,0±6,66
	(T60t45)	-54,2±7,77
	(T45t90)	-45,6±7,93
	(T60t90)	-42,5±4,91
PB	(T45t45)	-44,7±4,45
	(T60t45)	-48,1±5,62
	(T45t90)	-39,8±4,11
	(T60t90)	-42,3±7,71
PMB	(T45t45)	-60,8±10,7
	(T60t45)	-47,3±5,58
	(T45t90)	-63,9±9,23
	(T60t90)	-41,5±6,29

Ao analisar os dados apresentados da tabela 18, observa-se que o potencial zeta de todas as suspensões de nanocristais de celulose apresentaram valores absolutos superiores a 30mV, indicando uma boa estabilidade da suspensão. Esses valores são compatíveis com os obtidos em outros estudos, como o realizado utilizando a macroalga *Laminaria japonica* -61,5mV (Liu *et al.*, 2017), *Citrus limon* entre -31,27mV e -55,67mV (Zhang *et al.*, 2020), e polpa de eucalipto branqueada entre -33mV e -41mV (Wang *et al.*, 2021).

Além disso, os resultados mostram semelhanças para a biomassa submetida ao mesmo tipo de pré-tratamento, sugerindo que a biomassa submetida ao tratamento alcalino, mercerização, apresenta uma maior estabilidade quando comparada a biomassa apenas branqueada.

A boa estabilidade da suspensão de nanocristais obtidos via hidrólise com ácido sulfúrico é esperada devido à funcionalização parcial dos grupos hidroxila da superfície dos nanocristais de celulose com semi-ésteres de sulfato durante a hidrólise (Zhang *et al.*, 2020). As forças de atração/repulsão causam uma estabilização aniônica na dupla camada elétrica dos cristais, resultando em cristais estáveis em suspensões coloidais. Essa estabilidade da suspensão favorece sua aplicação na preparação de nanocompósitos, facilitando a dispersão do material nanoestruturado em matrizes poliméricas (Liu *et al.*, 2017; Naduparambath *et al.*, 2018).

#### 4.3.2. Caracterização dos Nanocristais de Celulose

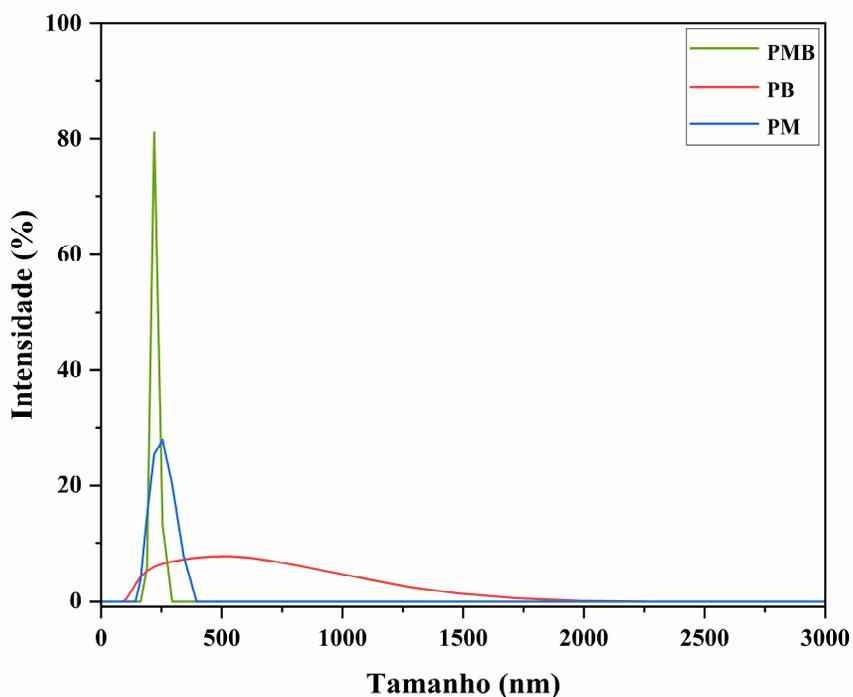
A escolha das condições operacionais que resultaram nos maiores rendimentos na reação de hidrólise ácida, com uma temperatura de 45°C e um tempo de 45min, foi feita considerando que rendimento é um fator crucial na determinação da viabilidade econômica de um processo. Os nanocristais de celulose obtido nessas condições foram selecionados para caracterização, visando avaliar possíveis diferenças estruturais decorrente do pré-tratamento da biomassa.

##### 4.3.2.1. Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)

Os ensaios por espalhamento de luz dinâmica foram utilizados para estimar o tamanho aproximado do material nanoestruturado obtido. Esta técnica baseia-se na aproximação do material avaliado a uma partícula esférica em suspensão, resultando em

uma estimativa com um tamanho médio aproximado (Zhang *et al.*, 2020; Rubiyah *et al.*, 2023). No entanto, quando aplicada para analisar estruturas que não possuem formato de esferas ou próximo desse, como é o caso dos nanocristais de celulose, que possuem formato de haste, a técnica apresenta limitações na estimativa do tamanho, pois os nanocristais podem ser observados em seu diâmetro ou comprimento (Bhattacharjee, 2016). Assim, a técnica não pode ser utilizada isoladamente para determinar o tamanho médio do material nanoestruturado.

A técnica foi, então, empregada para comparar os tamanhos médios estimados do material obtido e assim verificar as possíveis influências do pré-tratamento da biomassa sobre o tamanho médio do material. A figura 26 apresenta os tamanhos médios do material obtido para as reações de hidrólise ácida a partir da macroalga *Padina sp.* pré-tratada para as condições que apresentaram os maiores rendimentos.



**Figura 26:** Curvas de DLS para as amostras hidrolisadas da macroalga *Padina sp.* pré-tratada. **Fonte:** Autor, 2023.

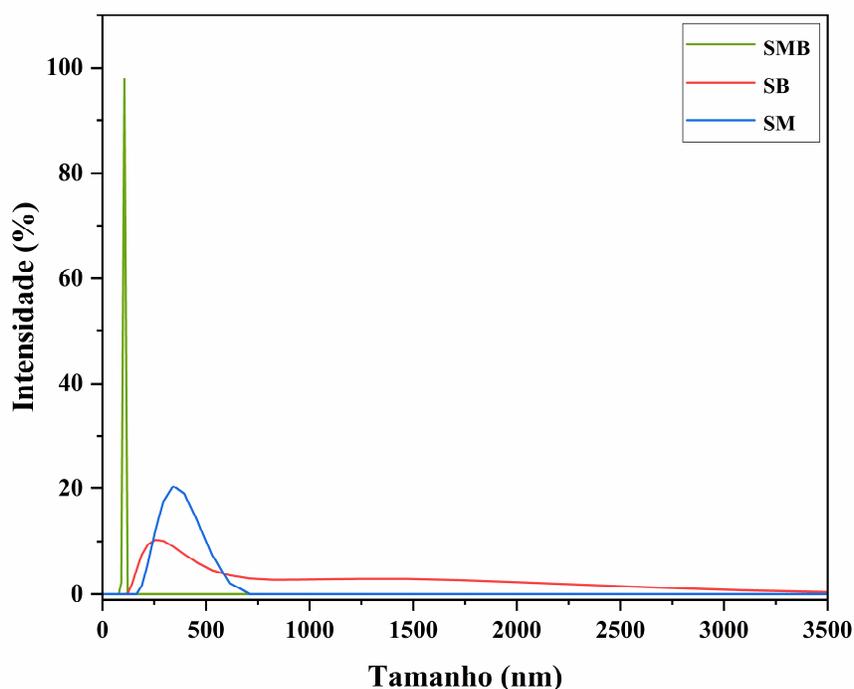
Ao analisar a distribuição de tamanhos médios obtida para o hidrolisado da biomassa após o pré-tratamento combinado (mercerização e branqueamento), observou-se que o material estava distribuído em uma faixa de tamanho de 164nm a 300nm, valores semelhantes aos encontrados no estudo desenvolvido por Liu *et al.* (2017). Notou-se também que a nanocelulose obtida a partir da biomassa submetida à

mercerização apresentou tamanhos médios numa escala mais ampla quando comparada ao tratamento combinado, variando entre 142 e 400nm, porém ainda próximos, sugerindo que com esse tratamento é possível obter nanocristais de celulose.

Já a curva obtida para a biomassa de *Padina* sp. branqueada mostra que esse tratamentoproduziu hidrolisado com tamanhos mais heterogêneos e distribuídos em uma faixa mais ampla, indicando que essas amostras realmente não estão em escala nano.

Esses resultados ressaltam a importância de avaliar não apenas os tamanhos médios, mas também a distribuição e a heterogeneidade do hidrolisado ao extrair nanocelulose a partir de diferentes pré-tratamentos.

A figura 27 apresenta os tamanhos médios do material obtido para as reações de hidrólise ácida a partir da macroalga *Sargassum* sp. pré-tratada para as condições que apresentaram os maiores rendimentos.



**Figura 27:**Curvas de DLS para as amostras hidrolisadas da macroalga *Sargassum* sp. pré-tratada.**Fonte:** Autor, 2023.

Ao analisar as curvas obtidas pela técnica DLS para a biomassa *Sargassum* sp. pré-tratada, é possível verificar que o resultado da hidrólise da biomassa submetida ao tratamento combinado apresentou uma faixa menor de distribuição de tamanho médio, variando entre 78 e 122nm, sugerindo uma maior homogeneidade. O material obtido para a biomassa submetida ao tratamento combinado, assim como aconteceu com a macroalga *Padina* sp., é o que apresenta a menor faixa de tamanho médio.

Por outro lado, a distribuição de tamanho médio para mercerizada variou entre 164 e 700nm, uma faixa mais ampla que a obtida a partir da macroalga *Padina* sp. Uma tendência semelhante foi notada para o hidrolisado obtido a partir da biomassa branqueada.

