

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Estudo, desenvolvimento e caracterização de um
compósito de origem natural**

Dissertação de Mestrado em
Engenharia Mecânica

Pedro Miguel Ferreira Mendes

Orientadora: Professora Paula Luísa Nunes Braga da Silva



Vila Real, 2015

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Estudo, desenvolvimento e caracterização de um
compósito de origem natural**

Dissertação de Mestrado em
Engenharia Mecânica

Pedro Miguel Ferreira Mendes

Orientadora: Professora Paula Luísa Nunes Braga da Silva

Composição do Júri:

Presidente: Doutor José Manuel Alves Ribeiro

Vogal: Doutora Paula Luísa Nunes Braga da Silva

Vogal: Doutora Guilhermina Miguel da Silva Marques

Vila Real, 2015

Dissertação apresentada à Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Mecânica, realizada sob orientação científica da Professora Paula Luísa Nunes Braga da Silva, do Departamento de Engenharias da Escola de Ciências e Tecnologia da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

À minha Mãe e Tia Céu,

ao meu Pai que gostava de ter partilhado este momento,

à Vânia pela paciência.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à minha orientadora, Professora Paula Luísa pela confiança depositada em mim permitindo a realização desta dissertação de Mestrado.

Gostaria de agradecer à Professora Guilhermina Marques pela disponibilidade na transmissão de conhecimento.

Gostaria de agradecer ao Tiago Mendes pela sua inteira disponibilidade e apoio no desenvolvimento desta Dissertação.

Agradecer aos colegas dos cogumelos pelas sugestões e colaboração neste trabalho.

Gostaria de agradecer à minha Família por todo o apoio, motivação e inspiração, que foram a chave do meu sucesso para conseguir aqui chegar.

Por fim agradeço à UTAD, pela disponibilização das infraestruturas necessárias à realização deste trabalho, em especial na facilidade de acesso aos laboratórios, equipamentos e materiais.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a elaboração deste trabalho o meu sincero OBRIGADO...

Resumo

A realização deste trabalho pretende contribuir para o estudo, desenvolvimento e caracterização de um compósito de origem natural. O trabalho constitui na caracterização da matéria-prima a utilizar para a realização do compósito, no qual revemos os textos mais pertinentes, no nosso contexto. O compósito obtido é constituído por palhas de forragem animal, serrim proveniente de serragem de madeira e quitina de fungos.

As técnicas de caracterização química e morfológica utilizada nas amostras em estudo nesta Dissertação foram: Microscopia Eletrónica de Varrimento, Espectroscopia de raios-X de Energia Dispersiva, Espectrometria por Dispersão de Comprimento de Onda, Difração de Raios-X e Espectroscopia de Infravermelhos por Transformada de Fourier.

Dotados do conhecimento de base, partimos para o processo experimental, onde demonstramos o processamento do compósito e a caracterização química e morfológica. Terminamos a dissertação com as conclusões a que o estudo nos conduziu, apontando, por fim, os caminhos que todo este trabalho nos permitiu deixar em aberto para futuras investigações.

Por fim, dizer que este trabalho surge no âmbito do desenvolvimento de um projeto empresarial, para responder à necessidade do mercado, no que respeita a compósitos amigos do ambiente de origem renovável. Esta necessidade foi percebida através do desenvolvimento de uma ideia de negócio alternativa ao Poliestireno Expandido, intitulada de SPAWNFOAM[®], com o apoio do programa *Passaporte para o empreendedorismo* do IAPMEI – Agência para a Competitividade e Inovação, I.P. no ano de 2014.

Abstract

This work aims to contribute to the study, development and characterization of a composite of natural origin. The study is the characterization of the raw material used for the composite manufacture, in which we review the most pertinent texts in our context. The obtained composite is comprised of animal forage straw, sawdust and chitin from *Fungi*.

The chemical and morphological characterization techniques used to study the samples used in this Dissertation were: SEM, X-Ray Spectroscopy, WDS, XRD and FTIR.

Endowed with the knowledge base, we set off for the experimental process, where we explain the composite processing and chemical and morphological characterization. Finished the dissertation with the findings where the study led us, pointing, finally, the ways that all this work has allowed us to leave open for further investigations.

Finally, says that this work appears in the development of a business project, to meet the needs of the market, with regard to green composites from renewable environmental sources. This need was perceived by developing an idea of alternative business to EPS, SPAWNFOAM[®], with the support of Passport program of IAPMEI entrepreneurship in 2014.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract.....	v
Índice	vii
Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas.....	xi
Lista de abreviaturas	xiii
1. Introdução.....	1
1.1 Ideia	3
1.2 Objetivos.....	4
1.3 Estrutura do trabalho.....	4
2. Estado da Arte	5
2.1 Compósitos de origem natural	5
2.1.1 Compósitos de fibras naturais.....	5
2.1.2 Propriedades de compósitos de origem natural	6
2.2 Quitina	7
2.2.1 Método de processamento da quitina	8
2.2.2 Propriedades da quitina	8

2.2.3	Aplicações da quitina	16
2.3	Substratos de celulose.....	18
2.3.1	Propriedades da celulose	18
2.3.2	Caracterização da celulose	21
2.4	Técnicas de produção de compósitos	25
2.4.1	Fabrico de compósitos de origem biológica.....	25
2.4.2	Fabrico patenteado de compósitos	26
3.	Processo Experimental.....	29
3.1	Processamento do compósito.....	29
3.2	Caracterização química e morfológica	32
3.2.1	Microscopia Eletrônica de Varrimento	32
3.2.2	Espectroscopia de raios-X de Energia Dispersiva.....	32
3.2.3	Espectrometria por Dispersão de Comprimento de Onda.....	32
3.2.4	Difração de Raios X	33
3.2.5	Espectroscopia de infravermelhos por Transformada de Fourier	35
4.	Análise química e morfológica	37
4.1	Análise dos resultados de SEM	37
4.2	Análise dos resultados de EDS	41
4.3	Análise dos resultados de WDS.....	43
4.4	Análise dos resultados de DRX	44
4.5	Análise de resultados de FTIR.....	47
5.	Conclusões	51
6.	Trabalho futuro	53
7.	Bibliografia	55

Índice de Figuras

Figura 1 – Exemplo de Mycobond	3
Figura 2 - Estrutura de glucosamina (monómero da citosina) e glucose (monómero da quitina).....	9
Figura 3 – Fotomicrografia SEM de nano-fibras de quitina.....	11
Figura 4 - Estrutura da quitina e da Quitosana	13
Figura 5 - Difração de Raios-X (amostra em pó)	14
Figura 6 - Perfis de Difração de Raios X de quitina	14
Figura 7 - Espectro FTIR de quitina: (a) quitina- α ; (b) quitina- β	15
Figura 8 - Estrutura química da celulose	19
Figura 9 - DRX de celulose no estado natural e húmida	20
Figura 10 - DRX de fibras de celulose de resíduos agrícolas.....	21
Figura 11- Espectro FTIR da hemicelulose de palha de trigo	22
Figura 12 - Espectros FTIR de mistura de madeira de baixa e de elevada densidade	23
Figura 13 - Espectros FTIR principais de celulose e lenhina	23
Figura 14 - Espectros FTIR utilizados nas amostras dos compósitos	24
Figura 15 - Espectro FTIR de fibras de palhas	25
Figura 16 – Execução dos provetes	30
Figura 17 - Esquema de ensaios das amostras.....	31
Figura 18 – Princípio de funcionamento do WDS.....	33
Figura 19 - Espectro DRX de referência para a palha	34
Figura 20 - Espectros FTIR padrão	36

Figura 21 - SEM das amostras a 150×	38
Figura 22 - SEM da interface fungo+substrato	39
Figura 23 - SEM da superfície.....	40
Figura 24 - EDS da Amostra 1	41
Figura 25 - EDS da Amostra 2	41
Figura 26 - EDS da Amostra 4	42
Figura 27 - EDS da Amostra de referência	42
Figura 28 - Análise WDS (g/mol) e (%)	43
Figura 29 - Sobreposição de espectros de DRX.....	44
Figura 30 - DRX das amostras 1 e 2.....	45
Figura 31 - DRX das amostras 4 e de referência.....	46
Figura 32 - FTIR das 4 amostras	47
Figura 33 - FTIR da amostra de referência	48
Figura 34 - FTIR da amostra 1	49
Figura 35 - FTIR da amostra 2	49
Figura 36 - FTIR da amostra 4	50

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Exemplos de polímeros biodegradáveis	2
Tabela 2 - Composição química de fibras vegetais (wt%)	7
Tabela 3 - Fontes de quitina e Quitosana.....	8
Tabela 4 - Análise elementar, índice de cristalinidade e quantidade de quitina nas nanofibras	12
Tabela 5 - Principais aplicações da quitosana	16
Tabela 6 - Cristalinidade de várias proveniências de celulose	19
Tabela 7 - Composição química e física de fibras de celulose	21
Tabela 8 - Principais Grupos Funcionais de Hemicelulose de palhas	22
Tabela 9 - Dimensão lateral média de fibrilas para diversas espécies de biomassa	24
Tabela 10 - Resultados obtidos na análise WDS	43
Tabela 11 - Índice de Cristalinidade	46
Tabela 12 – Análise dos elementos orgânicos da amostra de referência.....	48
Tabela 13 – Análise dos elementos orgânicos presentes na amostra 1.....	49
Tabela 14 – Análise dos elementos orgânicos presentes na amostra 2.....	50
Tabela 15 - Análise dos elementos orgânicos presentes na amostra 4	50

Lista de abreviaturas

DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia de raios-X de Energia Dispersiva
EPS	Poliestireno Expandido
EUA	Estados Unidos da América
FTIR	Espectroscopia de infravermelhos por Transformada de Fourier
IC	Índice de Cristalinidade
SEM	Microscopia Eletrônica de Varrimento
WDS	Espectrometria por Dispersão de Comprimento de Onda

1. Introdução

Os polímeros sintéticos são indispensáveis para o estilo de vida da população. A sua aplicação é de tal forma abrangente que é compreendida desde o setor primário na agricultura, seja ela de que tipo de avanço tecnológico for; passando pelo setor secundário na indústria, desde a transformação até à utilização dos polímeros como complemento de produto acabado. Com a utilização de polímeros na indústria, não ficam as aplicações dos mesmos esgotadas e desta forma é possível verificar que o seu uso é demasiado abrangente, para não ocorrer uma evolução natural do seu processo de fabrico.

Os polímeros sintéticos são essenciais para o estilo de vida da população e, visto que a maioria dos polímeros sintéticos são provenientes do petróleo e do carvão, não são compatíveis com o ambiente, pelo facto de não ser possível integrar os polímeros sintéticos em fim de vida no sistema de reciclagem (Tatsuko & Hyoe, 2005). Existem sérios constrangimentos entre as necessidades do consumidor e a compatibilidade dos polímeros com o meio ambiente. Na Tabela 1, é possível verificar exemplos do desenvolvimento de polímeros biodegradáveis.

O desenvolvimento de polímeros amigos do ambiente, biodegradáveis, é uma necessidade premente da sociedade e é, também, a chave para a prossecução de um ambiente sustentável, possível de conjugar com os ávidos hábitos de consumo que se verificam atualmente. Com vista ao desenvolvimento de polímeros amigos do ambiente, é necessário entender a natureza dos seus constituintes e quais as suas utilizações. As principais matérias-primas para a elaboração de polímeros biodegradáveis são: os polissacarídeos e a lenhina. Os polissacarídeos têm sido utilizados em diversas áreas, entre

elas a alimentação, medicina e indústria cosmética. A lenhina, a celulose e a hemicelulose encontram-se em todas as plantas e podem ser consideradas como polímeros naturais por excelência. Com a exceção da celulose, a hemicelulose e a lenhina ainda não são muito utilizadas para a produção de polímeros biodegradáveis.

Tabela 1 - Exemplos de polímeros biodegradáveis (Tatsuko & Hyoe, 2005)

Origem dos Polímeros	Exemplos
Microorganismos	Polissacarídeos como a xantana e o ácido hialurónico
Plantas	Polissacarídeos como a celulose, lenhina, amido e goma de alfarroba Ésteres celulósicos como acetatos celulósicos Poliuretanos constituídos por lenhina
Animais	Colagénio, quitina Quitina e derivados poliméricos e compósitos à base de Quitosana

Os constituintes de polímeros biodegradáveis vão desde os sólidos elásticos até aos líquidos viscosos.

Tendo em consideração que a região de Trás-os-Montes é reconhecida como uma das mais ricas da Europa em fungos, o objetivo é aproveitar a diversidade existente nesta matéria-prima e desenvolver um material de origem orgânica, com total biodegradabilidade, não combustível e, em suma, uma boa alternativa ecológica com características semelhantes aos polímeros de origem não renovável.

A presente investigação enquadra-se na obtenção de estruturas de tecido quitinoso proveniente de fungos e, conseqüentemente, no estudo da sua estrutura macro e microscópica.

A técnica existente para a obtenção destas estruturas poliméricas baseia-se no crescimento de um compósito consistente, através da sujeição de uma mistura a condições de humidade e temperatura controladas.

A mistura é constituída por um substrato de partículas ou de espuma, um fungo e um meio aquoso. O crescimento do compósito foi realizado a humidade e temperatura adequadas numa primeira fase, conforme dito anteriormente, para o desenvolvimento da

sua estrutura. Posteriormente, para obtenção do produto final desejado, procedeu-se à interrupção do crescimento da estrutura macro e microscópica com recurso a uma atmosfera de humidade e temperatura controladas.

1.1 Ideia

Este trabalho surgiu após termos percecionado no mercado a necessidade de uma maior oferta de compósitos amigos do ambiente e de origem renovável, que se constituíssem como alternativa aos provenientes de combustíveis fósseis, nomeadamente ao Poliestireno Expandido (EPS). Foi neste contexto que iniciámos o acompanhamento de notícias sobre o desenvolvimento de biocompósitos, que nos permitiu tomar conhecimento sobre uma empresa norte-americana, a ECOVATIVE[®], que tinha sido pioneira na procura de soluções com a utilização de fungos, como o exemplificado na Figura 1.



Figura 1 – Exemplo de Mycobond (Dokter, et al., 2012)

Foi com base neste conhecimento que decidimos implementar uma ideia de negócio assente no desenvolvimento de um material de origem renovável, biodegradável, amigo do ambiente e obtido através de um processo inovador, que se afirmasse no mercado como alternativa ao EPS, a que demos o nome de SPAWNFOAM[®]. O processo de fabrico consistia na utilização das valências de adesivo estrutural presente na quitina dos fungos de cogumelos, com vista à obtenção de um compósito à base de biomassa de origem biológica, inovadora e de aplicações multifacetadas.

Ainda em fase de consolidação da ideia, este projeto viria a ser apoiado pelo programa *Passaporte para o empreendedorismo* do IAPMEI – Agência para a Competitividade e Inovação, I.P. – no ano de 2014. Posteriormente, pela relevância científica que lhe atribuímos, foi a gênese da presente dissertação.

1.2 Objetivos

Através do desenvolvimento deste trabalho, foi nosso objetivo iniciar o estudo com vista à otimização de métodos existentes para a produção de compósitos poliméricos à base de produtos biológicos. Outro dos objetivos foi proceder à experimentação de fungos para obtenção de estruturas de tecido quitinoso, para servir como ligante de substratos.

1.3 Estrutura do trabalho

Este trabalho está organizado em 7 capítulos. No presente capítulo são apresentadas a ideia que esteve na gênese deste trabalho, os objetivos do trabalho, bem como a estrutura do mesmo. No capítulo 2 apresentamos o estado da arte mais importante sobre o tema que nos debruçamos nesta investigação. Num primeiro momento, revemos os textos mais pertinentes, no nosso contexto, sobre compósitos de origem natural para, em seguida, aprofundarmos o conhecimento existente sobre um elemento central do nosso estudo: a quitina. No quarto capítulo abordamos os substratos de celulose para, posteriormente, terminarmos a revisão bibliográfica com a apresentação de técnicas de produção de compósitos.