As curvas de DLS apresentam uma visão geral da distribuição de tamanho do material avaliado, auxiliando no estudo da possível influência dos vários pré-tratamentos realizados sobre esse parâmetro. No entanto, devido as suas limitações, não é o método apropriado para definir o tamanho exato do produto da hidrólise ácida.

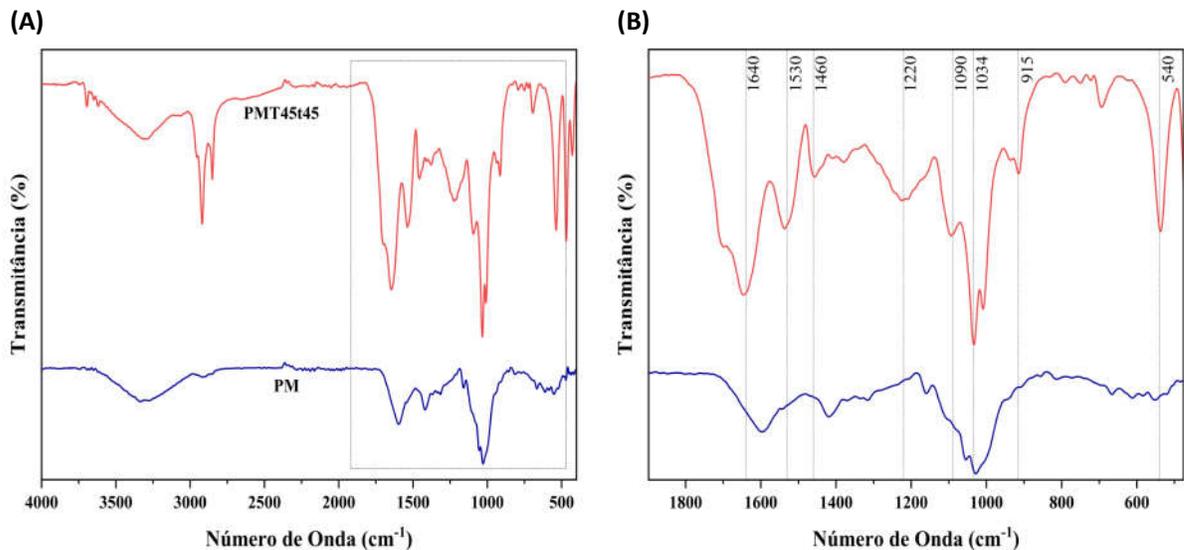
#### 4.3.2.2. Espectroscopia da Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros realizados na região de infravermelho da nanocelulose produzida após a reação de hidrólise a partir da biomassa de *Sargassum* sp. e *Padina* sp. pré-tratada mostram as diferenças na composição química entre a nanocelulose produzida e biomassa submetida à pré-tratamento. As figuras 28, 29, 30, 31, 32 e 33 ilustram as alterações ocorridas na estrutura química das amostras das macroalgas *Padina* sp. e *Sargassum* sp. após tratamento químico e os nanocristais de celulose obtidos a partir de cada um desses precursores.

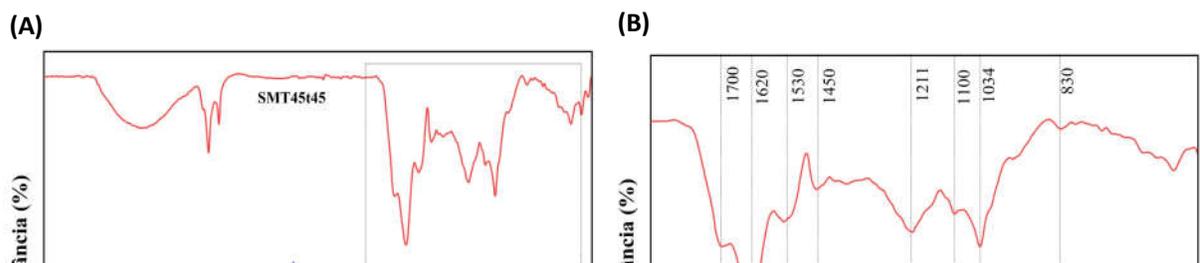
Nas figuras 28 e 29 observam-se os espectros de FTIR das amostras de *Padina* sp. mercerizada e *Sargassum* sp. mercerizada, respectivamente, e após a hidrólise ácida realizada a uma temperatura de 45°C por 45min. No espectro da amostra hidrolisada, observa-se o aumento de todos os picos característicos da celulose. Em torno de 2900  $\text{cm}^{-1}$ , há a vibração da ligação carbono-hidrogênio típica da celulose (Wang *et al.*, 2022; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023). O pico em 1640  $\text{cm}^{-1}$  é devido à flexão da molécula de água absorvida na celulose (Singh *et al.*, 2017; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023) e ao estiramento da ligação carbono-oxigênio (Liu *et al.*, 2018). Em 1460  $\text{cm}^{-1}$ , ocorre a deformação simétrica do  $\text{CH}_2$  da celulose (Wang *et al.*, 2022). O pico em 1220  $\text{cm}^{-1}$  indica a presença de estiramento do grupo sulfato (Fauziee *et al.*, 2021). Os picos 1090  $\text{cm}^{-1}$  e 1034  $\text{cm}^{-1}$  decorrem das vibrações de alongamento do anel piranose COC da celulose (Hafid *et al.*, 2021). O pico 915  $\text{cm}^{-1}$  é atribuído a grupos carbono-oxigênio-carbono da ligação  $\beta$ -glicosídica (Hafid *et al.*, 2021; Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023), e o pico em 540  $\text{cm}^{-1}$  devido a deformação da ligação carbono-carbono-oxigênio e rotação da ligação carbono-oxigênio presente nos

carboidratos, além de estiramentos e deformações ligadas a presença de funcanas (Oliveira *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2017).

Observa-se a manutenção dos picos característicos da celulose, alguns com aumento de intensidade. Por exemplo, os picos em  $1090\text{ cm}^{-1}$  e  $1034\text{ cm}^{-1}$  aumentam de intensidade indicando o aumento da concentração de celulose durante o processo de hidrólise ácida. Por outro lado, outros picos são eliminados ou reduzidos devido à remoção de lignina e hemicelulose. Essa remoção é confirmada pelo desaparecimento ou redução do pico em torno de  $1600\text{ cm}^{-1}$ , atribuído principalmente ao estiramento de ácidos carboxílicos, presentes principalmente nas estruturas de hemicelulose (Doh, Lee e Whiteside, 2020).

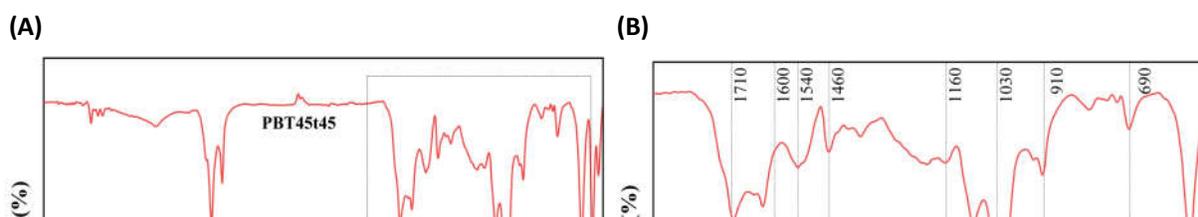


**Figura 28:** (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga *Padina* sp. mercerizada e após hidrólise ácida (temperatura de  $45^{\circ}\text{C}$  e tempo de 45 min), e (B) destaque da região de  $1900 - 500\text{ cm}^{-1}$ . **Fonte:** Autor, 2023.

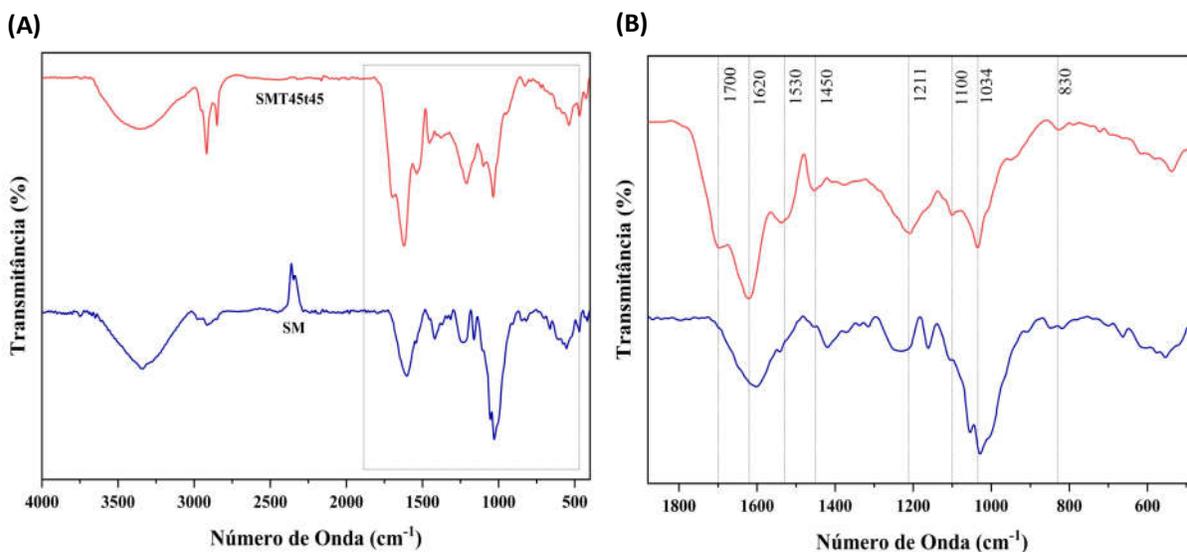


**Figura 29:** (A) Curva de FTIR com espectro das amostras da macroalga *Sargassum* sp. mercerizada e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região de 1900 – 500 cm<sup>-1</sup>. **Fonte:** Autor, 2023.