Dotados do conhecimento de base, partimos para o processo experimental no capítulo terceiro, onde demonstramos o processamento do compósito e a caracterização química e morfológica. No quarto capítulo analisamos a fundo os resultados do procedimento experimental, com a análise química e morfológica. Terminamos a dissertação com as conclusões a que o estudo nos conduziu, apontando, por fim, os caminhos que todo este trabalho nos permitiu deixar em aberto para futuras investigações.

2. Estado da Arte

2.1 Compósitos de origem natural

2.1.1 Compósitos de fibras naturais

Preocupações ambientais constantes resultaram no interesse de investigadores pela procura de novos materiais, com vista a um desenvolvimento sustentável e um conceito de cariz ecológico na elaboração de compósitos naturais e renováveis (Avérous & Le Digabel, 2006).

A primeira geração de compósitos de fibras naturais continha compósitos muito simples, com o objetivo de serem baratos e de fiabilidade aceitável. Um dos pioneiros no desenvolvimento de compósitos de fibras naturais foi o engenheiro de processamento de madeiras *Sadao Nishibori*, no ano de 1940. Anteriormente, já Henry Ford no ano de 1915 utilizou uma cola à base de trigo para unir painéis do Ford T. No entanto, devido à disponibilidade abundante de produtos petrolíferos, o seu desenvolvimento estagnou. O desenvolvimento em grande escala de biocompósitos apenas ocorreu após a primeira crise de petróleo no ano de 1973. Desde essa data até à atualidade, o desenvolvimento destes materiais não tem parado (Bledzki, et al., 2008).

Segundo (Faruk, et al., 2012), o desenvolvimento de materiais de elevada performance provenientes de recursos de origem natural está a aumentar à escala global e o

maior desafio no desenvolvimento de plásticos reforçados com fibras naturais é a diversidade de características e propriedades do produto final obtido.

Os compósitos biodegradáveis são obtidos pela combinação de um polímero biodegradável de enchimento e um reforço estrutural também biodegradável (por exemplo fibras lenhino-celulósicas) que, simultaneamente à função de reforço, também têm a função de “alimentar” o crescimento do polímero biodegradável. Como ambos os componentes são biodegradáveis, é desta forma espectável que o resultado final seja também biodegradável (Mohanty, et al., 2000).

Devido às características “eco-friendly” que se pretendem obter com a incorporação de fibras naturais nos compósitos, existem setores industriais que estão a apresentar, na sua oferta de produtos, compósitos de fibras naturais.

2.1.2 Propriedades de compósitos de origem natural

As propriedades de um compósito de origem biológica dependem de diversas variáveis, das quais salientamos as condições ambientais, o tipo, os métodos de processamento e a modificação do tipo de fibras. É conhecido que existe um interesse crescente nas aplicações das fibras de origem biológica reforçadas com polímeros biológicos (Faruk, et al., 2012).

Os compósitos naturais com origem em lenhina e celulose são os mais usuais no campo das matrizes de compósitos biodegradáveis (Avérous & Le Digabel, 2006). Estas fibras têm diversas propriedades físicas e mecânicas muito vantajosas (Bledzki & Gassan, 1999) para a utilização dos mesmos. As fibras vegetais utilizadas possuem diversas composições químicas, conforme é possível verificar na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química de fibras vegetais (wt%) (Young, 2004)

Fibra	Celulose	Hemicelulose	Pectina	Lenhina	Cinza
<i>Fibras de caules</i>					
Linho	71	19	2	2	1-2
Cânhamo	75	18	1	4	1-2
Juta	72	13	>1	13	8
Rami	76	15	2	1	5
<i>Fibras folhosas</i>					
Ábaca	70	22	1	6	1
Sisal	73	13	1	11	7
<i>Fibra de sementes</i>					
Algodão	93	3	3	-	1
Palha de trigo	51	26	-	16	7

2.2 Quitina

A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na Terra, logo a seguir à celulose. Existe até quem considere a quitina como um produto derivado da celulose, apesar de esta não ser um subproduto da celulose.

No estudo realizado por (Vetter, 2007) acerca da comparação da quantidade de quitina presente nos fungos *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes*, verificou-se que a quantidade de quitina presente em cogumelos comestíveis está dependente da espécie e independente do modo de cultivo da mesma espécie. Neste mesmo estudo é referido que a quantidade de Quitina é normalmente superior no Píleo dos cogumelos, relativamente ao estipe do mesmo. Esta diferença é significativa para *A. bisporus* e é menos significativa para as espécies *P. ostreatus* e *L. edodes*.

O nível de quitina dos cogumelos cultivados, bem como dos cogumelos silvestres, está dependente do tipo de substrato e a quitina presente nos cogumelos cultivados não é um componente químico da estrutura celular mas, ao invés, tem um importante papel na cadeia nutricional e de crescimento dos mesmos (Vetter, 2007).

2.2.1 Método de processamento da quitina

A quitina está maioritariamente presente no exosqueleto dos crustáceos e dos insetos, bem como na parede celular de fungos do reino *Fungi* (Muzzarelli, 2011), conforme é possível verificar na Tabela 3. Os cogumelos são a frutificação de fungos do reino *Fungi*, portadores de esporos.

As nanofibras de quitina podem ser obtidas através das paredes celulares de cogumelos (Shinsuke, et al., 2011) através de um conjunto de processos químicos e de um conjunto de processos de moagem mecânica.

A quitina pode ser processada sob a forma de filmes e fibras. As fibras de quitina, obtidas pelo processo de extrusão húmida, dissolvidas numa solução de 14% NaOH, resultam numa mistura semelhante à celulose (Hirano S., 1998) ou à seda. Estas fibras são hipoalergénicas, desodorizantes, antibacterianas e possuem características de controlo de humidade (Nishi N., 1982).

Tabela 3 - Fontes de quitina e Quitosana (Mathur NK, 1990)

Animais marinhos	Insetos	Microorganismos
Anelídeos	Escorpião	Algas verdes
Moluscos	Aranhas	Leveduras (tipo β)
<i>Coelenterata</i>	Braquiópodes	Fungos (parede celular)
Crustáceos:	Formigas	Micélio
Lagosta	Baratas	Algas castanhas
Caranguejo	Besouros	Esporos
Camarão		<i>Chytridiaceae</i>
Lavagante		Ascomidas
Krill		Blastocladiaceae (<i>Fungi</i>)

2.2.2 Propriedades da quitina

Apesar da sua enorme produção anual e da fácil disponibilidade, a quitina continua a ser um recurso subutilizado, devido à complexidade da sua estrutura molecular (Zohuriaan-Mehr, 2005)

A dificuldade de hidrólise de quitina deve-se às ligações de hidrogénio que formam uma estrutura semicristalina de quitina muito resistente (Rinaudo, 2006). A quitina é um biopolímero estrutural que tem um papel análogo ao do colagénio nos animais superiores e à celulose nas plantas terrestres (Muzzarelli, 1977). As plantas produzem a celulose nas suas paredes celulares e os insetos e crustáceos produzem a quitina nas suas conchas.

Celulose e quitina são, assim, dois polissacarídeos importantes e estruturalmente relacionados que fornecem integridade estrutural e proteção para plantas e animais, respetivamente (Muzzarelli, 1973). A quitina surge na natureza como microfibrilas cristalinas ordenadas, formando componentes estruturais no exoesqueleto de artrópodes ou nas paredes celulares de fungos e leveduras (Muzzarelli, 2008).

A quitina pode ser considerada como a celulose com o grupo acetamida a substituir o hidroxilo na posição C-2.

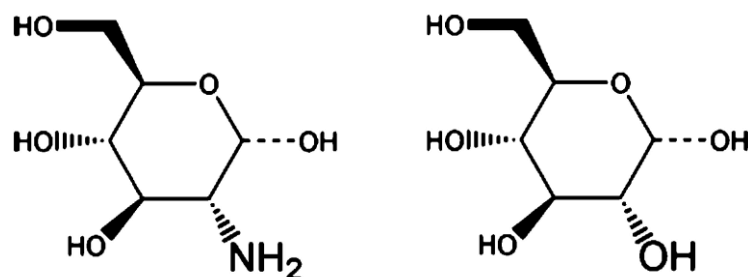


Figura 2 - Estrutura de glucosamina (monómero da citosina) e glucose (monómero da quitina)
(Pillai, et al., 2009)

Como referido anteriormente, a quitina é um material multifacetado com potencial de desenvolvimento muito elevado.

A Figura 3, evidencia fibras de quitina uniformes. Estas fibras são similares às fibras de quitina proveniente de crustáceos.

Outra evidência deste conjunto de imagens é o facto de as mesmas fibras terem um comprimento significativo. O comprimento médio aparente é divergente, variando com a espécie de cogumelo (Shinsuke, et al., 2011).

O concentrado de nanofibras de quitina não é transparente devido ao facto de a superfície das nanofibras ser hidrofóbica, comparativamente com a nanofibra da quitina. Outro dos motivos que torna estas nanofibras não transparentes é o facto de existirem nanofibras sobrepostas, de elevado comprimento, superior em 1% da quantidade total, o que acentua também a falta de transparência do conjunto (Shintake, et al., 2011).

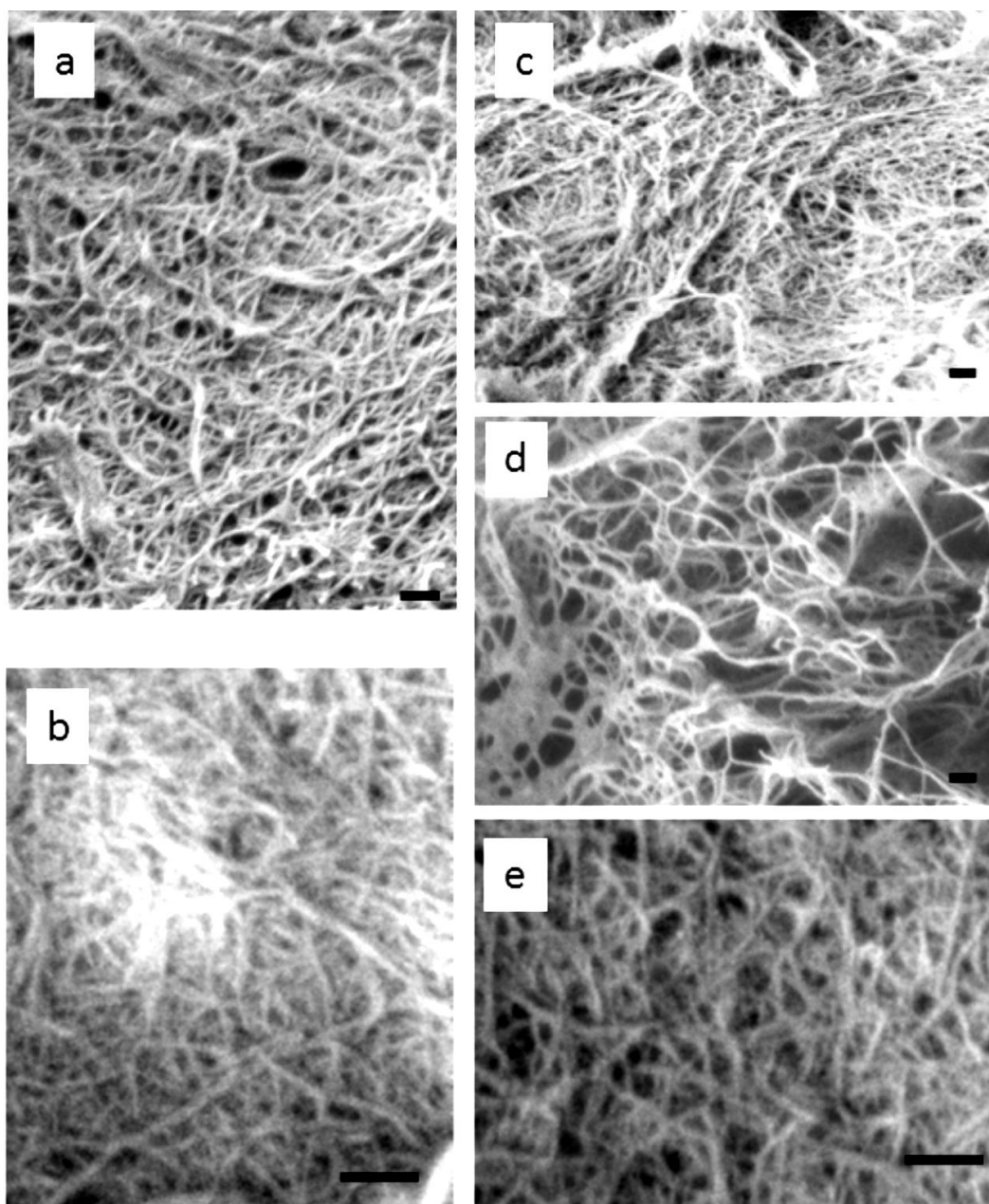


Figura 3 – Fotomicrografia SEM de nano-fibras de quitina¹ (Shinsuke, et al., 2011) - (a) *Pleurotus* (b) *Agaricus Bisporus* (c) *Lentinula Edodes* (d) *Grifola Frondosa* (e) *Hypsizygos Marmoreus*

A largura das nanofibras varia de acordo com a família de fungos de cogumelos. Pela Tabela 4 onde é apresentado o índice de cristalinidade e a quantidade de quitina nas nanofibras, é possível verificar que a largura das fibras aumenta de 20nm para 28nm, na medida em que diminui a concentração de azoto de 92,45% para 42,96%.

¹ As barras de escala têm 20nm

As nanofibras de quitina possuem cristalinidades como é possível verificar na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise elementar, índice de cristalinidade e quantidade de quitina nas nanofibras (Shinsuke, et al., 2011)

Amostras	Análise Elementar			Índice de Cristalinidade	Largura das fibras (nm)	Quantidade de quitina %
	N (%)	C (%)	Concentração de N (%) ²			
Quitina	6,89	47,29	100	88,5	-	-
Celulose	0	44,44	0	-	-	-
<i>Pleurotus eryngii</i>	6,37	45,43	92,45	80,0	20	3,5
<i>Agaricus bisporus</i>	6,19	43,69	89,84	77,1	20	3,2
<i>Lentinula edodes</i>	4,89	45,30	70,97	65,0	22	1,3
<i>Grifola frondosa</i>	3,67	42,72	53,27	65,0	25	3,2
<i>Hypsizygus marmoreus</i>	2,96	43,77	42,96	47,6	28	1,8

A quitina, bem como a celulose, possui três formas polimórficas diferentes (α, β, γ) (Paralikar & Balasubramanya, 1984). As formas polimórficas da quitina variam no arranjo cristalino dos planos cristalinos, como evidenciado na Figura 4. As cadeias de cristais do tipo β estão alinhadas paralelamente, o que não acontece na quitina- α (Khor, 2001).

A ordem molecular da quitina depende da fisiologia da origem da mesma, bem como das características dos tecidos. Existem relatos de que com um simples tratamento de 20% de NaOH, seguido de lavagem com água, é possível converter quitina- α em quitina- β (Noyshiki, et al., 2003).

Na Figura 4 é possível verificar um exemplo da estrutura molecular da quitina e da quitosana. As diferentes formas polimórficas da quitina, originam propriedades físicas únicas no material. Por exemplo, a quitina α possui as cadeias mais dispersas, o que lhe confere uma estrutura molecular menos densa e por sua vez a quitina β possui as cadeias moleculares perfeitamente alinhadas como evidenciado na Figura 4, o que lhe confere uma densidade superior (Khor, 2001)

² Em comparação com a concentração de Azoto (N) nas moléculas de Quitina comercial.

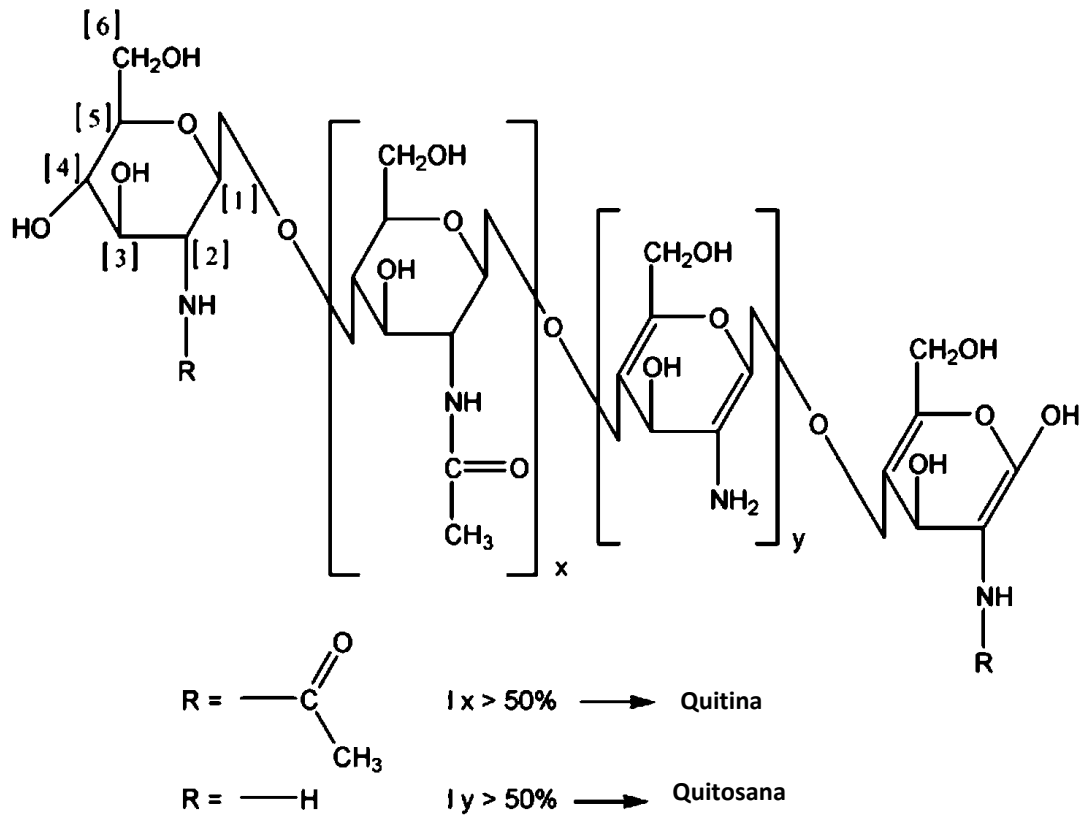


Figura 4 - Estrutura da quitina e da Quitosana (Khor, 2001)

A cristalografia da quitina tem sido estudada ao longo do tempo. Na Figura 5 mostramos dois exemplos de quitina- α e de quitina- β aparentemente idênticos:

- i. Na figura (a) o anel principal de difração aparece a 0,38nm, enquanto na quitina- β apenas surge o mesmo anel a 0,324nm;
- ii. O anel interior a 0,918nm da Quitina- β é mais sensível à hidratação das fibras e desloca-se para o exterior do anel, ficando com uma intensidade 0,943nm. Na quitina- α esta evidência não ocorre.

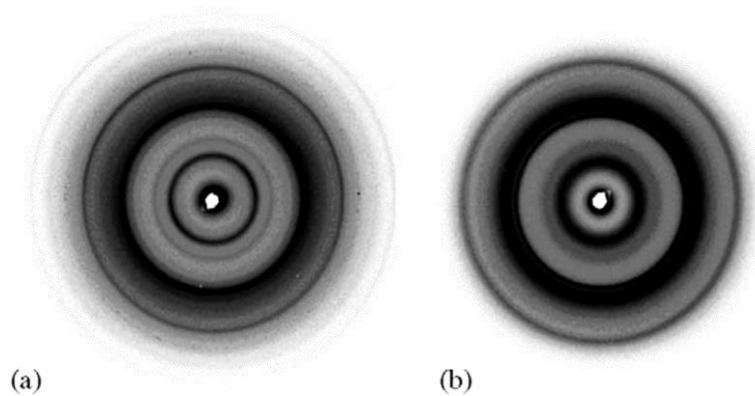


Figura 5 - Difração de Raios-X (amostra em pó): (a) quitina- α de cutículas secas de camarão (b) quitina- β de cefalópode seco (Rinaudo, 2006)

As cristalinidades são possíveis de determinar com recurso à Difração de Raios X, as quais são obtidas nos ângulos 2θ de $9,4^\circ$, $19,3^\circ$, $20,6^\circ$ e $2,5^\circ$.

Estes pontos de aferição correspondem aos planos de cristalinidade dos Índices de Miller dos planos, (020), (110), (120) e (130), como é possível visualizar na Figura 6 (Tatsuko & Hyoe, 2005). Estes planos correspondem aos planos típicos de cristalinidade da quitina- α .

As estruturas cristalinas presentes na quitina mantêm-se constantes em diversos fungos, independentemente do tipo, como demonstrado na Figura 6 nas amostras (a-e).

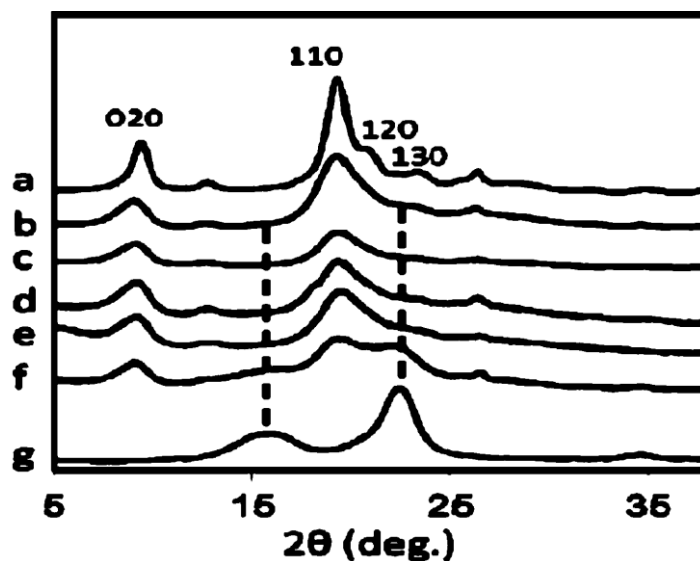


Figura 6 - Perfis de Difração de Raios X de quitina: (a) Amostra comercial, (b) *Pleurotus*, (c) *Agaricus bisporus*, (d) *Lentinula edodes*, (e) *Grifola frondosa*, (f) *Hypsizygus marmoreus*, (g) quitina comercial (Tatsuko & Hyoe, 2005)

Os espectros FTIR de quitina- α e de quitina- β representados na Figura 7 são típicos de polissacarídeos devido à elevada cristalinidade das amostras demonstrada nas barras de absorção bastante afiadas. O alongamento da zona C=O das Aminas entre $1600\text{-}1500\text{cm}^{-1}$ corresponde a diferentes registos de quitina- α e de quitina- β . Para a quitina- α , a banda da Amina I é dividida entre $1656\text{-}1621\text{cm}^{-1}$ que corresponde ao registo específico da quitina- β . No entanto a banda das Aminas II nos dois espectros de FTIR corresponde a 1556 cm^{-1} e 1560 cm^{-1} (Rinaudo, 2006).

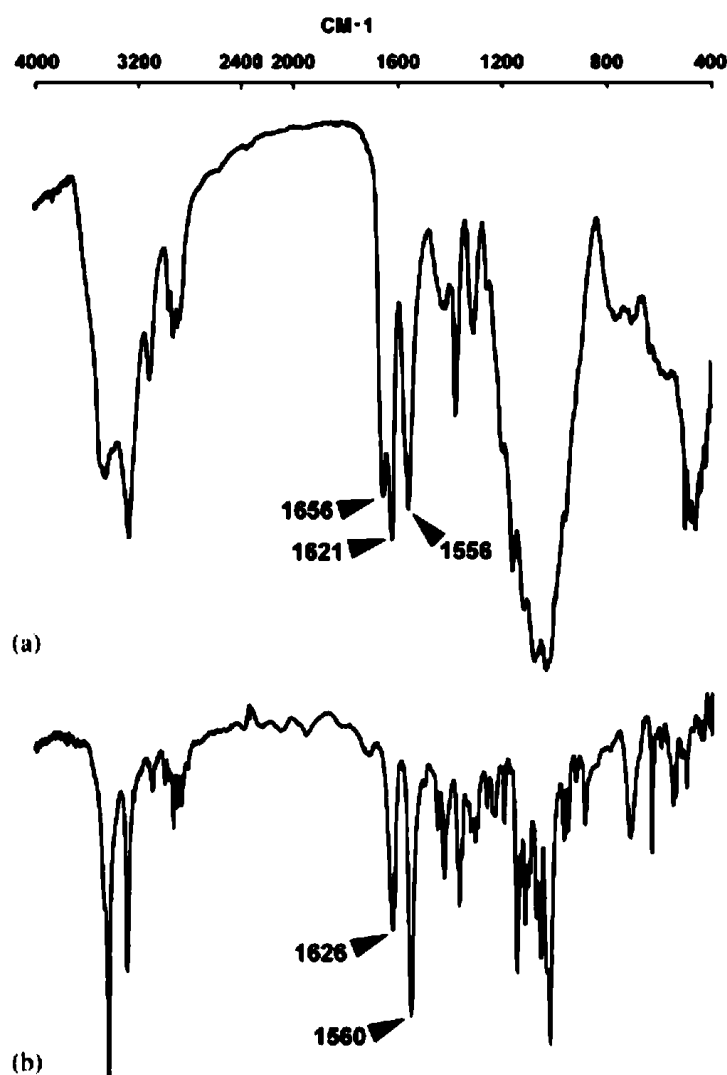


Figura 7 - Espectro FTIR de quitina: (a) quitina- α ; (b) quitina- β (Rinaudo, 2006)

2.2.3 Aplicações da quitina

A quitina, bem como o seu subproduto a quitosana, possui diversas aplicações na indústria.

Os materiais baseados em quitina foram inicialmente utilizados no tratamento industrial de poluentes e como absorvedores de complexos de sulfato (Songkroach, et al., 2004)

As aplicações dos materiais baseados em quitina são: os cosméticos, a indústria do papel, a oftalmologia, a fotografia, entre outros, conforme é possível verificar na tabela abaixo.

Tabela 5 - Principais aplicações da quitosana (Rinaudo, 2006)

Aplicações	Descrição
Agricultura	- Mecanismos de defesa das plantas - Estimulantes de crescimento em plantas - Revestimento de sementes, proteção anti congelamento - Fertilizantes e nutrientes de libertação lenta para o solo
Tratamento de água e lixos	- Floculante para clarear água (potável e para piscinas) - Remoção de iões metálicos - Polímero ecológico (elimina polímeros sintéticos) - Redutor de odores
Alimentação e bebidas	- Fibra dietética não digerível para os humanos - Redutor de colesterol - Conservante - Estabilizador para molhos - Propriedades de proteção, antifúngicas e antibacterianas e de revestimento para a fruta
Cosméticos e higiene	- Tratamento da acne - Melhora a resistência do cabelo - Reduz a eletricidade estática do cabelo - Tratamento oral (pasta dos dentes e pastilhas elásticas)
Bio farmacêutica	- Imunológico, anti tumoral - Hemostático e anticoagulante - Cicatrizante e bactericida

COSMÉTICOS E HIGIENE

A quitina é utilizada em aplicações cosméticas devido às suas propriedades fungicidas. As aplicações mais usuais são os cremes, as loções hidratantes e a fabricação de vernizes para unhas (Mark, et al., 1985).

INDÚSTRIA DO PAPEL

Outra das aplicações de subprodutos da quitina é o processo de acabamento do papel, no qual a utilização de quitosana transfere propriedades de impermeabilidade ao papel (G. Allan, 1972).

OFTALMOLOGIA

As técnicas de processamento para a obtenção da quitosana originam um produto final com todas as características necessárias para a obtenção de lentes de contacto. Estas características são: a claridade ótica, a estabilidade mecânica, a permeabilidade a gases, principalmente à difusão do O₂, bem como a permeabilidade à água.

Este tipo de lentes de contacto obtidas de um subproduto da quitina é mais claro, resistente e possui valores de resistência à tração e flexão mais elevados (Markey, et al., 1989).

FOTOGRAFIA

Na fotografia as aplicações da quitina devem-se ao facto de esta ser muito resistente à abrasão e também devido às suas características óticas para a formação de película (Muzzarelli, 1997).

2.3 Substratos de celulose

A biomassa utilizada nesta investigação foi, como referido no Capítulo 1, constituída por palhas de forragem animal e serrim de madeira.

A biomassa contém essencialmente quantidades variáveis de celulose, hemicelulose e lenhina. É possível comparar a celulose e a lenhina, no entanto, os estudos sobre a caracterização de hemiceluloses ainda são escassos e a hemicelulose é composta por dois a quatro tipos de resíduos de açúcar diferentes, dependendo da fonte, e é o segundo polissacarídeo mais comum na natureza (Peng, 2010).

Como a hemicelulose é o componente da fibra das palhas mais complexo, para obtenção de resultados e manipulação de amostras é utilizado o xilano, como representante do componente hemicelulose em processos de pirólise (Willner & Brunner, 2005).

2.3.1 *Propriedades da celulose*

As propriedades físicas mais importantes nas fibras de celulose, bem como o seu comportamento nas reações químicas, despertam o interesse da investigação, devido à relação com a macroestrutura molecular dos polímeros das fibras de celulose (Wickholm, et al., 1998). Este estudo investigou os efeitos da hidrólise ácida e a modificação de solventes nas características dos diferentes espectros de substratos de celulose, com destaque para a definição da estrutura molecular das formas não-cristalinas de celulose I.

A fórmula química da celulose é $(C_6H_{10}O_5)_n$ como mostra a Figura 8.

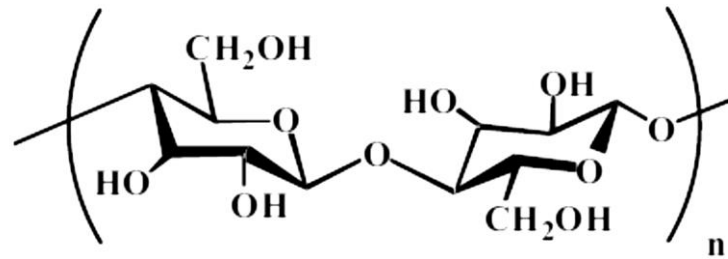


Figura 8 - Estrutura química da celulose (Daniel, 1985)

A celulose é obtida diretamente das plantas e denominada de celulose natural. Depois de dissolvida em vários solventes, é conhecida como celulose regenerada (celulose II).

As fibras lenhinocelulósicas são compostas por três componentes principais:

- celulose,
- hemicelulose,
- lenhina.

A celulose é cristalina e a lenhina é amorfa por natureza.

As fibras microcristalinas da celulose estão rodeadas por hemicelulose amorfa e o conjunto é embebido numa matriz de lenhina.

Tabela 6 - Cristalinidade de várias proveniências de celulose (Tatsuko & Hyoe, 2005)

Celulose natural	Cristalinidade (%)³	Celulose modificada	Cristalinidade
Fios de Cânhamo	69	Viscose	42
Fios de algodão	54		
Pluma de algodão	52		
Celulose de madeira	44		
Juta	36		
Paina	33		

³ A cristalinidade foi determinada usando como referência celulose do tipo amorfa.