Nas figuras 30 e 31, observam-se os espectros de FTIR, das amostras de *Padina* sp. branqueada e *Sargassum* sp. branqueada, respectivamente, e após a hidrólise ácida realizada a uma temperatura de 45°C por um tempo de 45 min. No espectro da amostra hidrolisada, nota-se ao aumento de todos os picos característicos da celulose. De forma semelhante ao espectro de FTIR apresentado para a biomassa mercerizada, onde os picos característicos da celulose são mantidos, tais como o pico em torno de 2900cm<sup>-1</sup> e 1640cm<sup>-1</sup>, entre os picos 1220 cm<sup>-1</sup> e 898 cm<sup>-1</sup>. É possível também notar a redução de picos característicos de lignina e hemicelulose, 1580 cm<sup>-1</sup> e 1600 cm<sup>-1</sup>, respectivamente (Singh *et al.*, (2017); Doh, Lee e Whiteside, 2020; Samsalee e Sothornvit, 2023)

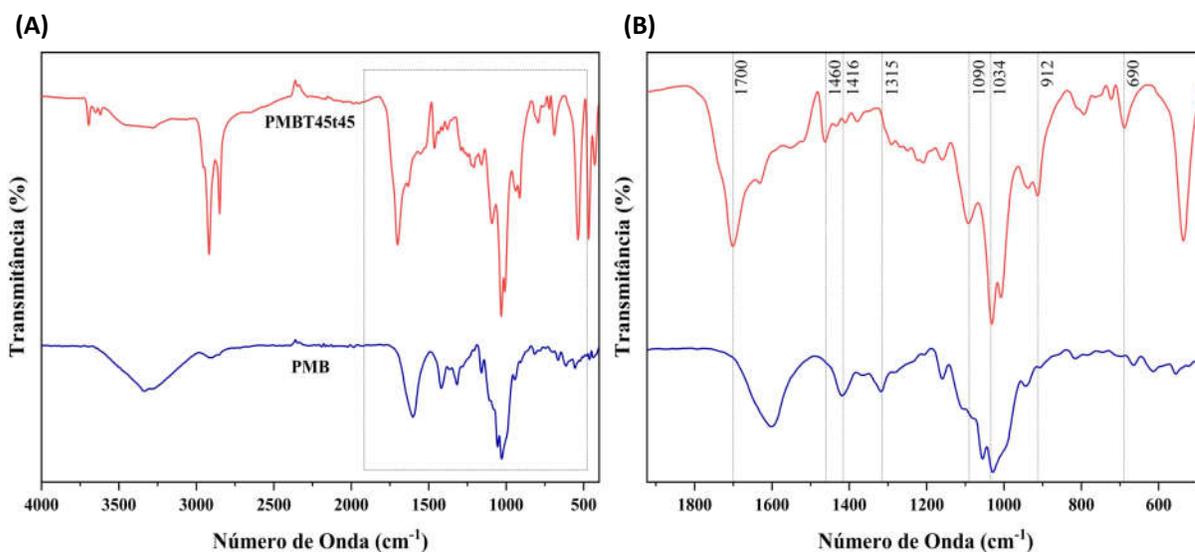


**Figura 30:** (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga *Padina* sp. branqueada e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45min), e (B) destaque da região de 1900 – 500  $\text{cm}^{-1}$ . **Fonte:** Autor, 2023.

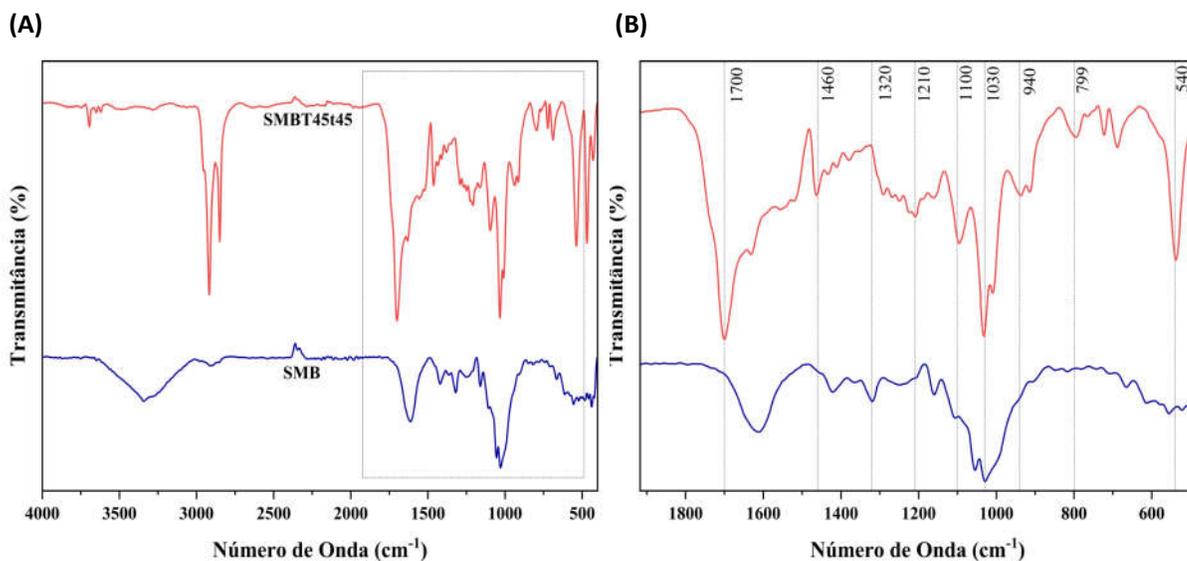


**Figura 31:** (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga *Sargassum* sp. branqueada e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região de 1900 – 500  $\text{cm}^{-1}$ . **Fonte:** Autor, 2023.

As figuras 32 e 33 apresentam as curvas de FTIR com o espectro das amostras das macroalgas *Padina* sp. e *Sargassum* sp., respectivamente, submetidas ao tratamento combinado e após hidrólise ácida.



**Figura 32:** (A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga *Padina* sp. submetida ao tratamento combinado e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região 1900 – 500 cm<sup>-1</sup>. **Fonte:** Autor, 2023.



**Figura 33:**(A) Curva de FTIR com o espectro das amostras da macroalga *Sargassum* sp. submetida ao tratamento combinado e após hidrólise ácida (temperatura 45°C e tempo 45 min), e (B) destaque da região 1900 – 500 cm<sup>-1</sup>. **Fonte:** Autor, 2023.

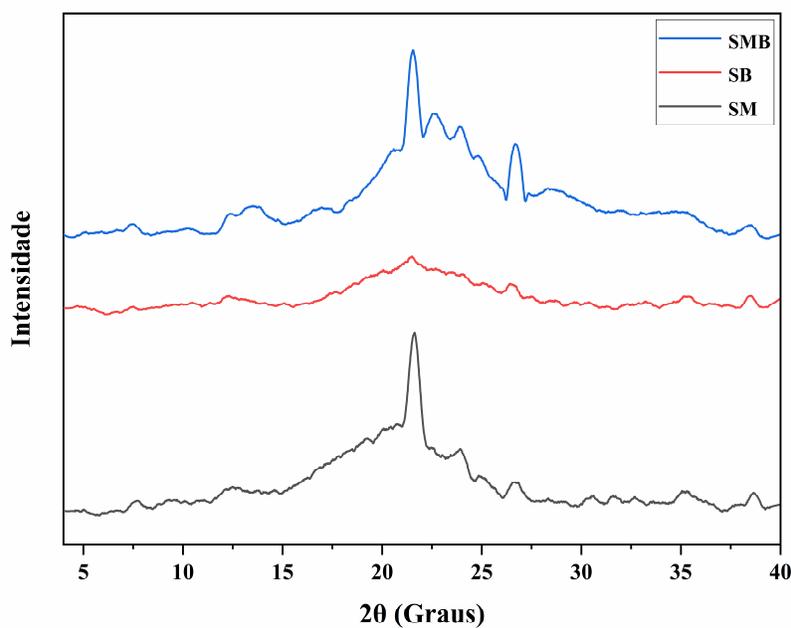
De forma análoga aos espectros de FTIR obtidos para os tratamentos químicos anteriores, neste também observamos o aumento de intensidade dos picos de celulose e redução de picos característicos de impurezas, como a hemicelulose.

Resultados semelhantes aos apresentados foram obtidos por Singh et al. (2017) ao estudarem a obtenção de nanocristais de celulose a partir da macroalga *Gelidiella aceroso* pré-tratada via hidrólise ácida. Os espectros de FTIR demonstraram que a nanocelulose apresentou picos característicos da celulose semelhantes aos obtidos neste estudo, tais como:  $2900\text{ cm}^{-1}$ ,  $1640\text{ cm}^{-1}$ ,  $1110\text{ cm}^{-1}$  e  $898\text{ cm}^{-1}$ .

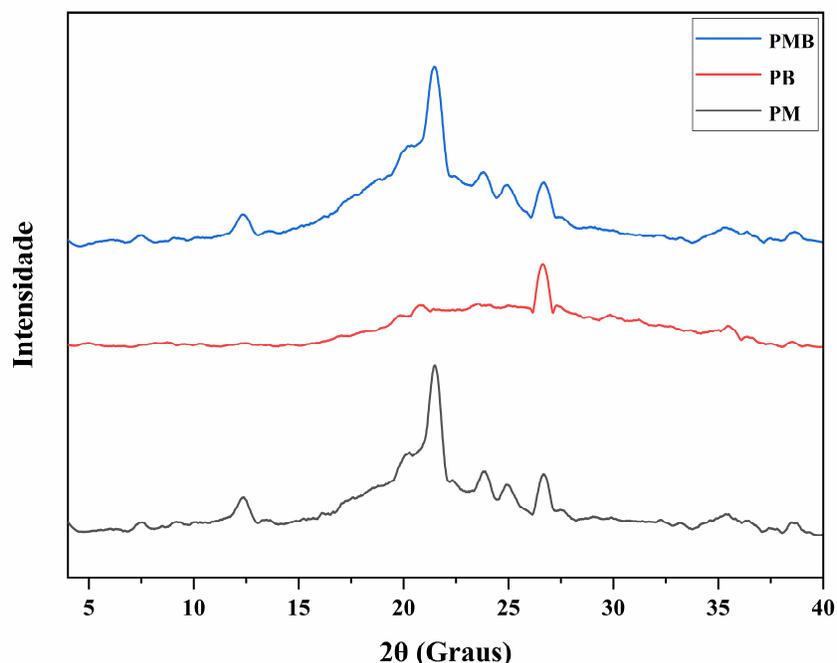
O mesmo comportamento para os picos característicos da celulose foi percebido para a nanocelulose obtida a partir de outras biomassas, tais como: fibras de bambu (Rasheed et al., 2020; Singh et al., 2023), bagaço de tomate (Moradi e Fathi, 2023), *Sargassum fluitans*, *Palmaria palmate*, *Porphyra umbilicalis*, *Ulva lactuta* e *Arthrospira máxima* (Doh, Lee e Whiteside, 2020), casca de arroz (Hafid et al., 2021, Samsalee, Meerasri e Sothornvit, 2023) e *Gelidium elegans* (Chen et al., 2016).