A difusão de moléculas de água na região cristalina da celulose ocorre para as zonas amorfas da celulose. Simultaneamente ocorre o reordenamento das cadeias amorfas à medida que o teor de humidade aumenta.

O estado transiente deste processo é possível de ser observado quando um difratograma de DRX de celulose natural (celulose I) é analisado com diferentes teores de humidade da amostra, como é mostrado na Figura 9 (Tatsuko & Hyoe, 2005).

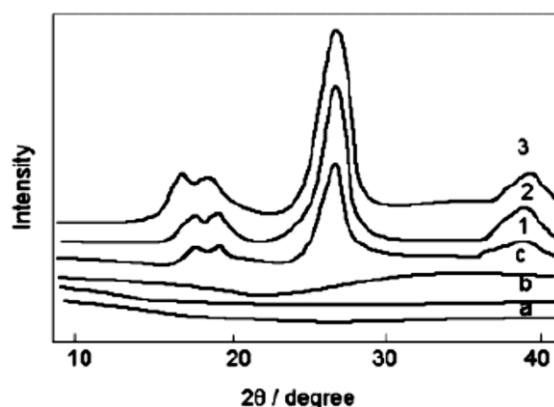


Figura 9 - DRX de celulose no estado natural e húmida: 1) amostra seca, 2) amostra húmida (HR=35%), 3: amostra molhada (HR=65%), a: célula de referência, b) célula de referência com HR=100% (Tatsuko & Hyoe, 2005)

A Figura 9 mostra o perfil de difratogramas de DRX de celulose natural de algodão e a Figura 10 mostra que o pico de cristalinidade mais elevado surge na amostra de celulose sujeita a tratamento químico. Os valores de cristalinidade observados são de 57,5% e 77,8% respetivamente para fibras não tratadas e fibras tratadas quimicamente (Sain & Alemdar, 2008).

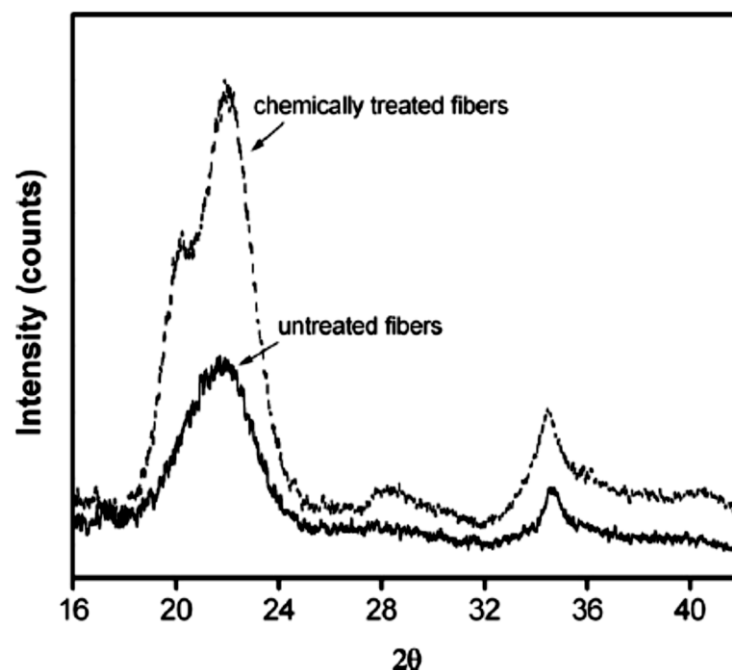


Figura 10 - DRX de fibras de celulose de resíduos agrícolas - tratadas e não tratadas (Sain & Alemdar, 2008)

2.3.2 Caracterização da celulose

A composição maioritária das fibras de celulose é a celulose como é possível verificar na Tabela 7.

Tabela 7 - Composição química e física de fibras de celulose (Anupama Kaushik & Mandeep Singh, 2011)

Fibras de palhas	Celulose- α (%)	Hemiceluloses (%)	lenhina (%)	Cristalinidade (%)
Sem Tratamento	43,2 $\pm$ 0,15	34,2 $\pm$ 1,2	22,0 $\pm$ 3,1	57,5
Tratamento químico	84,6 $\pm$ 4,41	6,0 $\pm$ 1,1	9,4 $\pm$ 0,8	77,8

A menor concentração de azoto nas amostras Figura 6 evidencia padrões de cristalinidade correspondentes com a celulose, conforme mostra a amostra (f). Esta amostra tem picos de difração nos ângulos 2θ de 15° até 17° e 22,5° que correspondem aos planos dos Índices de Miller de (110), (1-10) e (200). Estes planos cristalinos são típicos na celulose I (Tatsuko & Hyoe, 2005).

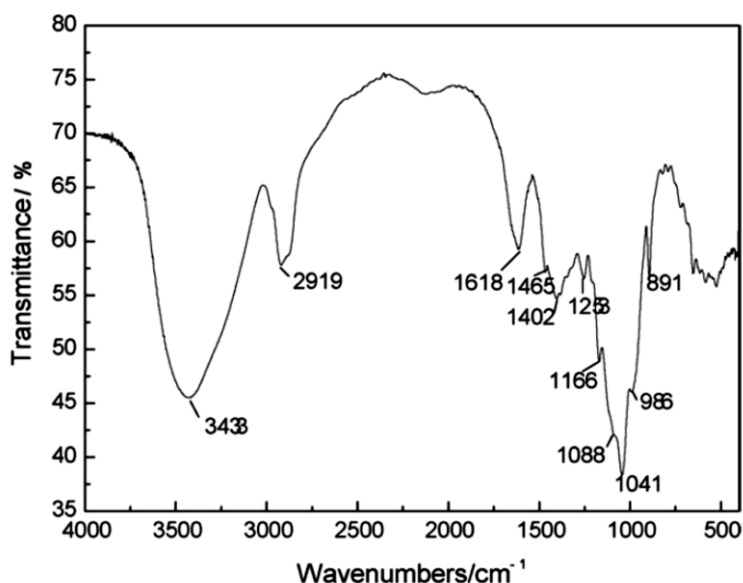


Figura 11- Espectro FTIR da hemicelulose de palha de trigo (Peng, 2010)

A hemicelulose de palhas de trigo, isolada após o processamento com benzeno/etanol (2:1, v/v) para a extração de lenhina, tem a estrutura típica da Hemicelulose de palhas (Peng, 2010), conforme é possível verificar na Figura 11. Este espectro FTIR evidencia as bandas de vibração características de infravermelhos de açúcares de hemiceluloses desde 1630 até 613cm^{-1} . O espectro a 891cm^{-1} é característico de anéis de glucose, ou seja, a presença de celulose (Sun, et al., 2004).

Tabela 8 - Principais Grupos Funcionais de Hemicelulose de palhas (Peng, 2010)

Número de onda (cm^{-1})	Grupos Funcionais	Componentes
3600-3000	O-H	Ácido
2860-2970	C-H	Álcool
1618		Água de ligação
~1465, 1253	CH_2	Alcanos
1440-1400	O-H	Ácidos
1402	C-H	Alcalinos
1170-1000		Xilano
1166, 1088	C-O-C	Anel de Pirano
1041	C-O	Grupo hidroxílico
891	C1-H	β -d-Xilose
788-400	C-C	Anel de açúcares

A banda de números de onda entre 1170 e 1000cm^{-1} é típica das bandas de absorção do xilano, o que significa que o constituinte principal da amostra é a hemicelulose e os aneis de pirano $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}$. O pequeno pico a 1166cm^{-1} evidencia a presença de resíduos de arabionose $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$ (Teleman, et al., 2000). Os grupos hidroxilos surgem a 1041 e

3433cm^{-1} . A 1618cm^{-1} surge uma evidência da presença de água na amostra (Fidalgo, et al., 1993) e os principais espectros de infravermelhos possíveis da hemicelulose são mostrados na Tabela 8.

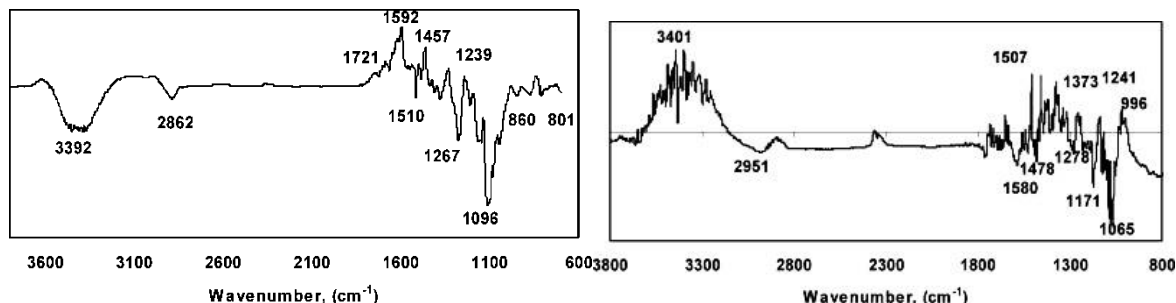


Figura 12 - Espectros FTIR de mistura de madeira de baixa e de elevada densidade (Nuopponen, et al., 2006)

Independentemente da precisão do modelo de infravermelho utilizado na análise de amostras de madeira, o método é suficiente para a caracterização da densidade dessas mesmas amostras (Nuopponen, et al., 2006).

As bandas de vibração mais significativas que influenciam a variação de densidade das amostras de madeira, bem como a sua geometria, podem ser observadas na Figura 12. As bandas de vibração positivas a 1720, 1592, 1457 e 1239 da Figura 12, representam amostras de madeira de baixa densidade e as bandas de vibração negativas a 3392, 2862, 1510, 1267, 1096, 860, e 801 cm^{-1} caracterizam amostras de madeira de baixa densidade. As amostras de madeira dura têm maior densidade e portanto as bandas de vibração positivas representam estruturas químicas dos constituintes dessas amostras (Nuopponen, et al., 2006).

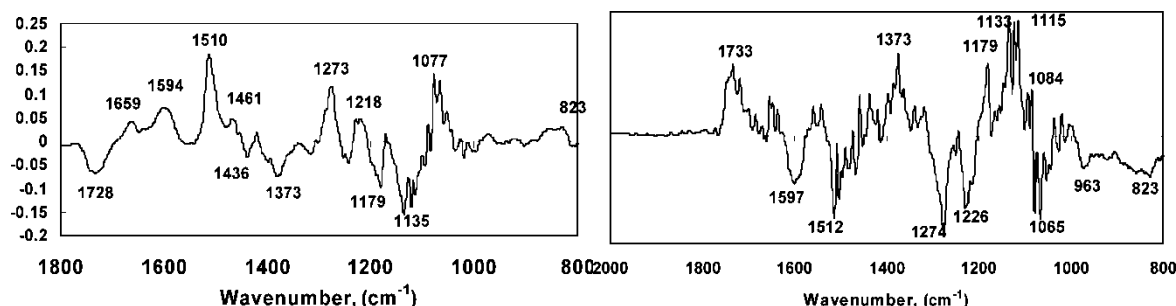


Figura 13 - Espectros FTIR principais de celulose e lenhina (Nuopponen, et al., 2006)

A título de exemplo, na Figura 13 mostramos mais dois espectros de identificação dos constituintes de amostras de celulose em análise FTIR.

Tabela 9 - Dimensão lateral média de fibrilas para diversas espécies de biomassa (Wickholm, et al., 1998)

Amostra	Comprimento das fibrilas	Valores de referência nm
Polpa de Bétula	$3,9 \pm 0,2$	1,5-5
Algodão	$7,1 \pm 0,2$	7-9
Celulose da família <i>Cladophara</i>	$13 \pm 6,1$	10-35

A determinação da dimensão lateral das fibrilas apenas pode ser realizada em amostras de celulose submetidas previamente ao processo de hidrólise para remoção das Hemiceluloses (Wickholm, et al., 1998). Na Tabela 9 é mostrado o resultado de medição da dimensão lateral de fibrilas de polímeros de Celulose.

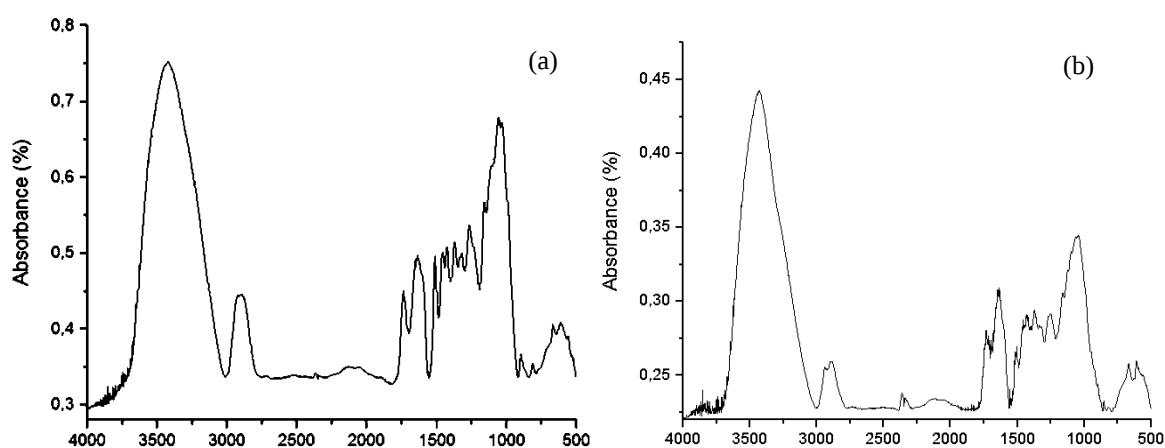


Figura 14 - Espectros FTIR utilizados nas amostras dos compósitos: (a) serrim, (b) palha

Na Figura 14 apresentamos espectros FTIR dos constituintes do compósito produzido na parte experimental deste trabalho, palha e serrim.

A amostra de serrim, bem como a amostra de palha em análise, têm evidentes características de serem ambas constituídas por elementos de lenhina e de celulose devido aos números de onda de 1510cm^{-1} e 861cm^{-1} respetivamente.

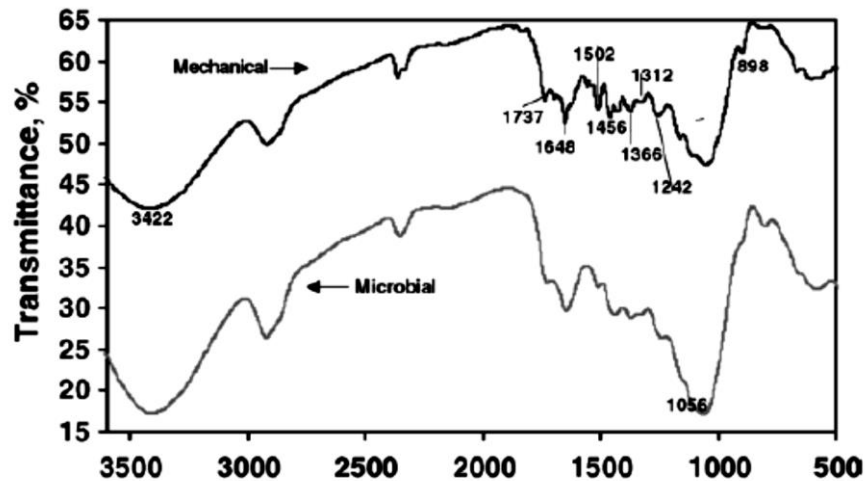


Figura 15 - Espectro FTIR de fibras de palhas (degradação mecânica e microbiológica) (Sain & Panthapulakkal, 2006)

Na Figura 15 vemos um exemplo de espectro FTIR de amostras de palhas com degradação mecânica e com degradação biológica das fibras.

2.4 Técnicas de produção de compósitos

2.4.1 Fabrico de compósitos de origem biológica

Os tratamentos biológicos de celulose envolvem o uso de microrganismos como fungos e bactérias. Estes tratamentos ocorrem em ambientes de origem aquosa e são relativamente baratos de se realizar

Os resíduos agrícolas são muito importantes para a produção de biopolímeros como o amido e o ácido polilático. O amido é biodegradável, quebradiço e tem fracas propriedades mecânicas. Como alternativa aos termoplásticos sintéticos, o amido não é a melhor solução. Além disso existem outras formas de potenciar as propriedades do amido, tais como a mistura com outros polímeros como o ácido polilático, o polietileno e o álcool polivinílico (Nishino, et al., 2004). Adicionalmente, outro método para melhorar as propriedades térmicas e mecânicas do amido pode ser a adição de materiais de enchimento

naturais. Desenvolvimentos recentes na produção de fibras de origem biológica, microfibras ou nanofibras de elevada resistência e área de superfície, conjugadas com os biopolímeros, oferecem elevadas performances na fabricação de compósitos (Fengel & Wegner, 1988) (Andersen, et al., 2006).

Nakagaito & Yano (2005) desenvolveram um novo conceito para produzir compostos à base de fibras de madeira de elevada resistência, com resistência à flexão de 370MPa. Com estas características, estes nanocompósitos têm propriedades de rigidez, durabilidade e resistência excelentes a temperaturas elevadas.

O amido é escolhido como matriz polimérica devido à sua biodegradabilidade.

2.4.2 Fabrico patenteado de compósitos

Como referido no capítulo 1, devido à evolução tecnológica verificada no desenvolvimento de compósitos à base de quitina e às restrições ambientais que se verificam em determinados estados dos Estados Unidos da América (EUA) no que concerne à poluição provocada pelo uso de EPS, as técnicas mais evoluídas para a produção desses mesmos compósitos à base de quitina estão a ser desenvolvidas no seio da investigação empresarial.

Nos EUA, verificaram que o EPS, um produto não biodegradável, ocupava 25% do espaço disponível em aterros. Devido a esta constatação, investigadores concluíram recentemente que os cogumelos que cresciam em aparas de madeira podiam ser utilizados para produzir um material alternativo ao EPS (Bayer, et al., 2007).

Assim, atualmente existem já materiais alternativos com patentes registadas não só para os Estados Unidos da América, mas também a nível mundial. Apresentamos em seguida algumas dessas patentes, selecionadas pela sua pertinência no âmbito da presente investigação.

US 2013/0202855 A1 - Um método de preparação de um componente de micélio, incluindo o crescimento de micélio vivo a partir de um inóculo de fungos e uma mistura líquida. O micélio vivo é curado para interromper o seu crescimento e formar um compósito de estrutura rígida. A mistura de micélio vivo é exposta à sua temperatura e humidade de saturação, na fase inicial. Na fase final, a estrutura do micélio é seca para formar um compósito endurecido.

US 8,313,939 B2 - Um método de fabrico de uma peça moldada, incluindo a formação de uma mistura líquida extraída de solo vegetal. Um inóculo de fungo e a mistura líquida são injetados numa primeira cavidade do molde. A primeira cavidade do molde é selada contra uma segunda cavidade do molde. O micélio vivo é desenvolvido a partir do inóculo de fungos para preencher as primeira e segunda cavidades do molde. O micélio vivo é curado para interromper o crescimento e desenvolvimento do substrato formado.

WO 2012/148995 A1 - Um composto de micélio hidratado contendo, pelo menos, uma combinação de micélio e fibras ou de micélio e partículas ou de micélio, partículas e fibras é processado com um material de nutrientes para promover o crescimento do tecido de micélio; depois é desidratado até um composto com um teor de humidade inferior a 50%, em peso, para desativar a continuação do crescimento do tecido de micélio; e, em seguida, é armazenado na forma de Pellets. Pode depois ser reidratado e moldado ou fundido em painéis que podem ser separados em cubos ou tijolos que podem ser empilhados e reidratados para fazer secções fabricadas.

WO 2012/122092 A2 | US 2012/0227899 A1 - Processo de geração de uma matriz de polímero homogéneo que compreende as etapas de:

- (1) Crescimento de um micélio viável numa suspensão líquida,
- (2) Extração do micélio da suspensão líquida
- (3) Incubação do micélio, por um período de tempo suficiente para induzir coesão e formar um material sólido,

(4) Secagem do material sólido para remover a humidade e inativar o micélio.

WO 2010/005476 A1 - O método de crescimento de um fungo frutificado requer a exposição de um micélio a condições ambientais adequadas à frutificação do fungo inicial no substrato orgânico seguido da colocação do fungo inicial num molde com a geometria desejada. O fungo inicial cresce e preenche o molde, formando uma massa fúngica de forma equivalente ao molde do qual é removida e seca.

US 2008/0145577 A1 - O compósito é constituído por um substrato de partículas aleatórias e uma mescla adesiva de células interligadas de micélio. O compósito é obtido através da inoculação de um substrato de partículas aleatórias e um material nutriente com um fungo previamente selecionado. O fungo digere o material nutriente ao longo de um período de tempo suficiente para o crescimento de hifas e para permitir que estas formem uma mescla de células interligadas de micélio à volta e entre as partículas dispostas aleatoriamente, unindo-as de modo a formar um compósito consistente. Num outro processo de frutificação o fungo cresce como uma forma viva fora do substrato e num molde de modo a formar um compósito consistente.

3. Processo Experimental

3.1 Processamento do compósito

O desenvolvimento miceliar é promovido por uma série de etapas que permitem o seu crescimento gradual. Inicialmente é necessário a repicagem do corpo frutífero do fungo, deixando-o proliferar numa placa com os nutrientes adequados, ao longo de 4 semanas, dependendo da espécie em questão. Esta placa repicada pode dar origem a 20 placas de igual tamanho, no processo de multiplicação, havendo uma relação de 1/20. Após condições idênticas à fase anterior, obtém-se um micélio perfeitamente desenvolvido. Esta fase permite a realização de *Spawn-mother*, cultura miceliar bem desenvolvida e forte que cresce em cereais de trigo esterilizado com o pH otimizado. Após 4 semanas de crescimento a 25°C, a cultura encontra-se finalizada para poder aumentar o seu grau de proliferação no produto *Spawn*, com nutrientes idênticos à fase anterior. Nesta fase, o micélio está forte o suficiente para ser utilizado em substrato com cerca de 10% de *Spawn*/substrato. Segue-se o processo de incubação, nas condições idênticas às fases anteriores, sendo os requisitos climatéricos de humidade e temperatura constantes ao longo de todo o processo de crescimento.

Findo o período de crescimento, procedemos à secagem em estufa ventilada a uma temperatura entre os 40°C e os 70°C durante mais de 16 horas para garantir a secagem efetiva das amostras.

ESTRUTURA DO COMPÓSITO CELULÓSICO

Para o fabrico dos provetes foi utilizado como substrato palhas de forragem animal provenientes de agricultores da região de Vila Real, com comprimento variável, bem como serrim proveniente de serragem de madeiras. Os fungos utilizados pertencem à família *Pleurotus*.

A utilização de palhas de forragem animal e de serrim deve-se essencialmente ao facto de estes serem constituídos, como foi referido anteriormente, de celulose, hemicelulose, entre outros, constituintes únicos que favorecem o crescimento de fungos.

As palhas/feno de forragem animal são uma mistura de plantas gramíneas e leguminosas desidratadas, para a alimentação de gado. O feno utilizado neste trabalho é maioritariamente constituído por trigo, centeio e milho.



Figura 16 –Execução dos provetes: (a) Mistura palha + serrim, (b) Spawn de *Pleurotus ostreatus*, (c) provete final

le
serrim proveniente da serragem de madeiras. As madeiras constituintes do serrim são maioritariamente o Pinheiro Bravo (*Pinus pinaster*), a Bétula (*Bétula pendula*) e o Carvalho (*Quercus faginea*).

A moldagem dos provetes a utilizar foi realizada com recurso a um conjunto de tabuleiros de alumínio, com dimensão de 80mm x 40mm x 30mm, adquiridos no comércio local.

MÉTODO DE TRABALHO UTILIZADO PARA OS ENSAIOS REALIZADOS

Para procedermos à realização dos ensaios necessários à caracterização do material a que nos propusemos no objetivo deste trabalho, decidimos enumerar as nossas amostras por números 1, 2 e 4. Todas as 3 amostras anteriores tiveram condições de humidade e temperatura idênticas e o processamento das mesmas foi realizado em conjunto.

Para procedermos à caracterização química dos provetes, utilizamos como amostra de referência um provete proveniente da ECOVATIVE® (USA). Todas as amostras foram submetidas a uma bateria de ensaios de caracterização química e morfológica, com a sequência demonstrada na Figura 17. Os ensaios tiveram início com SEM, seguidamente EDS, WDS, DRX e finalmente FTIR.

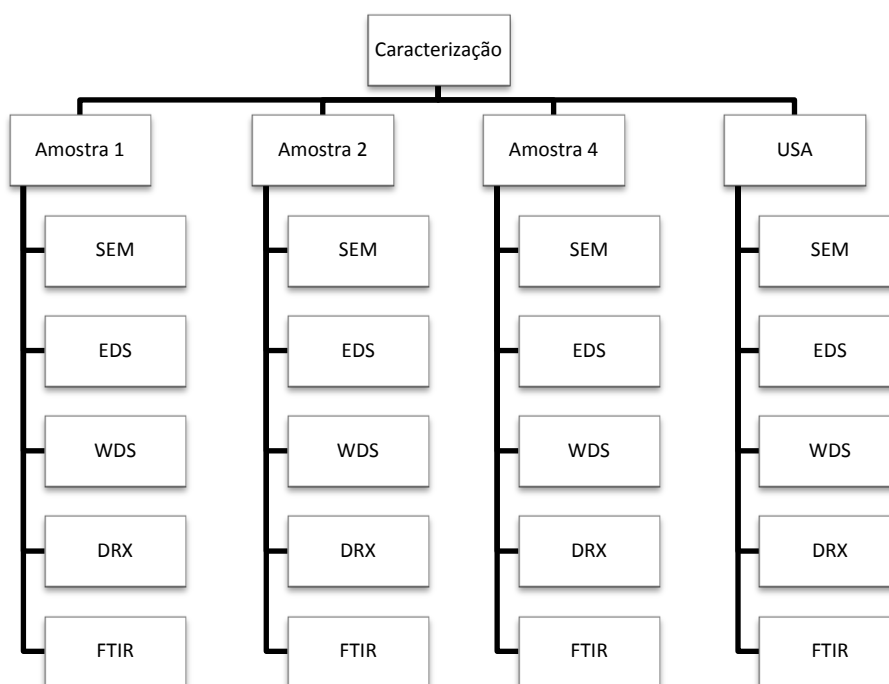


Figura 17 - Esquema de ensaios das amostras

3.2 Caracterização química e morfológica

3.2.1 *Microscopia Eletrônica de Varrimento*

O estudo efetuado em Microscópio Eletrônico de Varrimento SEM (SEM/ESEM FEI QUANTA – 400) foi realizado após a preparação das amostras. As amostras foram colocadas sobre pinos de alumínio e fixadas em cola de carbono. Para a visualização foi utilizado o modo de Baixo Vácuo, tendo sido usada uma pressão parcial no interior da câmara de 1,33mbar e uma tensão de aceleração de 30kV. Foram tiradas diversas fotomicrografias, com ampliações desde 40× até 150×.

Este método de análise é utilizado para observar a estrutura interna da amostra. Outra das valências da utilização deste tipo de tecnologia de análise é a possibilidade de observar o grau de proliferação do fungo juntamente com o substrato, por forma a promover a ligação fibras/micélio..

3.2.2 *Espectroscopia de raios-X de Energia Dispersiva*

Após a análise de SEM, com recurso às mesmas amostras utilizadas anteriormente, foi utilizada a Espectroscopia de raios-X de Energia Dispersiva (EDS - “*Energy Dispersive Spectrometry*”). Este tipo de caracterização permite obter uma análise química elementar nas amostras, tendo sido utilizado sempre o mesmo tempo de aquisição dos espetros.

3.2.3 *Espectrometria por Dispersão de Comprimento de Onda*

A análise quantitativa dos elementos químicos de um determinado material foi realizada recorrendo ao método de Espectrometria por Dispersão de Comprimento de Onda (WDS - *Weight Dispersive Spectroscopy*).

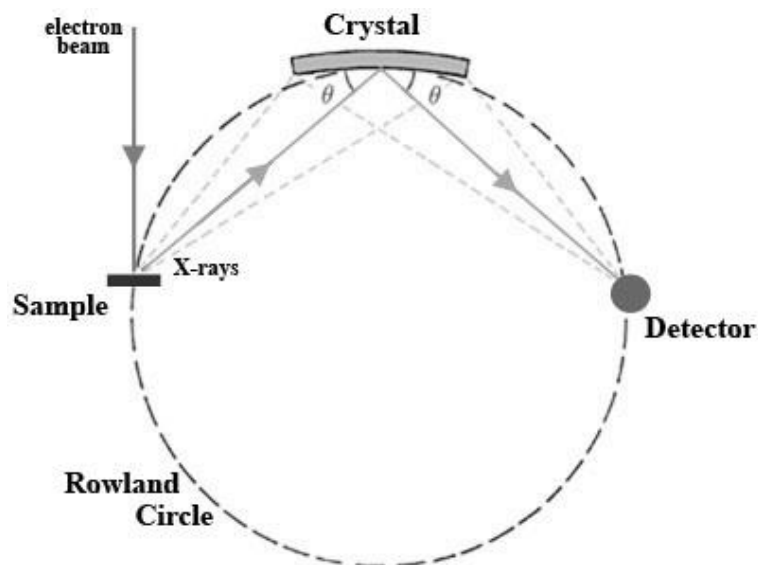


Figura 18 – Princípio de funcionamento do WDS (Carlton College, s.d.)

Este método consiste em contar o número de raios-X incidentes no corpo cristalino com diferentes comprimentos de onda que, seguidamente, serão refletidos e recolhidos pelo recetor que interpreta o sinal, conforme é possível observar na Figura 18.

3.2.4 Difração de Raios X

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

A Difração de Raios X é uma técnica de caracterização da estrutura cristalina, e a estrutura superficial das fibras do substrato de celulose e também da estrutura superficial das nanofibras de quitina.

Para obtenção de difratogramas de Raios X (PANalytical modelo X'Pert PRO com detector X'Celerator), as amostras foram colocadas num porta-amostras padrão. A energia usada na produção da radiação X foi de 40kV a 30mA. A aquisição foi efetuada na geometria Bragg-Bentano entre $10 < \theta < 80$.

INFORMAÇÃO ANALÍTICA

Na Figura 19 (Anupama Kaushik & Mandeep Singh, 2011) é possível observar o espectro de DRX para várias amostras de celulose e também para uma amostra de palha

(Anupama Kaushik & Mandeep Singh, 2011) a qual nós utilizamos como espectro de referência para a celulose contida nas palhas utilizadas para a obtenção do nosso polímero e também para comparação com a amostra de base.