#### 4.3.2.3. Difração de Raio X (DRX)

Os difratogramas das amostras submetidas a hidrólise ácida são apresentados nas figuras 34 e 35.



**Figura 34:** Difratogramas dos hidrolisados obtidos a partir da macroalga *Sargassum* sp. pré-tratada. **Fonte:** Autor, 2023.



**Figura 35:** Difratogramas dos hidrolisados obtidos a partir da macroalga *Padina* sp. pré-tratada. **Fonte:** Autor, 2023.

Ao analisar os difratogramas nas figuras 34 e 35, é possível observar que para amostras obtidas a partir das macroalgas mercerizada e submetidas ao tratamento combinado, seguido da hidrólise ácida, apresentaram picos de difração característicos de celulose bem conhecidos, situados entre  $13^\circ \leq 2\theta \leq 15^\circ$  e  $18^\circ \leq 2\theta \leq 22,5^\circ$ . O pico em  $2\theta$  de  $22,5^\circ$  mostra a configuração cristalina típica da celulose I (Rashid e Dutta, 2020; Hafid *et al.*, 2023;), demonstrando que o tratamento alcalino não mudou a configuração conformacional da celulose nativa para celulose II.

Os difratogramas demonstram que para as macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp. após os pré-tratamento de mercerização e combinado, seguido da hidrólise ácida, foi possível extrair nanocelulose. Esses resultados estão de acordo com os espectros de FTIR apresentados, onde todos os picos característicos da celulose são intensificados. O índice de cristalinidade calculado a partir da equação Segal (1979) são apresentados na tabela 21.

**Tabela 21:** Índice de cristalinidade obtidos a partir das macroalgas *Padina* sp. e *Sargassum* sp. pré-tratadas via hidrólise ácida.

<b>Biomassa</b>	<b>Índice de Cristalinidade (Ic)</b>
SM	70,95%
SB	39,81%
SMB	88,13%
PM	78,79%
PB	36,31%
PMB	87,46%

Os Ic das amostras submetidas aos tratamentos de mercerização e ao combinado demonstram que a cristalinidade da biomassa melhorou progressivamente durante o processo de extração química, este fato pode ser confirmado com os dados de DSL para essas amostras, sendo possível notar uma redução de tamanho mais elevada com diminuição do teor de impurezas. Isso porque a biomassa com maiores teores de celulose sofre ação dos íons hidrônios mais facilmente nas regiões amorfas e quebram as ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas da cadeia de celulose liberando os cristais de celulose.

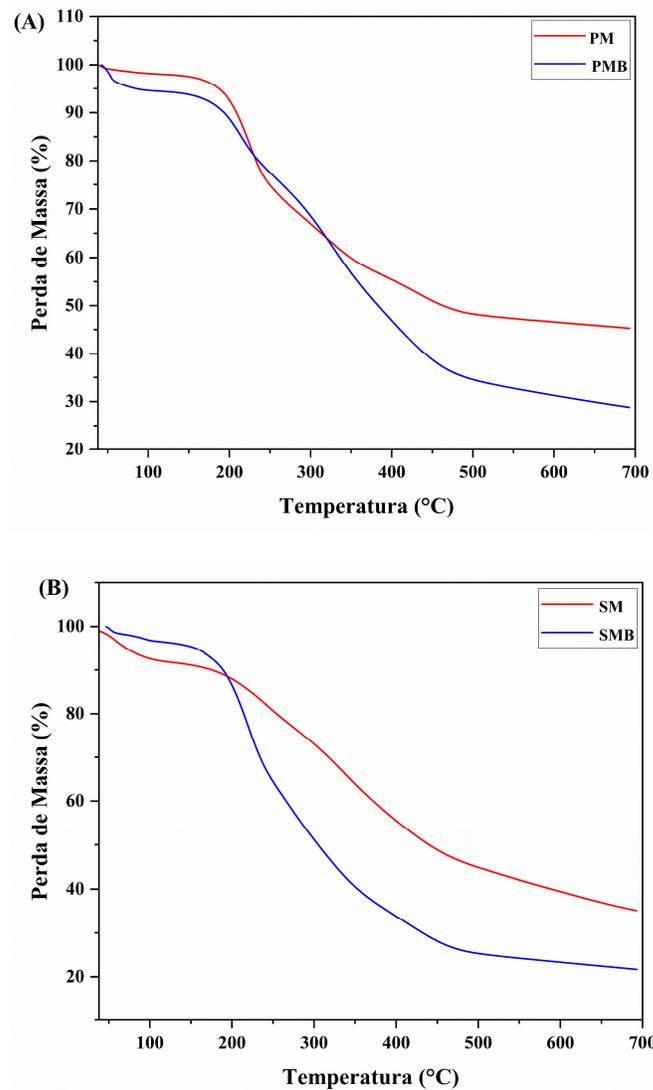
As amostras de hidrolisado obtidas a partir da biomassa submetida apenas ao branqueamento, PB e SB, apresentaram os menores índices de cristalinidade. Esse comportamento era esperado, uma vez que, de acordo com os dados de tamanho médio do hidrolisado, estavam fora da escala nano, variando entre 100nm e 1720nm para a *Padina* sp. e entre 120nm e 3000nm para a *Sargassum* sp. Foi observado um pico característico de trimetilcelulose,  $2\theta=25^\circ$ . Além disso, é importante notar a presença de outros picos, que podem ser atribuídos a impurezas presentes na biomassa das macroalgas (Bettaieb *et al.*, 2015).

Um elevado índice de cristalinidade é um parâmetro crucial, indicando que os nanocristais de celulose produzidos podem elevar a resistência à tração quando associado em matriz, ampliando suas possibilidades de aplicações como material de reforço (Singh *et al.*, 2017; Doh, Lee e Whiteside, 2020). Os índices de cristalinidade encontrados para os nanocristais de celulose a partir da biomassa mercerizada e submetida ao tratamento combinado são semelhantes aos obtidos a partir de outras biomassas, tais como: macroalga *Posidonia oceanica*, entre 41 e 60% (Bettaieb *et al.*,

2015), *Gelidiella aceroso*, 60% (Singh *et al.*, 2017) e bagaço de tomate, entre 56 e 79% (Moradi e Fathi, 2024).

#### 4.3.2.4. Termogravimétrica (TGA)

A figura 36 (A) e (B) mostra as curvas termogravimétricas (TGA) dos nanocristais de celulose obtidos a partir da biomassa mercerizada e submetida ao tratamento combinado.



**Figura 36:** Análise Termogravimétrica (A) Nanocristais de celulose obtidos a partir da macroalga *Padina* sp., (B) Nanocristais de celulose obtidos a partir da macroalga *Sargassum* sp. **Fonte:** Autor, 2023.

Todas as amostras de nanocristais de celulose, obtidas a partir das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp., submetidas aos pré-tratamentos de mercerização e combinado, apresentaram um primeiro evento de decomposição térmica abaixo de 100 °C, provavelmente devido à dessorção da água e/ou umidade em sua superfície (Liu *et al.*, 2017; Zhu *et al.*, 2023). É importante ressaltar que as amostras branqueadas não passaram por análise térmica devido ao seu baixo índice de cristalinidade e tamanho médio elevado. fora da escala nano, em comparação com os outros pré-tratamentos avaliados.

Os NCC apresentaram uma maior perda de massa próximos a 190°C, com  $T_{\text{onset}}$  entre 177 e 188°C para a *Padina* sp. e entre 173 e 191°C para a *Sargassum* sp., aproximadamente 11°C menor quando comparados a biomassa *Padina* sp. mercerizada com a que sofreu tratamento combinado e para a *Sargassum* sp. aproximadamente 18°C menor quando comparados a biomassa com tratamento combinado. Essa menor estabilidade pode ser explicada pela substituição dos grupos hidroxila por grupos sulfato durante a hidrólise, reduzindo assim a energia de ativação para a degradação da celulose.

O evento térmico presente entre 180 e 275°C para a macroalga *Padina* sp. e entre 200 e 300°C para a macroalga *Sargassum* sp. está provavelmente relacionado a decomposição da hemicelulose seguida da degradação da celulose, correspondendo essencialmente à processos de despolimerização, desidratação e decomposição de unidades de glicosil (Zhu *et al.*, 2023).

A presença de uma maior quantidade de cinzas a 700 °C referente aos NCC provenientes da biomassa mercerizada, quando comparados aos da biomassa submetida ao tratamento combinado, pode estar relacionado a presença da lignina e hemicelulose residual, que aumenta a proporção de carbono presente na amostra.

## 5. CONCLUSÃO

Essa tese avaliou o potencial das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp. para extração de nanocristais de celulose, analisando as características químicas e morfológicas da biomassa e verificando a influência de parâmetros operacionais e pré-tratamento da biomassa sobre o rendimento mássico da hidrólise com ácido sulfúrico.