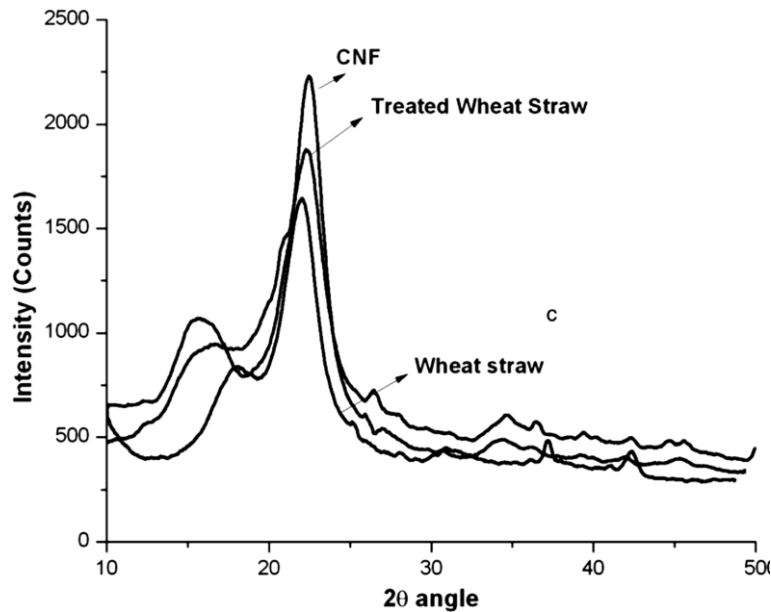


Figura 19 - Espectro DRX de referência para a palha (Anupama Kaushik & Mandeep Singh, 2011)

A cristalinidade da celulose é calculada segundo a intensidade da difração nos dados obtidos das amostras na análise DRX. Os planos de *Miller* mais evidentes para a celulose são os (101), (021), (002) e (040) respectivamente aos ângulos de refração 2θ de 14.8° , 16.7° , 22.5° e 34.6° (Krassig, 1985).

A determinação do Índice de cristalinidade das amostras foi obtida pela equação (1):

$$IC = 100 \times \frac{I_{002} - I_{Amorf.}}{I_{002}} \quad (1)$$

I_{002} --> Intensidade máxima para o plano (002)

$I_{Amorf.}$ → Intensidade máxima de difração $2\theta = 18^\circ$

3.2.5 Espectroscopia de infravermelhos por Transformada de Fourier

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

O FTIR é uma técnica analítica utilizada para identificar materiais orgânicos e, por vezes, materiais inorgânicos das amostras em análise. Esta técnica mede a absorção de radiação infravermelha do material de amostra em função do comprimento de onda. As bandas de absorção de infravermelhos identificam os componentes moleculares e as estruturas moleculares.

Quando uma amostra é exposta à radiação infravermelha, esta é geralmente absorvida, excitando as moléculas com uma determinada vibração. O comprimento de onda da luz absorvida por uma determinada molécula é diretamente proporcional à função da diferença de energia entre o repouso e os estados excitados de vibração. Os comprimentos de onda que são absorvidos pela amostra são as evidências para caracterização da estrutura molecular da amostra.

O FTIR utiliza um interferómetro para modular o comprimento de onda de banda larga a partir de uma fonte de infravermelhos. Um detetor mede a intensidade da luz transmitida ou refletida em função do comprimento de onda. O sinal obtido a partir do detetor é o diagrama de interferências, que deve ser analisado com Transformada de Fourier para se obter um espectro de infravermelho de feixe único. Os espectros de FTIR são geralmente apresentados como gráficos de intensidade em função do número de onda (em cm^{-1}). Número de onda é o inverso do comprimento de onda. A intensidade pode ser representada graficamente como a percentagem de transmitância de luz ou de absorvância a cada número de onda.

INFORMAÇÃO ANALÍTICA

Para identificar o material a ser analisado é necessário proceder à identificação qualitativa desse mesmo material. O espectro de absorção de infravermelhos desconhecido é comparado com espectros padrão de computador em bases de dados ou com um espectro obtido a partir de um material conhecido como o da palha e do serrim, utilizados para a realização dos provetes em análise.

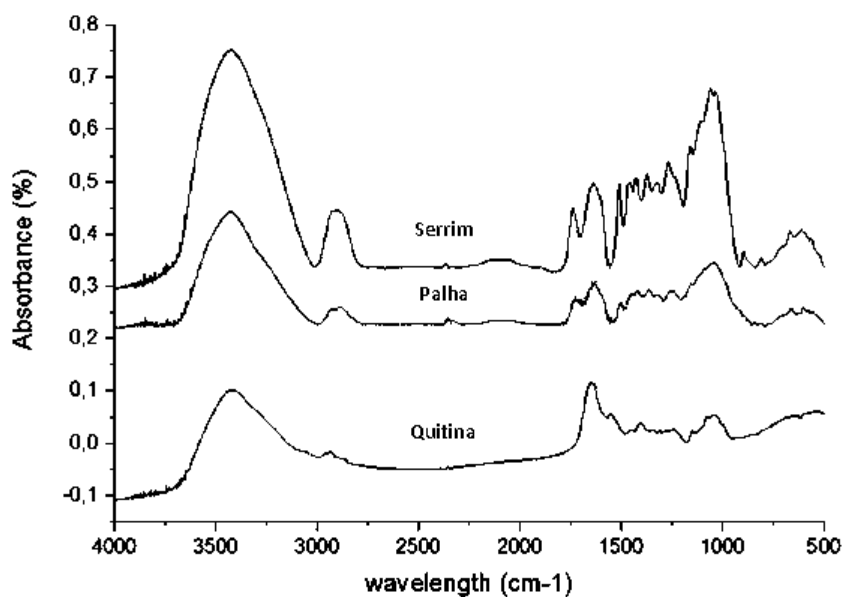


Figura 20 - Espectros FTIR padrão (serrim palha e quitina)

Os espectros iniciais de uma amostra permitem identificar o polímero ou outros componentes existentes. As bandas de absorção de 4000 a 1500 cm^{-1} devem-se tipicamente a grupos funcionais, como por exemplo, -OH, C=O, NH, CH₃, entre outros. A região na frequência de onda do intervalo de 1500 a 400 cm^{-1} é referida na literatura como a região de impressão digital das amostras.

As unidades de absorção nesta região são geralmente devidas a fenômenos intramoleculares e são altamente específicos para cada material. A especificidade destas bandas permite buscas de dados computadorizadas dentro de bibliotecas de referência, para identificação de um determinado material.

É possível verificar a presença de celulose no serrim utilizado, visto que observamos sensivelmente a 896 cm^{-1} uma banda com valor positivo de absorvância, como se de uma amostra de biomassa tratada quimicamente se tratasse.

QUANTIFICAÇÃO

Para quantificar a concentração de um composto, pode ser obtida a partir da área sob a curva em regiões características do espectro de Infravermelhos. A concentração de calibração é obtida através da definição de uma curva padrão a partir de espectros de concentrações conhecidas.

4. Análise química e morfológica

4.1 Análise dos resultados de SEM

Por comparação das amostras 1, 2 e 4, com a amostra de referência, a primeira constatação é de que as fibras de biomassa utilizadas são de maior tamanho que as fibras de biomassa da amostra de referência.

Nas amostras 1 e 4 é possível verificar um desenvolvimento do fungo mais disseminado do que na amostra 2. Este resultado seria espectável pois as amostras 1 e 4 tiveram 34 dias de incubação do fungo e a amostra 2 apenas teve 10 dias para incubação. As três amostras tiveram condições idênticas de humidade e temperatura durante o período de incubação.

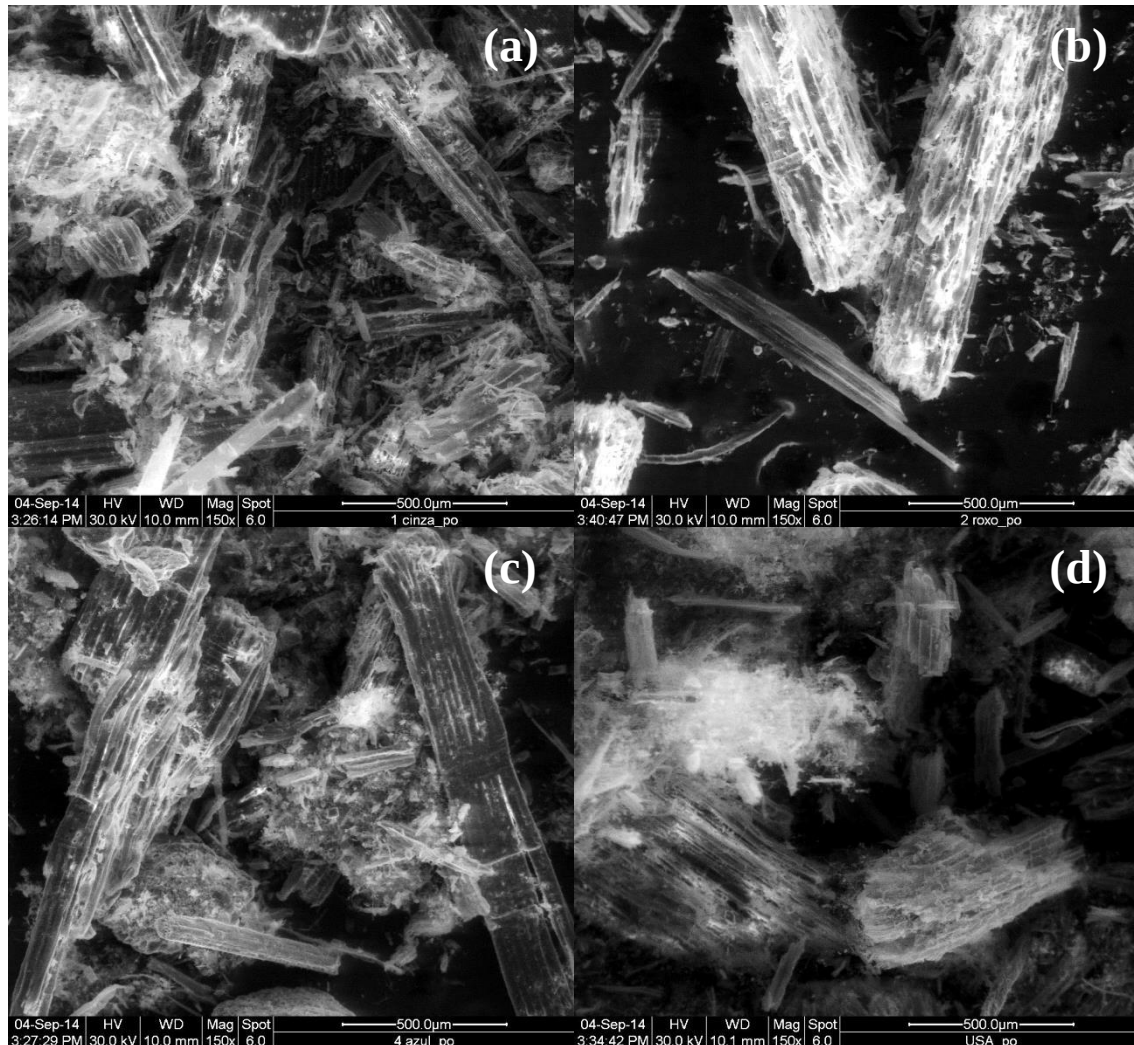


Figura 21 - SEM das amostras a 150×: (a) Amostra 1; (b) Amostra 2; (c) Amostra 4; (d) USA

Por comparação das imagens da Figura 21, é possível dizer que a biomassa utilizada nas amostras 1, 2 e 4 tem maior dimensão do que a biomassa utilizada na amostra de referência. Desta forma, utilizando fibras mais pequenas, o fungo tem tendência a dispersar mais depressa, como é possível constatar nas imagens.

Analogamente, o tamanho das fibras influencia consideravelmente a taxa de desenvolvimento do fungo.

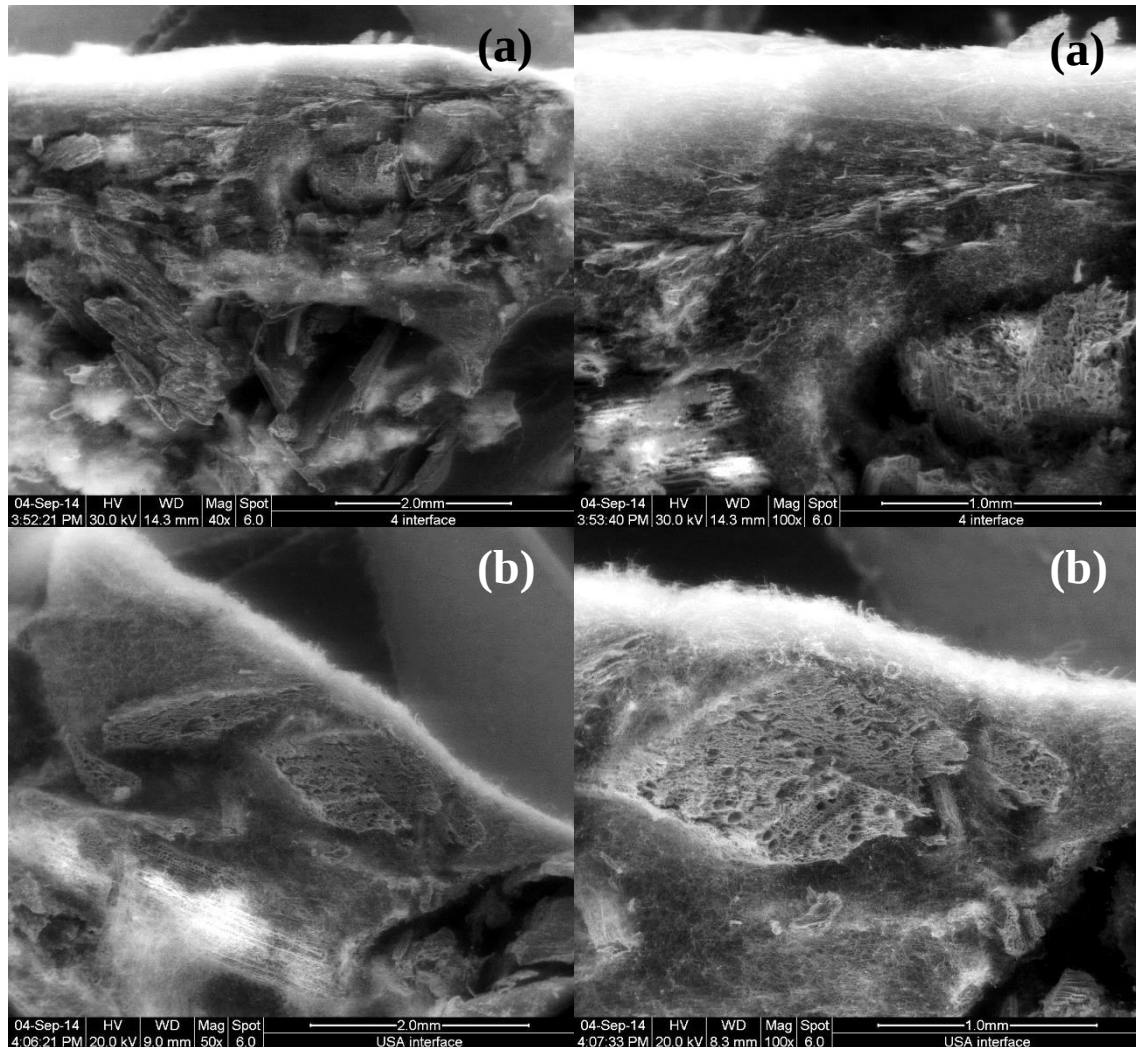


Figura 22 - SEM da interface fungo+substrato: (a) Amostra 4; (b) USA

Nas imagens SEM de interface fungo+substrato é possível verificar em detalhe a dispersão do crescimento do fungo na envolvente da biomassa.

Na amostra de referência existem menos espaços vazios entre as fibras do que na amostra 4, conforme é possível verificar.

Com estes dados, podemos dizer que o tamanho das fibras de biomassa influencia o crescimento e disseminação do fungo.