A caracterização da biomassa mostrou composição semelhante entre as macroalgas estudadas, principalmente com relação ao elevado teor de celulose e baixo teor de lignina, quando comparadas as plantas superiores. Esse fato torna esta biomassa uma fonte de celulose atrativa pela possibilidade de redução da necessidade de etapas de purificação e/ou condições mais brandas para sua realização.

Após análise dos resultados da caracterização química das amostras pré-tratadas das macroalgas *Sargassum* sp. e *Padina* sp., constatou-se que esses tratamentos podem ser considerados eficazes, pois reduziram impurezas, teores de lignina e hemicelulose na biomassa. Os melhores resultados com relação a redução de impurezas foram alcançados utilizando solução alcalina diluída seguida de apenas uma etapa de branqueamento com peróxido de hidrogênio, fato também apontado na microscopia eletrônica de varredura, indicativo de uma maior exposição das microfibrilas de celulose favorecendo a etapa de hidrólise ácida.

A avaliação dos efeitos dos pré-tratamentos nas macroalgas também foi realizada por meio de análise de FTIR. A avaliação dos efeitos da mercerização revelou que os picos característicos da celulose se tornaram mais intensos após o tratamento, enquanto picos característicos da lignina e hemicelulose foram reduzidos. Esse comportamento também foi observado na biomassa submetida ao tratamento de branqueamento e combinado. No entanto, a biomassa submetida à mercerização principalmente para as condições operacionais mais brandas utilizadas no estudo (temperatura de 45°C e tempo 45 min) apresentou melhores rendimentos em massa das reações de hidrólise, variando entre 67,59% e 87,41% para a *Padina* sp. e *Sargassum* sp., respectivamente.

O processo de extração de nanocristais em todas as condições de pré-tratamento avaliadas teve sua melhor eficiência quando realizada no tempo de 45 min e a temperatura de 45°C. A análise de variância realizada demonstrou que tanto o tipo de pré-tratamento quanto à temperatura exerce influência significativa sobre o rendimento mássico das reações de hidrólise ácida, o que pode ser positivo, pois sugere que a reação

pode ser conduzida sob condições mais brandas. Todas as suspensões resultantes da hidrólise ácida apresentaram boa estabilidade com potencial zeta variando entre -39,8mV e -66,4mV, comportamento esperado devido a funcionalização da superfície dos nanocristais com íons sulfato.

O processo de caracterização dos nanocristais obtidos nas condições de hidrólise que apresentaram os maiores rendimentos em massa demonstrou que a estabilidade da suspensão foi melhor para as amostras submetidas aos pré-tratamentos de mercerização, com potencial zeta variando entre -50,6mV e -66,4mV para a *Sargassum Padina*, respectivamente. Eas submetidas ao combinado (mercerização e branqueamento) o potencial zeta variou entre -66,4mV e -60,8mV para a *Sargassumsp.* e *Padinasp.*, respectivamente.

Os dados da análise de DLS indicaram que a variação do tamanho médio dos sólidos da suspensão para as biomassas que passaram pelo tratamento combinado está dentro da escala nano para cerca de 60%, para a macroalga *Padina sp.* e com sólidos variando entre 164nm e 300nm. Já a macroalga *Sargassum sp.* mais de 80% de sólidos da suspensão estão na escala nano, com tamanho dos sólidos variando entre 78 e 122nm. Para a biomassa mercerizada, os tamanhos médios dos sólidos que estavam na escala nano foi menor que 20% para a *Padina sp.* e para a *Sargassum sp.*, porém se tem um indicativo de que esse pré-tratamento pode ser promissor para ser utilizado isoladamente sob outras condições operacionais de hidrólise,

Comportamento semelhante foi percebido com o índice de cristalinidade que variou entre 70,95% e 78,76% para a biomassa mercerizada e entre 88,13% e 87,46% para a biomassa submetida ao tratamento combinado. Indicando que a modificação provocada pelo tratamento alcalino favoreceu a redução do empacotamento e aumento da separação das cadeias de polissacarídeo, contribuindo para a ação do ácido durante o processo de hidrólise. Com base nesses resultados, as biomassas das macroalgas *Sargassum sp.* e *Padina sp.* surgem como fontes viáveis para a extração de nanocristais de celulose, sob condições operacionais mais brandas (temperatura de 45°C e tempo de 45 min) e pré-tratamento combinado, realizado com apenas uma etapa de branqueamento.

Esses resultados, associados à elevada produtividade e à possibilidade de obtenção de outros produtos de valor agregado, além da geração de renda para comunidades que vivem da aquicultura, fazem com que as macroalgas sejam uma alternativa promissora como fonte de celulose para extração de nanocelulose.

## **6. PERSPECTIVAS FUTURAS**

- Estudar outras rotas para obtenção de nanocristais de celulose a partir de macroalgas do litoral alagoas, como a utilização de líquidos iônicos e ácidos diluídos;
- Estudar a possibilidade de produção em cadeia de compostos de bioprodutos de valor agregado a partir das macroalgas;
- Estudar a influência de outros parâmetros operacionais, tais como tipo e concentração do ácido, sobre a hidrólise ácida das macroalgas;
- Estudar a produção de filmes reforçados com nanocristais de celulose e com adição de agente antioxidante extraído a partir de macroalgas.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABDELRHEEM, D. A.; RAHMAN, A. A.; ELSAYED, K. N. M.; EL-MAGEED, H. R. A.; MOHAMED, H. S.; AHMED, S. A. Isolation, characterization, *in vitro* anticancer activity, dft calculations, molecular docking, bioactivity score, drug-likeness and admet studies of eight phytoconstituents from brown alga *Sargassum platycarpum*. *Journal of Molecular Structure*, v. 1225, 2021.
- AGUIAR, J.; BONDANCIA, T. J.; CLARO, P. I. C.; MATTOSO, L. H. C.; FARINAS, C. S.; MARCONCINI, J. M. Enzymatic deconstruction of sugarcane bagasse and atraw to obtain cellulose nanomaterials. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 8, p. 2287-2299, 2020.
- AHMAD, Z.; IIS, S.; HALIM, Z.; SARIFUDDIN, N. Effect of fiber length variations on properties of coir fiber reinforced cement-albumen composite (CFRCC). *IJUM Engineering Journal*, v. 12, p. 63-76, 2011.
- ALIYU, A.; LEE, J. G. M.; HARVEY, A. P. Microalgae for biofuels via thermochemical conversion processes: A review of cultivation, harvesting and drying processes, and the associated opportunities for integrated production. *Bioresource Technology Reports*, v. 14, 2021.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.
- ANDRADE, P. B.; BARBOSA, M.; MATOS, R. P.; LOPES, G.; VINHOLES, J.; MOUGA, T.; VALENTÃO. Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chemistry*, v. 138, p. 1819-1828, 2013.
- ARAÚJO, A. A. S.; MERCURI, L. P.; SEIXAS, S. R. S.; STORPIRTIS, S.; MATOS, J. R. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 2, p. 269-277, 2006.
- BADMUS, U. O.; TAGGART, M. A.; BOYD, K. G. The effect of different drying methods on certain nutritionally important chemical constituents in edible brown seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, v. 31, p. 3883-3897, 2019.
- BAGHAEI, B.; SKRIFVARS, M.; BERGLIN, L. Manufacture and characterization of thermoplastics composites made from PLA/hemp co-wrapped hybrid yarn preregs. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, v. 50, p. 93-101, 2013.
- BAGHEL, R. S.; REDDY, C. R. K.; SINGH, R. P. Seaweed-based cellulose: Applications, and future perspectives. *Carbohydrate Polymers*, v. 267, 2021.
- BAHETI, V.; MISHRA, R.; MILITKY, J.; BEHERA, B. K. Influence of noncellulosic contents on nano scale refinement of waste jute fibers for reinforcement in polylactic acid films. *Fibers and Polymers*, v. 15, p. 1500-1506, 2014.
- BANGAR, S. P.; HARUSSANI, M. M.; ILYAS, R. A.; ASHOGBON, A. O.; SINGH, A.; TRIF, M.; JAFARI, S. M. Surface modifications of cellulose nanocrystals: Processes, properties and applications. *Food Hydrocolloids*, v. 130, 2022.

- BANSAL, P.; HALL, M.; REALFF, M. J.; LEE, J. H.; BOMMARIUS, A. S. Multivariate statistical analysis of X-ray data from cellulose: a new method to determine degree of crystallinity and predict hydrolysis rates. *Bioresource technology*, v. 101, p. 4461-4471, 2010.
- BARUAH, J.; DEKA, R. C.; KALITA, E. Greener production of microcrystalline cellulose (MCC) from *Saccharum spontaneum* (Kans Grass): Statistical optimization. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 154, p. 672-682, 2020.
- BEER, L. L.; BOYD, E. S.; PETERS, J. W.; POSEWITZ, M. C. Engineering algae for biohydrogen and biofuel production. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 20, p. 264-271, 2009.
- BEETUL, K.; GOPEECHUND, A.; KAULLYSING, D.; MATTAN-MOORGAWA, S.; PUCHOOA, D.; BHAGOOI, R. Challenges and opportunities in the present era of marine algal applications. In: *Algae – Organisms for Imminent Biotechnology*, 2016.
- BETTAIEB, F.; KHIARI, R.; HASSAN, M. L.; BELGACEM, M. N.; BRAS, J.; DUFRESNE, A.; MHENNI, M. F. Preparation and characterization of new cellulose nanocrystal from marine biomass *Posidonia oceanica*. *Industrial Crops and Products*, v. 72, p. 175-182, 2015.
- BHUTIYA, P. L.; MISRA, N.; ABDUL, R. M.; ZAHEER, H. S. Nested seaweed cellulose fiber deposited with cuprous oxide nanrods for antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 117, p. 435-444, 2018.
- BILATTO, S.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C.; FARINAS, C. S. Lignocellulose nanocrystals from sugarcane straw. *Industrial Crops & Products*, v. 157, 2020.
- BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, v. 70, p. 313-321, 1999.
- BRAS, J.; HASSAN, M. L.; BRUZESSE, C.; HASSAN, E. A.; EL-WAKIL, N. A.; DUFRESNE, A. Mechanical, barrier and biodegradability properties of bagasse cellulose whiskers reinforced natural rubber nanocomposites. *Industrial Crops and Products*, v. 32, p. 627-633, 2010.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae – A review of Technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 14, p. 557-577, 2010
- CAI, J.; LOVATELLI, A.; AGUILAR-MANJARREZ, J.; CORNISH, L.; DABBADIE, L.; DESROCHERS, A.; DIFFEY, S.; TAUATI, M.; HURTADO, A.; POTIN, P.; PRZYBYLA, C. Seaweeds and microalgae: an overview for unlocking their potential in global aquaculture development. *FAO Fisheries And Aquaculture Circular*, n. 1229, Rome, 2021.
- CALDEIRA, A. Q.; REIS, R. P. Brazilian macroalgae assemblages analyzed using the ecological evaluation index (EEI-c). *Ocean & Coastal Management*, v. 182, 2019.