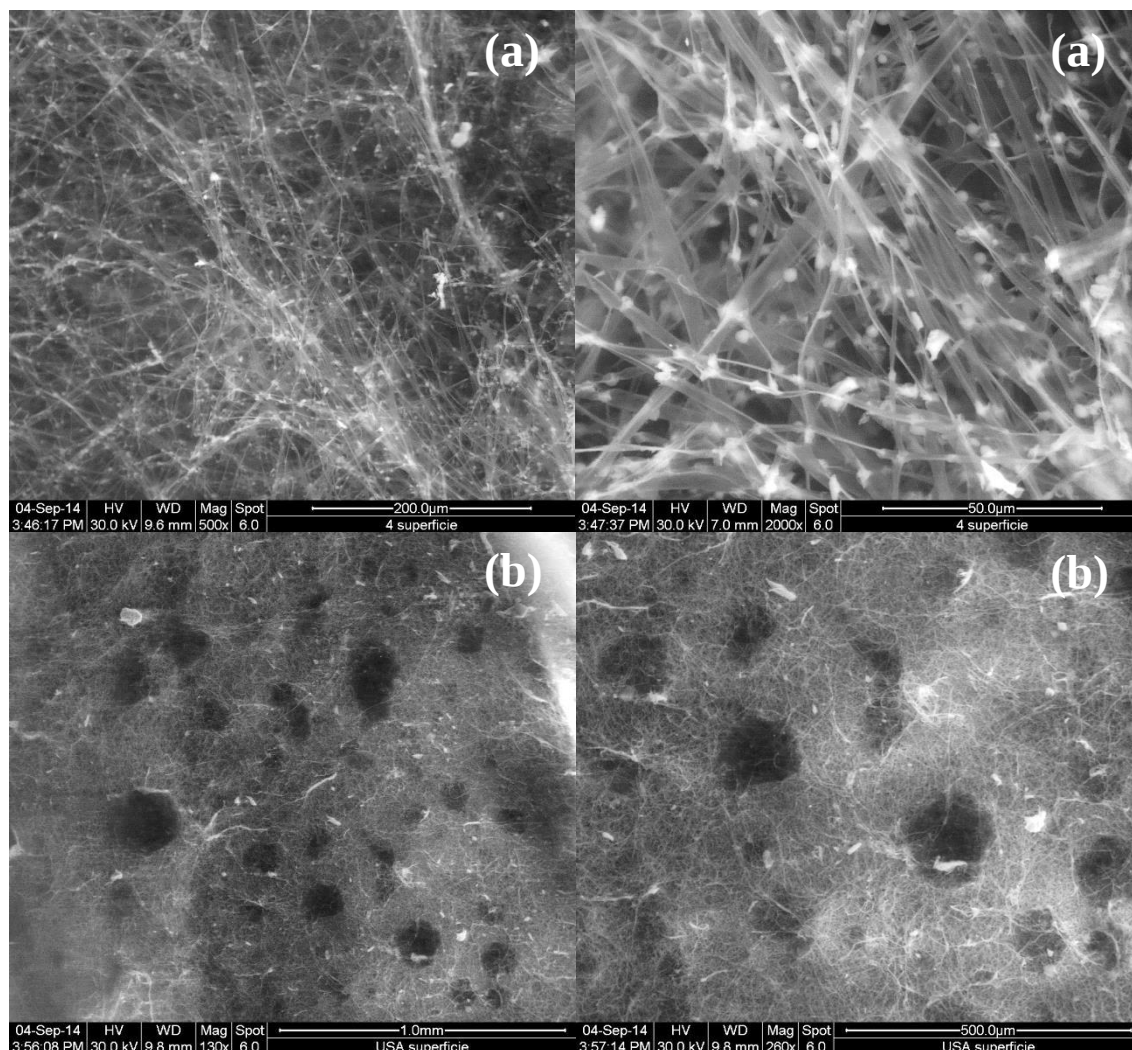


Figura 23 - SEM da superfície: (a) Amostra 4; (b) USA

Por observação da amostra de referência, esta possui porosidades na superfície heterogeneamente dispersas, como é possível verificar na Figura 23 - SEM da superfície: (a) Amostra 4; (b) USA.

Na Figura 23 é possível verificar que as nanofibras de quitina presentes na superfície da amostra 4 utilizando uma ampliação de 2000× não evidenciam degradação por ação da hidrólise com a água, visto que a superfície das nanofibras de quitina não aparentam poros na superfície.

4.2 Análise dos resultados de EDS

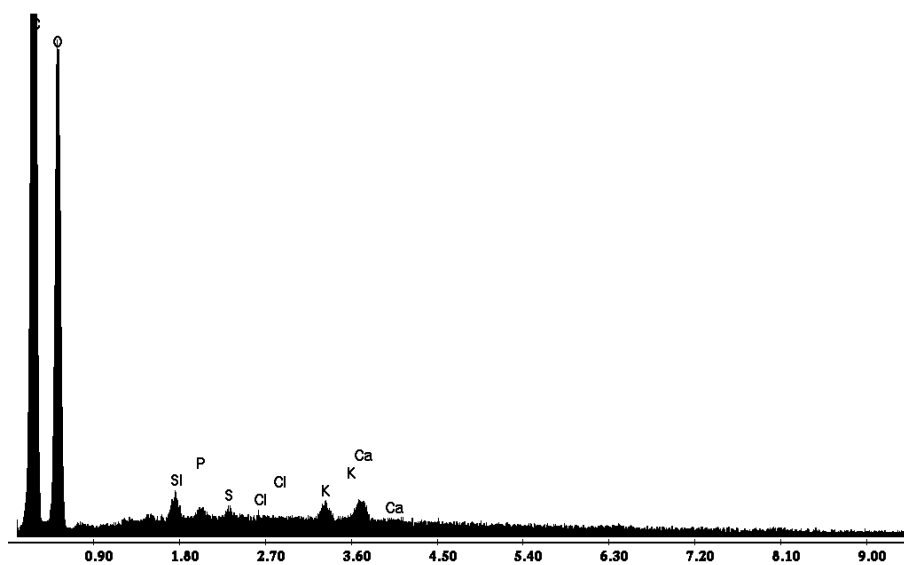


Figura 24 - EDS da Amostra 1

Os constituintes biomassa+fungo das amostras 1, 2 e 4 foram misturados ao mesmo tempo e, portanto, previsivelmente os resultados da análise EDS deveriam ser semelhantes.

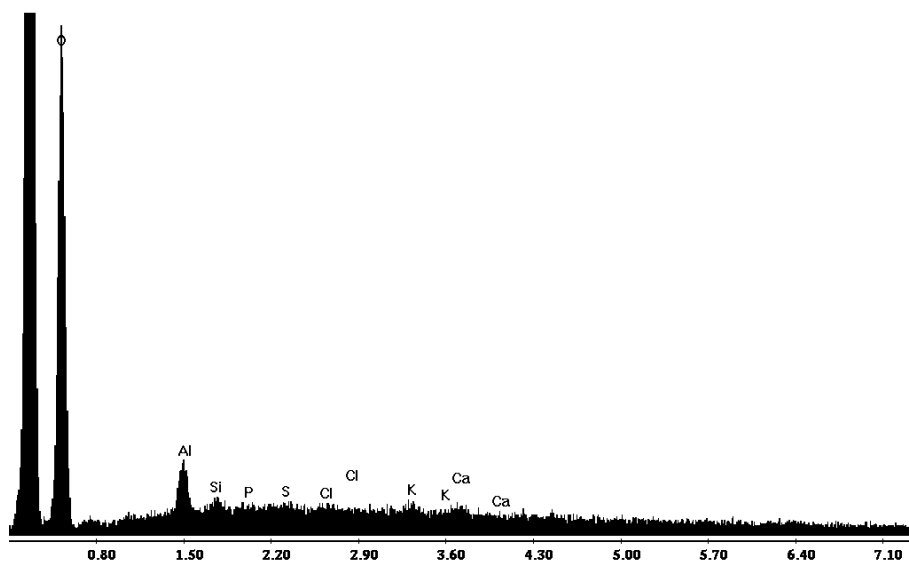


Figura 25 - EDS da Amostra 2

No entanto, as amostras 2 e 4 apresentam picos característicos de alumínio, que certamente tiveram proveniência de alguma contaminação dos tabuleiros utilizados na produção do compósito.

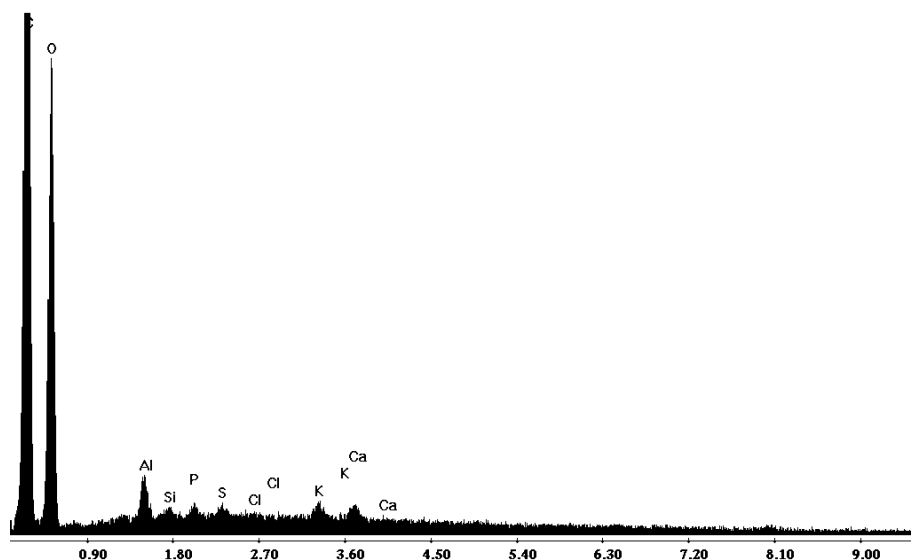


Figura 26 - EDS da Amostra 4

Observando os espectros EDS da amostra de referência foi possível detetar a presença de magnésio, juntamente com os elementos químicos também presentes nas nossas amostras. Além disso, a amostra de referência apresenta um pico de difração identificado como pertencendo ao cálcio.

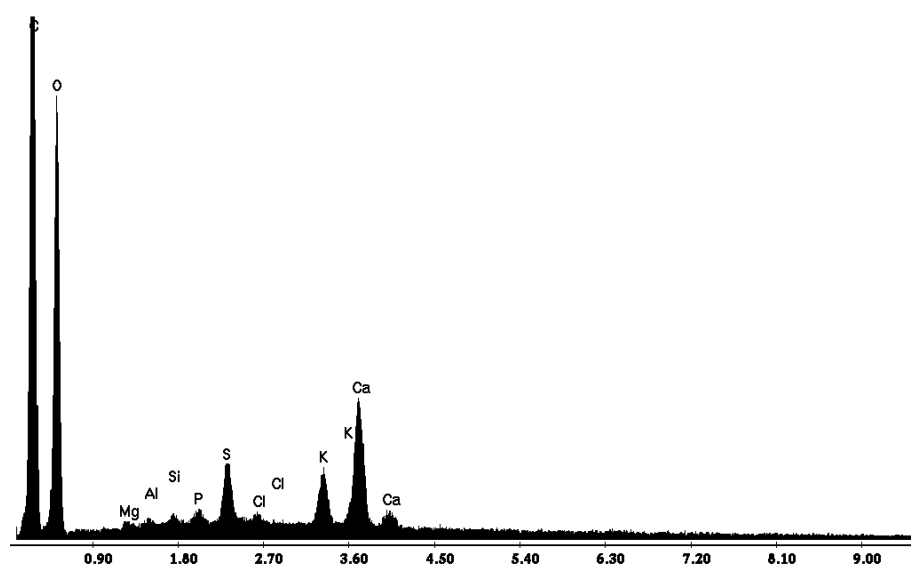


Figura 27 - EDS da Amostra de referência

4.3 Análise dos resultados de WDS

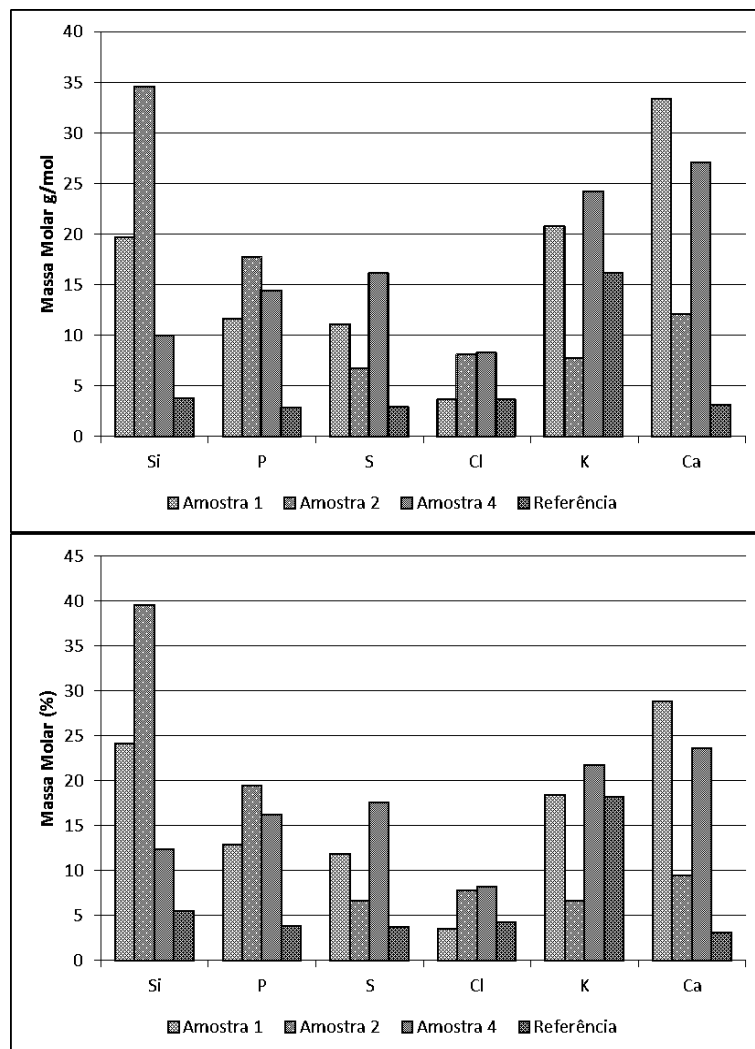


Figura 28 - Análise WDS (g/mol) e (%)

Na Figura 28 é possível quantificar os elementos químicos presentes nas amostras em estudo.

Tabela 10 - Resultados obtidos na análise WDS

	Si		P		S		Cl		K		Ca	
	%wt	%	%wt	%	%wt	%	%wt	%	%wt	%	%wt	%
Amostra 1	19,61	24,33	11,58	12,96	11,03	11,94	3,64	3,56	20,77	18,43	33,36	28,87
Amostra 2	34,56	39,6	17,72	19,5	6,69	6,68	8,11	7,82	7,71	6,73	12,05	9,52
Amostra 4	9,92	12,4	14,39	16,31	16,13	17,65	8,3	8,21	24,22	21,74	27,05	23,69
Referência	3,71	5,51	2,87	3,84	2,9	3,73	3,64	4,25	16,16	18,21	3,09	3,14

4.4 Análise dos resultados de DRX

O método de análise por DRX determina os componentes cristalinos presentes nas amostras em estudo. É também útil para determinar a quantidade de matéria amorfa e, como tal, a análise de picos a realizar é para compostos de origem orgânica.