- CAO, Y.; ZAVATERRI, P.; YOUNGBLOOD, J.; MOON, R.; WEISS, J. The influence of cellulose nanocrystal additions on the performance of cement paste. *Cement and Concrete Composites*, v. 56, p. 73-83, 2015.
- CHEN, C. Y., ZHAO, X. Q., YEN, H.W., HO, S. H., CHENG, C. L., LEE, D. J., BAI, F. W., CHANG, J. S. Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal*, v. 78, p. 1-10, 2013.
- CHEN, P.; CHO, S. Y.; JIN, J. Modification and applications of bacterial celluloses in polymer science. *Macromolecular Research*, v. 18, p. 309-320, 2010.
- CHEN, P.; CHO, S. Y.; JIN, J. Modification and applications of bacterial celluloses in polymer science. *Macromolecular Research*, v. 18, p. 309-320, 2010.
- CHEN, Y. W.; LEE, H. V.; JUAN, J. C.; PHANG, S. M. Production of new cellulose nanomaterial from red algae marine biomass *Gelidium elegans*. *Carbohydrate Polymers*, v. 151, p. 1210-1219, 2016.
- CORAÇÃO, A. C. S.; SANTOS, F. S.; DUARTE, J. A.; LOPES-FILHO, E. A. P.; DE-PAULA, J. C.; ROCHA, L. M.; KREPSKY, N.; FIAUX, S. B.; TEIXEIRA, V. L. What do we know about the utilization of the *Sargassum* species as biosorbents of trace metals in Brazil? *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 8, 2020.
- CORREIA, V. C. Produção e caracterização de polpa organossolve de bambu para reforço de matrizes cimentícias. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga. 2011.
- DEL RÍO, P. G.; DOMÍNGUEZ, E.; DOMÍNGUEZ, V. D.; ROMANÍ, A.; DOMINGUES, L.; GARROTE, G. Third generation bioethanol from invasive macroalgae *Sargassum muticum* using autohydrolysis pretreatment as first step of a biorefinery. *Renewable Energy*, v. 141, p. 728-735, 2019.
- DEL RÍO, P. G.; GULLÓN, B.; PÉREZ-PÉREZ, A.; ROMANÍ, A.; GARROTE, G. Microwave hydrothermal processing of the invasive macroalgae *Sargassum muticum* within a Green biorefinery scheme. *Bioresource Technology*, v. 340, 2021.
- DOH, H.; DUNNO, K. D.; WHITESIDE, W. S. Cellulose nanocrystal effects on the biodegradability with alginate and crude seaweed extract nanocomposite films. *Food Bioscience*, v. 38, 2020.
- DOH, H.; LEE, M. H.; WHITESIDE, W. S. Physicochemical characteristics of cellulose nanocrystals isolated from seaweed biomass. *Food Hydrocolloids*, v. 102, 2020.
- DOH, H.; WHITESIDE, W. S. Isolation of cellulose nanocrystal from brown seaweed, *Sargassum fluitans*, for development of alginate nanocomposite film. *Polymer Crystallization*, v. 3, 2020.
- EL ACHABY, M.; KASSAB, Z.; ABOULKAS, A.; GAILLARD, C.; BARAKAT, A. Reuse of red algae waste for the production of cellulose nanocrystals and its application in polymer nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 106, p. 681 – 691, 2018.

- EL BAKKARI, M.; BINDIGANAVILE, V.; GONÇALVES, J.; BOLUK, Y. Preparation of cellulose nanofibers by tempo-oxidation of bleached chemi-thermomechanical pulp for cement applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 203, p. 238-245, 2019.
- FORTUNATI, E.; LUZI, F.; PUGLIA, D.; PETRUCCI, R.; KENNY, J. M.; TORRE, L. Processing of PLA nanocomposites with cellulose nanocrystals extracted from *Posidonia oceanica* waste: Innovative reuse of coastal plant. *Industrial Crops and Products*, v. 67, p. 439-447, 2015.
- GAJARIA, T. K.; SUTHAR, P.; BAGHEL, R. S.; BALAR, N. B.; SHARNAGAT, P.; MANTRI, V. A.; REDDY, C. R. K. Integration of protein extraction with a stream of byproducts from marine macroalgae: A model forms the basis for marine bioeconomy. *Bioresource Technology*, v. 234, p. 867-873, 2017.
- GAO, H.; DUAN, B.; LU, A.; DENG, H.; DU, Y.; SHI, X.; ZHANG, L. Fabrication of cellulose nanofibers from waste brown algae and their potential application as Milk thickeners. *Food Hydrocolloids*, v. 79, p. 473-481, 2018.
- GEORGE, J.; SABAPATHI, S. N. Cellulose nanocrystals: Synthesis, functional properties and applications. *Nanotechnology, Science and Applications*, v. 8, p. 45-54, 2018.
- GOMES-DIAS, J. S.; ROMANÍ, A.; TEIXEIRA, J. A.; ROCHA, C. M. R. Valorization of seaweed carbohydrates: Autohydrolysis as a selective and sustainable pretreatment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 8, p. 17143-17153, 2020.
- GÓMEZ, H. C.; SERPA, A.; VELÁSQUEZ-COCK, J.; GAÑAN, P.; CASTRO, C.; VÉLEZ, L.; ZULUAGA, R. Vegetable nanocellulose in food science: A review. *Food Hydrocolloids*, v. 57, p. 178-186, 2016.
- HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly and applications. *Chemical Reviews*, v. 110, p. 3479-3500, 2010.
- HAI, L. V.; SON, H. N.; SEO, Y. B. Physical and bio-composite properties of nanocrystalline cellulose from Wood, cotton linters, cattail, and red algae. *Cellulose*, v. 22, p. 1789-1798, 2015.
- HALDAR, D.; PURKAIT, M. K. Micro and nanocrystalline cellulose derivatives of lignocellulosic biomass: A review on synthesis, applications and advancements. *Carbohydrate Polymers*, v. 250, 2020.
- HALIB, N.; PERRONE, F.; CEMAZAR, M.; DAPAS, B.; FARRA, R.; ABRAMI, M.; CHIARAPPA, G.; FORTE, G.; ZANCONATI, F.; POZZATO, G.; MURENA, L.; FIOTTI, N. Pontencial applications of nanocellulose containing materials in the biomedical Field. *Materials*, v. 10, 2017.
- HOJO, O.; ERNESTO, V. A. R. T.; RIBEIRO, C. A.; FISCARELLI, P.; FERTONANI, F. L. Comparação metodológica entre mufla convencional e automática para análise de umidade e cinzas em bagaço de cana. In: Congresso da Qualidade em Metrologia, 2008, São Paulo. Anais, São Paulo: REMESP, p. 1-6, 2008.

HONDA, B.; BOONNORAT, J.; CHIEMCHASIRI, C.; CHIEMCHASIRI, W.; YAMAMOTO. Carbon dioxide capture and nutrients removal utilizing treated sewage by concentrated microalgae cultivation in a membrane photobioreactor. *Bioresource Technology*, v. 7, p. 59 - 64, 2012.

HUANG, S.; LIU, X.; CHANG, C.; WANG, Y. Recent developments and prospective food-related applications of cellulose nanocrystals: A review. *Cellulose*, v. 27, p. 2991-3011, 2020.

ILYAS, R. A.; SAPUAN, S. M.; ISHAL, M. R. Isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from sugar palm fibres (*Arenga Pinnata*). *Carbohydrate Polymers*, v. 181, p. 1038-1051, 2018.

ISHIKAWA, A.; OKANO, T.; SUGIYAMA, J. Fine structure and tensile properties of ramie fibres in the crystalline form of cellulose I, II, III e IV. *Polymer*, v. 38, p. 463-468, 1997.

ISLAM, M. S.; KAO, N.; BHATTACHARYA, S. N.; GUPTA, R.; CHOI, H. J. Potential aspect of Rice husk biomass in Australia for nanocrystalline cellulose production. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, v. 26, p. 465-476, 2018.

JANASWAMY, S.; YADAV, M. P.; HOQUE, M.; BHATTARAI, S.; AHMED, S. Cellulosic fraction from agricultural biomass as a viable alternative for plastics and plastics products. *Industrial Crops and Products*, v. 179, 2022.

JANG, J. H.; SO, B. R.; YEO, H. J.; KANG, H. J.; KIM, M. J.; LEE, J. J.; JUNG, S. K.; JUNG, Y. H. Preparation of cellulose microfibril (CMF) from *Gelidium amansii* and feasibility of CMF as a cosmetic ingredient. *Carbohydrate Polymers*, v. 275, 2021.

JEDDI, M. K.; MAHKAM, M. Magnetic nano carboxymethyl cellulose-alginate/chitosan hydrogel beads as biodegradable devices for controlled drug delivery. *International Journal of Biological*, v. 135, p. 829-838, 2019.

JI, Q.; ZHOU, C.; LI, Z.; BOATENG, I. D.; LIU, X. Is nanocellulose a good substitute for non-renewable raw materials? A comprehensive review of the state of art, preparations, and industrial applications. *Industrial Crops & Products*, v. 202, 2023.

JOHNSON, R. K.; ZINK-SHARP, A.; RENNECKAR, S. H.; GLASSER, W. G. A new bio-based nanocomposite: fibrillated TEMPO-oxidized celluloses in hydroxypropylcellulose matrix. *Cellulose*, v. 16, p. 227-238, 2009.

JOHNSTON, E. T.; LIM, P.-E.; BUHARI, N.; KEIL, E. J.; DJAWAD, M. I.; VIS, M. L. Diversity of freshwater red algae (Rhodophyta) in Malaysia and Indonesia from morphological and molecular data. *Phycologia*, v. 53, p. 329-341, 2014.

JUNG, K. A.; LIM, S.-R.; KIM, Y.; PARK, J. M. Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery. *Bioresource Technology*, v. 135, p. 182-190, 2013.

KARIMIAN, A.; PARSIAN, H.; MAJIDINIA, M.; RAHIMI, M.; MIR, S. M.; KAFIL, H. S.; SHAFIERI-IRANNEJAD, V.; KHEYROLLAH, M.; OSTADI, H.; YOUSEFI, B. Nanocrystalline cellulose: Preparation, physicochemical properties, and applications in drug delivery systems. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 133, p. 850-859, 2019.

- KAZHARSKA, M.; DING, Y.; ARIF, M.; JIANG, F.; CONG, Y.; WANG, H.; ZHAO, C.; LIU, X.; CHI, Z.; LIU, . Cellulose nanocrystals derived from *Enteromorpha prolifera* and their use in developing bionanocomposite films with water-soluble polysaccharides extracted from *E. prolifera*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 134, p. 390-396, 2019.
- KIM, N-J.; LI, H.; JUNG, K.; CHANG, H. N.; LEE, P. C. Ethanol production from marine algal hydrolysates using *Escherichia coli* KO11. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 7466-7469, 2011.
- KLEMM, D.; CRANSTON, E. D.; FISCHER, D.; GAMA, M.; KEDZIOR, S. A.; KRALISH, D.; KRAMER, F.; KONDO, T.; LINDSTRÖM, T.; NIETZSCHE, S.; PETZOLD-WELCKE, K.; RAUCHFUB, F. Nanocellulose as a natural source for groundbreaking applications in materials science: Today's state. *Materials Today*, v. 21, p. 720-748, 2018.
- KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D.; DORRIS, A. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 50, p. 5438-5466, 2011.
- KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D.; DORRIS, A. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 50, p. 5438-5466, 2011.
- KUMAR, Y.; SINGHAL, S.; TARAFDAR, A.; PHARANDE, A.; GANESAN, M.; BADGUJAR, P. C. Ultrasound assisted extraction of selected edible macroalgae: effect on antioxidant activity and quantitative assessment of polyphenols by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Algal Research*, v. 52, 2020.
- KUNAVAR, M.; ANZLOVAR, A.; ZAGAR, Z. The fast and effective isolation of nanocellulose from selected cellulosic feedstock. *Carbohydrate Polymers*, v. 148, p. 251-258, 2016.
- LEE, H. V.; HAMID, S. B. A.; ZAIN, S. K. Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: Structure and chemical process. *The Scientific World Journal*, v. 2014, 2014.
- LEE, K. Y.; TAMMELIN, T.; KIISKINEN, H.; SAMELA, J.; SCHLUFTER, K.; BISMARCK, A. Nano-fibrillated cellulose VS bacterial cellulose: Reinforcing ability of nanocellulose obtained top-down or bottom-up. In: *ECCM Composites at Venice, Proceedings of the 15th European Conference on Composites Materials*. Universita di Padova, Venice, Italy, p. 24-28, 2012.
- LI, H.; JIANG, F.; CHEN, J.; WANG, Y.; ZHOU, Z.; LIAN, R. Development of seaweed-derived polysaccharide/cellulose nanocrystal-based antifogging labels loaded with alizarin for monitoring aquatic products freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 235, 2023.
- LIU, L.; LIN, L. Effect of heat stress on *Sargassum fusiforme* leaf metabolome. *Journal of Plant Biology*, v. 63, p. 229-241, 2020.

- LIU, Z.; LI, X.; XIE, W.; DENG, H. Extraction, isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from industrial kelp (*Laminaria japonica*) waste. *Carbohydrate Polymers*, v. 173, p. 353-359, 2017.
- MACHADO, B. A. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. *Ciência Rural*, Santa Maria – RS, v. 42, n. 11, p. 2085-2091, 2012.
- MACHADO, B. A. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Processo para preparação de nanobiocompósitos tipo filmes flexíveis reforçados com nanopartículas de celulose tipo *nanowhiskers*. Patente protocolizada no INPI, 2010.
- MAGRO, F. G., DECESARO, A., BERTICELLI, R., COLLA, L. M. Produção de bioetanol utilizando microalgas: Uma revisão. *Semina: Ciências exatas e tecnológicas*, v. 37, p. 159-174, 2016.
- MARQUES, P. A.; NOGUEIRA, H. I.; PINTO, R. J.; NETO, C. P.; TRINDADE, T. Silver-bacterial cellulosic sponges as active SERS substrates. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 39, p. 439-443, 2008.
- MARTINS, D. F. Estudo da influência da hidrólise ácida da celulose extraída do capim mombaça na produção de nanocristais de celulose com diferentes estruturas polimórficas. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.
- MAURYA, A. K.; MISHRA, A.; MISHRA, N. Nanoengineered polymeric biomaterials for drug delivery system. In: *Nanoengineered Biomaterials for Advanced Drug Delivery*, p. 109-143, 2020.
- MIHHELS, K.; YOUSEFI, N.; BLOMSTER, J.; SOLADA, I.; SOLHI, L.; KONTTURI, E. Assessment of the alga *Cladophora glomerata* as a source for cellulose nanocrystals. *Biomacromolecules*, v. 24, p. 4672-4679, 2023.
- MISHRA, R. K.; SABU, A.; TIWARI, S. K. Materials chemistry and the futurist eco-friendly applications of nanocellulose: Status and prospect. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 22, p. 949-978, 2018.
- MOHAN, T.; SPIRK, S.; KARGL, R.; DOLISKA, A.; VESEL, A.; SALZAMANN, I.; RESEL, R.; RIBITSCH, V.; STANA-KLEINSCHEK, K. Exploring the rearrangement of amorphous cellulose model thin films upon heat treatment. *Soft Matter*, v. 8, 2012.
- MOKHENA, T. C.; JOHN, M. J. Cellulose nanomaterials: New generation materials for solving global issues. *Cellulose*, v. 3, p. 1149-1194, 2020.
- MOOHAN, J.; STEWART, S. A.; ESPINOSA, E.; ROSAL, A.; RODRÍGUEZ, A.; LARRAÑETA, E.; DONNELLY, R. F.; DOMÍNGUEZ-ROBLES, J. Cellulose nanofibers and other biopolymers for biomedical applications – A review. *Applied Sciences*, v. 10, p. 1-25, 2020.
- 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.

- MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. F.; MARCONCINI, J. M. Procedimentos para análise lignocelulósica. Embrapa Algodão, Campina Grande, 2010.
- MORALES-NARVÁEZ, E.; GOLMOHAMMADI, H.; NAGHDI, T.; YOUSEFI, H.; KOSTIV, U.; HORÁK, D.; POURREZA, N.; MERKOÇI, A. Nanopaper as na optical sensing platform. ACS Nano, v. 9, p. 7296-7305, 2015.
- MURALI, M. R.; VIVEKANANDHAN, S.; MISRA, M.; BHATIA, S. K.; MOHANTY, A. K. Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future oportunités. Progress in Polymer Science, v. 38, p. 1653-1689, 2013.
- NASROLLAHZADEH, M.; SHAFIEI, N.; NEZAFAT, Z.; BIDGOLI, N. S. S.; SOLEIMANI, F. Recent progresses in the application of cellulose, starch, alginate, gum, pectin, chitin and chitosan based (nano)catalysts in sustainable and selective oxidation reactions: A review. Carbohydrate Polymers, v. 241, 2020.
- NISHIYAMA, Y. Structure and properties of the cellulose microfibril. Journal of Wood Science, v. 55, p. 241-249, 2009.
- NISHIYAMA, Y.; SUGIYAMA, J.; CHANZY, H.; LAGNGAN, P. Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose I $\alpha$  from synchrotron x-ray and neutron fiber diffraction. Journal of the American Chemical Society, v. 125, p. 14300-14306, 2003.
- NOREMYLIA, M. B.; HASSAN, M. Z.; ISMAIL, Z. Recent advancement in isolation, processing, characterization and applications of emerging nanocellulose: A review. International Journal of Biological Macromolecules, v. 206, p. 954-976, 2022.
- OLIVEIRA, J. P.; BRUNI, G. P.; FABRA, M. J.; ZAVAREZE, E. R.; LÓPEZ-RUBIO, A.; MARTÍNEZ-SANZ, M. Development of food packaging bioactive aerogels through the valorization of *Gelidium sesquipedale* seaweed. Food Hydrocolloids, v. 89, p. 337-350, 2019.
- ONAY, M. Bioethanol production via different saccharification strategies from *H. tetrachotoma* ME03 grown at various concentrations of municipal wastewater in a flat-photobioreactor. Fuels, v. 239, p. 1315-1323, 2019.
- PERUMAL, A. B.; NAMBIAR, R. B.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Nanocellulose: Recent trends and applications in the food industry. Food Hydrocolloids, v. 127, 2022.
- PHILLIPS, J. A.; BLACKSHAW, J. K. Extirpation of macroalgae (*Sargassum spp.*) on the subtropical east australian coast. Conservation Biology, v. 25, p. 913-921, 2011.
- PIETAK, A.; KORTE, S.; TAN, E.; DOWNARD, A.; STAIGER, M. P. Atomic force microscopy characterization of surface wettability of natural fibres. Applied Surface Science, v. 253, p. 3627-3665, 2007.
- PILLAI, G.; SAVVASHE, P.; PATIL, V.; ODANETH, A. A.; LALI, A. M.; PANDIT, R. Year-round cultivation of marine macroalgae *Enteromorpha prolifera* using photobioreactors. Journal of Cleaner Production, v. 427, 2023.
- RAMACHANDRA, T. V.; HEBBALE, D. Bioethanol from macroalgae: Prospects and challenges. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 117, 2020.

- RAMESH, M.; PALANIKUMAR, K.; REDDY, K. H. Plante fibre based bio-composites: Sustainable and renewable green materials. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 79, p. 558-584, 2017.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHON, S. E. *Biologia Vegetal*, 7<sup>o</sup> edição. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, p. 830, 2007.
- RAYMUNDO, M. S.; HORTA, P.; FETT, R. Atividade antioxidante *in vitro* de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, p. 495-503, 2004.
- RHIM, J-W. Effect of Clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of Agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 691-699, 2011.
- SACUI, I. A.; NIEUWENDAAL, R. C.; BURNETT, D. J.; STRANICK, S. J.; JORFI, M.; WEDER, C.; FOSTER, E. J.; OLSSON, R. T.; GILMAN, J. W. Comparison of the properties of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils isolated from bacteria, tunicate and Wood processed using acid, enzymatic, mechanical and oxidative methods. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 6, p. 6127-6138, 2014.
- SALMIERI, S.; ISLAM, F.; KHAN, R. A.; HOSSAIN, F. M.; IBRAHIM, H. M. M.; MIAO, C.; HAMAD, W. Y.; LACROIX, M. Antimicrobial nanocomposite films made of poly(lactic acid) – cellulose nanocrystals (PLA-CNC) in food applications – part B: Effect of oregano essential oil release on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in mixed vegetables. *Cellulose*, v. 21, p. 4271-4285, 2014.
- SAMIEE, S.; AHMADZADEH, H.; HOSSEINI, M.; LYON, S. Algae as a source of microcrystalline cellulose. In *Advanced bioprocessing for alternative fuels, biobased chemicals, and bioproducts*. Chapter: 17, p. 331-350, 2019.
- SAMIR, A. S. A.; 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.
- SCHMITZ, C.; RAMLOV, F.; LUCENA, L. A. F.; UARROTA, V.; BATISTA, M. B.; SISSINI, M. N.; OLIVEIRA, I.; BRIANI, B.; MARTINS, C. D. L.; NUNES, J. M. C.; RÖRIG, L.; HORTA JR, P. A.; FIGUEROA, F. L.; KORBEE, N.; MARASCHIN, M.; BONOMI-BARUFI, J. UVR and PAR adsorbing compounds of marine brown macroalgae along a latitudinal gradient of the Brazilian coast. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 178, p. 165-174, 2018.
- SHAH, D. Developing plant fibre composites for structural applications by optimizing composite parameters: A critical review. *Journal of Materials Science*, v. 48, p. 6083-6107, 2013.
- SHAHNAZ, L.; SHAMEEL, M. Chemical composition and bioactivity of some benthic algae from Karachi coast of Pakistan. *International Journal of Algae*, v. 11, p. 377-393, 2009.
- SHOJAEIARANI, J.; BAJWA, D. S.; CHANDA, S. Cellulose nanocrystal based composites: A review. *Composites Part C: Open Access*, 2021.
- SHOJAEIARANI, J.; BAJWA, D. S.; CHANDA, S. Cellulose nanocrystal based composites: A review. *Composites Part C: Open Access*, v. 5, 2021.

- SHUBA, E. S.; KIFLE, D. Microalgae to biofuels: ‘Promising’ alternative and renewable energy, review. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 81, p. 743-755, 2018.
- SILVA, C. E. F.; BERTUCCO, A. Bioethanol from microalgae and cyanobacteria: A review and technological Outlook. *Process biochemistry*, v. 51, p. 1833-2842, 2016.
- 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.
- SIMAS-RODRIGUES, C.; VILLELA, H. D. M.; MARTINS, A. P.; MARQUES, L. G.; COLEPICOLO, P.; TONON, A. P. Microalgae for economic applications: Advantages and perspectives for bioetanol. *Journal of Experimental Botany*, v. 66, p. 4091-4108, 2015.
- SINGH, S.; GAIKWAD, K. K.; LEE, Y. S. Antimicrobial and antioxidant properties of polyvinyl alcohol bio composite films containing seaweedextracted cellulose nanocrystal and basil leaves extract. *InternationalJournalofBiologicalMacromolecules*, v. 107, p. 1879-1887, 2018.
- SO, B. R.; YEO, H. J.; LEE, J. J.; JUNG, Y. H.; JUNG, S. K. Cellulose nanocrystal preparation from *Gelidiummansii* and analysis of its anti-inflammatory effect on the skin *in vitro* and *in vivo*. *Carbohydrate Polymers*, v. 254, 2021.
- SOOFI, M.; ALIZADEH, A.; HAMISHHKAR, H.; ALMASI, H.; ROUFEGARINEJAD, L. Preparation of nanobiocomposite film based on lemon waste containing cellulose nanofiber and savory essential oil: A new biodegradable active packaging system. *InternationalJournalofBiologicalMacromolecules*, v. 169, p. 352-361, 2021.
- SUCALDITO, M. R.; CAMACHO, D. H. Characteristic of unique HBr-hydrolyzed cellulose nanocrystals from freshwater green algae (*Cladophora rupestris*) and its reinforcement in starch-based film. *Carbohydrate Polymers*, v. 169, p. 315-323, 2017.
- SUDHAKAR, M. P.; KUMAR, B. R.; MATHIMANI, T.; ARUNKUMAR, K. A review on bioenergy and bioactive compounds from microalgae and macroalgae – sustainable energy perspective. *Journal of Cleaner Production*, v. 228, p. 1320-1333, 2019.
- SUKYAI, P.; ANONGJANYA, P.; BUNYAHWUTHAKUL, N.; KONGSIN, K.; HARNKARNSUJARIT, N.; SUKATTA, U.; CHOLLAKUP, R. Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolated-based films. *Food Research International*, v. 107, p. 528-535, 2018.
- TAPIA-MARTINEZ, J.; HERNANDEZ-CRUZ, K.; FRANCO-COLÍN, M.; MATEOCID, L. E.; MENDOZAGONZALEZ, C.; BLAS-VALDIVIA, V.; CANO-EUROPA, E. Safety evaluation and antiobesogenic effect of *Sargassum liebmannii* J. Agardh (Fucales: Phaeophyceae) in rodents. *Journal of Applied Phycology*, V. 31, P. 2597-2607, 2019.
- TARCHOUN, A. F.; TRACHE, D.; KLAPÖTKE, T. M. Microcrystalline cellulose from *Posidonia oceânica* brown algae: Extraction and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 138, p. 837-845, 2019.

TARCHOUN, A. F.; TRACHE, D.; KLAPÖTKE, T. M.; DERRADJI, M.; BESSA, W. Ecofriendly isolation and characterization of microcrystalline cellulose from giant reed using various acidic media. *Cellulose*, v. 26, p. 7635-7651, 2019.

TERRY, K. L., RAYMOND, L. P. System design for the autotrophic production of microalgae. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 10, p. 474-487, 1985.

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

TORTORELLA, S.; BURATTI, V. V.; MATURI, M.; SAMBRI, L.; FRANCHINI, M. C.; LOCATELLI, E. Surface-modified nanocellulose for application in biomedical engineering and nanomedicine: A review. *International Journal of Nanomedicine*, v. 15, p. 9909, 2020.

ULLAH, K.; AHMAD, M.; SOFIA; SHARMA, V. K.; LU, P.; HARVEY, A.; ZAFAR, M.; SULTANA, S.; ANYANWU, C. N. Algal biomass as a global source of transport fuels: Overview and development perspectives. *Progress in Natural Science: Materials International*, v. 24, p. 329-339, 2014.

UYAMA, H. Functional polymers from renewable plant oils. *Polymer Journal*, v. 50, p. 1003, 2018.

WANG, L., MIN, M., LI, Y., CHEN, P., CHEN, Y., LIU, Y., WANG, Y., RUAN, R. Cultivation of Green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 162, p. 1174-1186, 2010.

WU, J.; ZHU, W.; SHI, X.; LI, Q.; HUANG, C.; TIAN, Y.; WANG, S. Acid-free preparation and characterization of kelp (*Laminaria japonica*) nanocelluloses and their application in pickering emulsions. *Carbohydrate Polymers*, v. 236, 2020.

ZAKI, M.; ABDUL KHALIL, H. P. S.; SABARUDDIN, F. A.; BAIRWAN, R. D.; OYEKANMI, A. A.; ALFATAH, T.; DANISH, M.; MISTAR, E. M.; ABDULLAH, C. K. Microbial treatment for nanocellulose extraction from marine algae and its applications as sustainable functional material. *Bioresource Technology Reports*, v. 16, 2021.

ZAMALLOA, C.; VULSTEKE, E.; ALBRECHT, J.; VERSTRAETE, W. The Techno-economic potential of renewable energy through the anaerobic digestion of microalgae. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 1149-1158, 2011.

ZANCHETTA, E.; DAMERGI, E.; PATEL, B.; BORGMEYER, T.; PICK, H.; PULGARIN, A.; LUDWING, C. Algal cellulose, production and potential use in plastics: Challenges and opportunities. *Algal Research*, v. 56, 2021.

ZHAO, C.; YANG, C.; LIU, B.; LIN, L.; SARKER, S. D.; NAHAR, L.; YU, H.; CAO, H.; XIAO, J. Bioactive compounds from marine macroalgae and their hypoglycemic benefits. *Trends in Food Science & Technology*, v. 72, p. 1-12, 2018.

ZHU, S.; SUN, H.; UM, T.; LI, Q.; RICHEL, A. Preparation of cellulose nanocrystals from purple sweet potato peels by ultrasound-assisted maleic acid hydrolysis. *Food Chemistry*, v. 403, 2023.