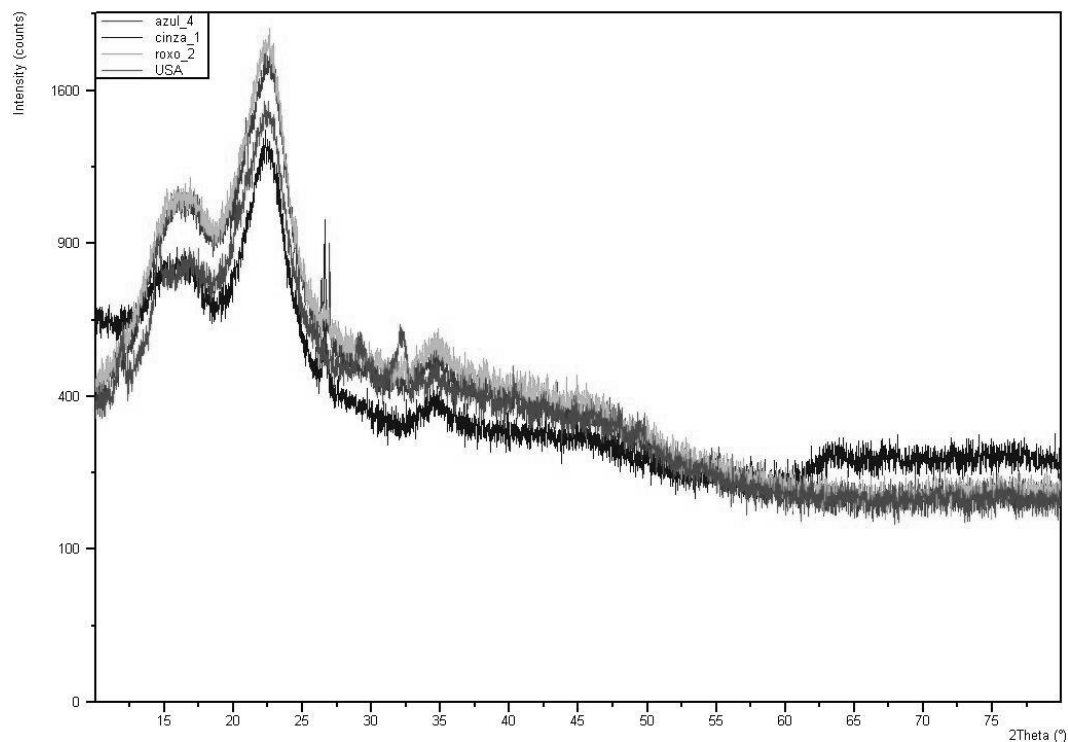


Figura 29 - Sobreposição de espectros de DRX

Uma vez que as amostras apresentam elevado teor em material amorfo, não é possível identificar com acuidade as fases cristalinas presentes. No entanto, apesar da indefinição, é possível observar algum grau de cristalinidade, como pode ser observado na Figura 29.

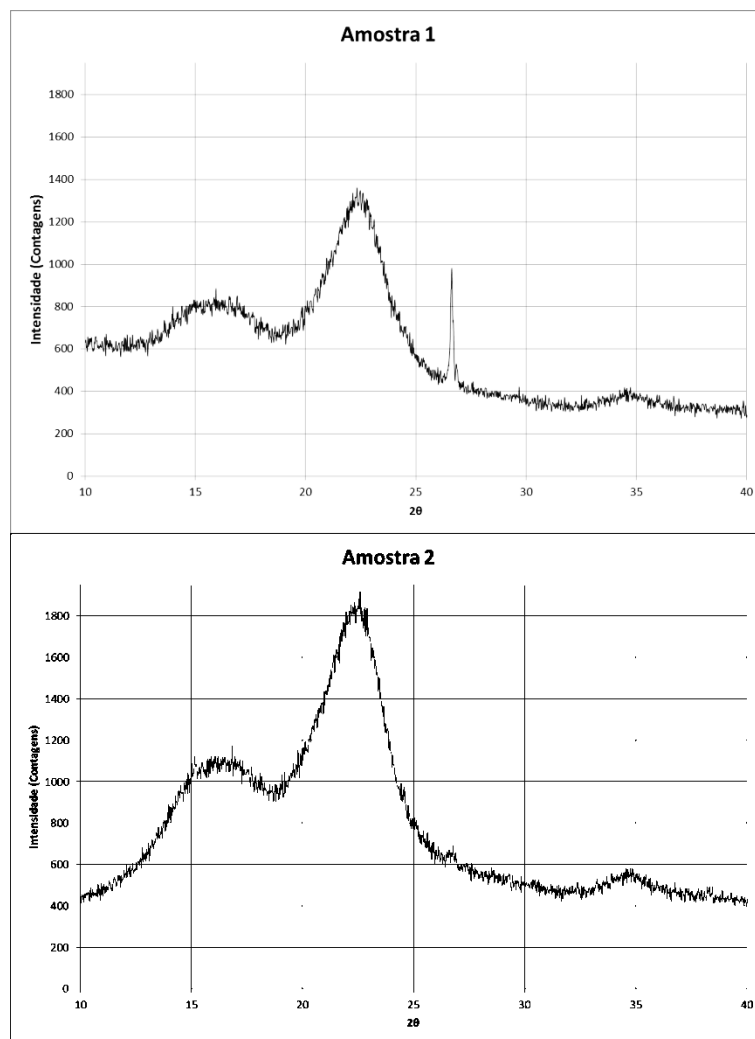


Figura 30 - DRX das amostras 1 e 2

A quitina possui algumas cristalinidades, como referido anteriormente. Devido a esse facto, para identificarmos a cristalinidade das amostras em análise procedemos à identificação dos picos de intensidade máxima I_{002} dos espectros em análise, bem como o valor da intensidade máxima de difração $I_{Amorf.}$ com $2\theta = 18^\circ$ como mostra a Tabela 11.

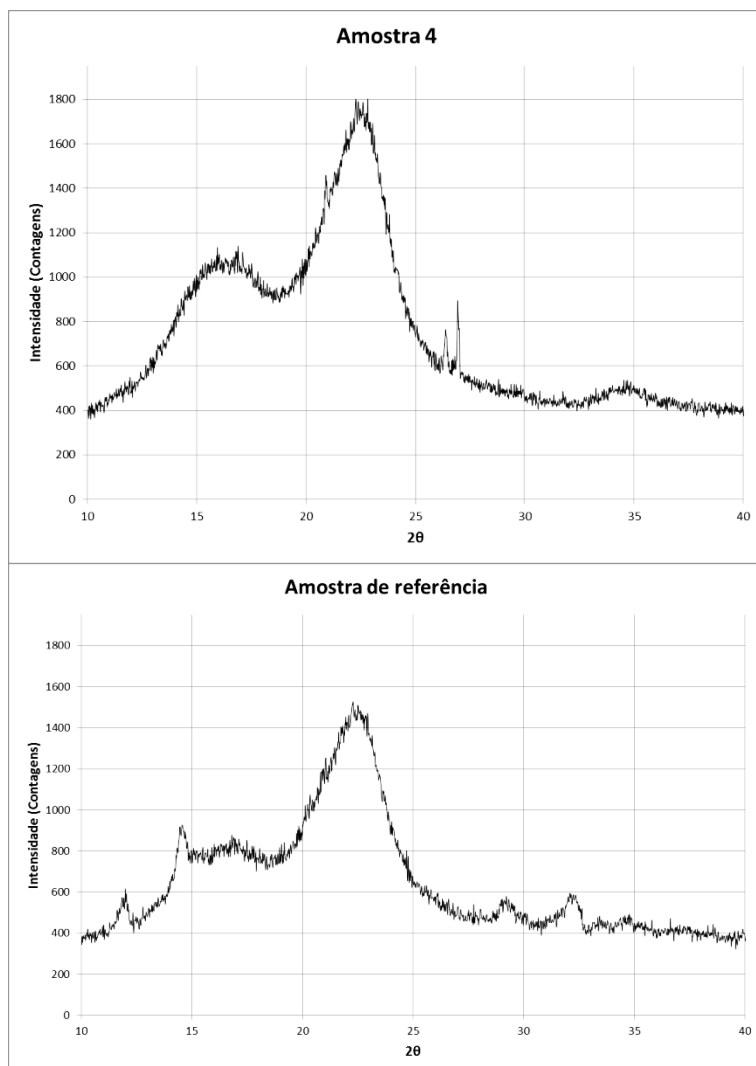


Figura 31 - DRX das amostras 4 e de referência

O valor do Índice de Cristalinidade obtido, presente nas 4 amostras em análise, está presente na Tabela 11.

Tabela 11 - Índice de Cristalinidade das amostras

	$\sigma_{\max}$	I_{002}	$I_{\text{amorf.}}$	Cristalinidade
Amostra 1	23,502	1362	711,5	47,76%
Amostra 2	19,184	1918	978,5	48,98%
Amostra 4	22,822	1803	930,0	48,42%
Referência	22,278	1528	758,5	50,36%

4.5 Análise de resultados de FTIR

A informação útil para caracterização do material encontra-se entre os $2000\text{-}500\text{cm}^{-1}$.

A banda de vibração mais elevada e mais definida é geralmente a água, e está sempre compreendida entre os 4000 e 3000 cm^{-1} .

Os espectros de FTIR mostram resultados típicos de cadeias de polissacarídeos devido à elevada cristalinidade das amostras e devido ao facto de surgirem diversas bandas de vibração muito afiadas. A região de C=O das Amidas entre 1600 e 1500cm^{-1} é bastante interessante devido ao facto de mostrar diferentes assinaturas da quitina.

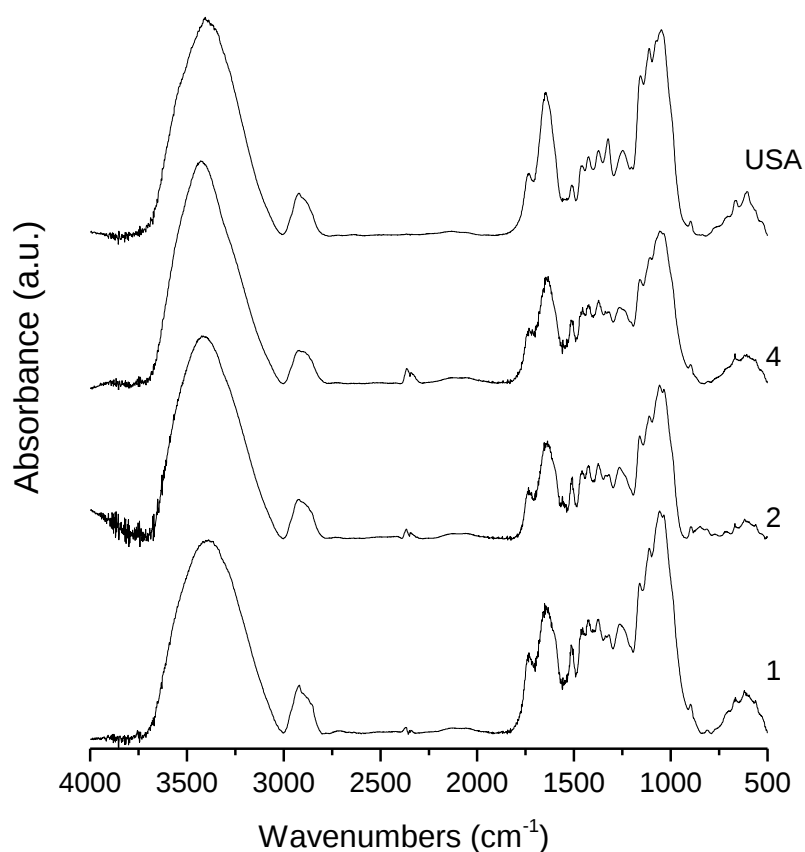


Figura 32 - FTIR das 4 amostras

Na observação da Figura 32, comparando os quatro espectros obtidos, é possível verificar que existe ruído nos espectros entre 4000 e 3750cm⁻¹ sensivelmente. Este ruído na análise é resultado da presença de água que, mesmo sendo residual e proveniente provavelmente da manipulação das amostras para preparação dos provetes para análise laboratorial, contamina o resultado final.

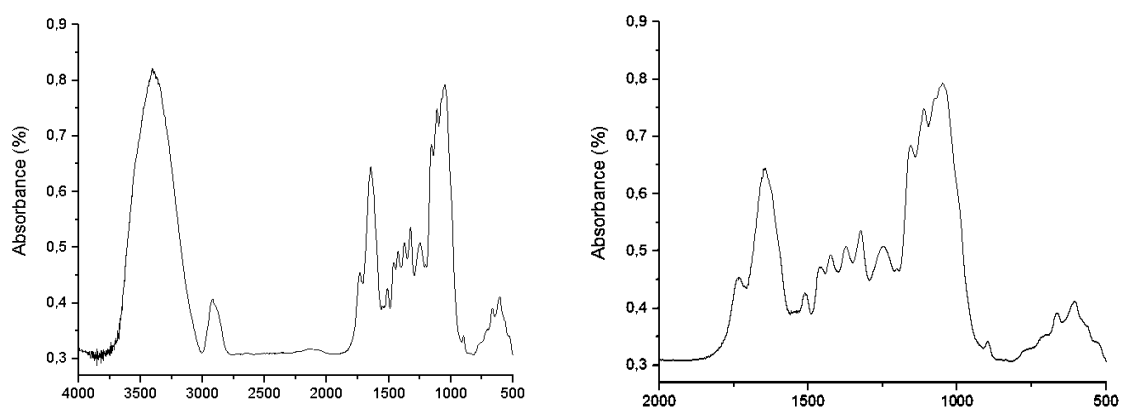


Figura 33 - FTIR da amostra de referência

Tabela 12 – Análise dos elementos orgânicos da amostra de referência

Número de onda (cm ⁻¹)	Descrição da amostra de referência
3700-3100	Demonstra a tendência hidrofóbica das fibras de palha relacionadas com os grupos OH ⁻
3369	Faixa alongada devido às vibrações do hidrogénio nos grupos hidroxilo
2922	Vibração dos polissacarídeos da lenhina (celulose e hemicelulose)
1734	Grupo Ester da hemicelulose ou ligação do Grupo Carboxílico dos ácidos da lenhina ou da hemicelulose
1652	Água de absorção da amostra e alguns contributos de Grupos Hidroxilos
1373	Deformação assimétrica de C-H
1250	Hemicelulose
1200-1059	Deformação das bandas de celulose, lenhina e hemicelulose
897	Estrutura típica da celulose

Para obtenção das amostras a utilizar na análise por FTIR, foi utilizado KBr, como referência, numa proporção 175mg KBr/2mg de compósito.

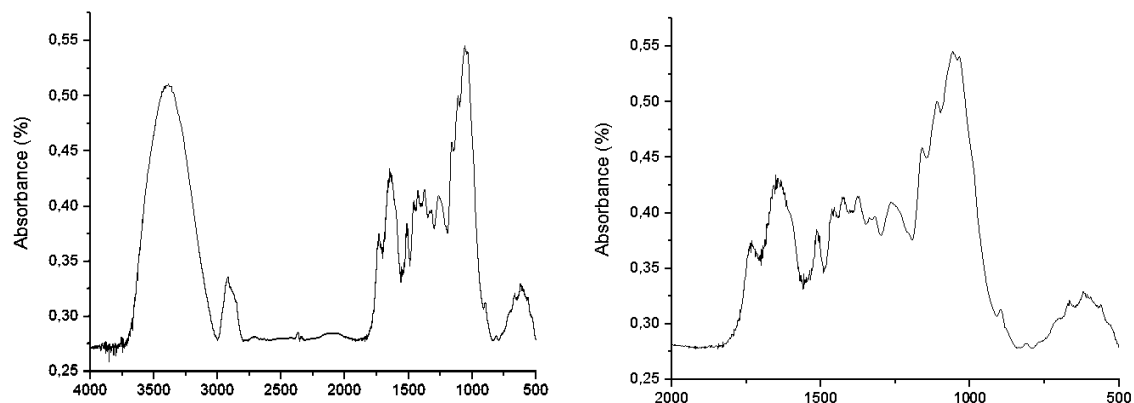


Figura 34 - FTIR da amostra 1

Tabela 13 – Análise dos elementos orgânicos presentes na amostra 1

Número de onda (cm ⁻¹)	Descrição da amostra 1
1737	Presença dos grupos carboxílicos presente nos ácidos e esteres acéticos constituinte da hemicelulose
1640	Absorção de moléculas de água associada às fibras de celulose
1515	Quitina- α

O gráfico com menos qualidade, com mais ruído e menos intensidade de bandas de vibração é o da amostra 2.

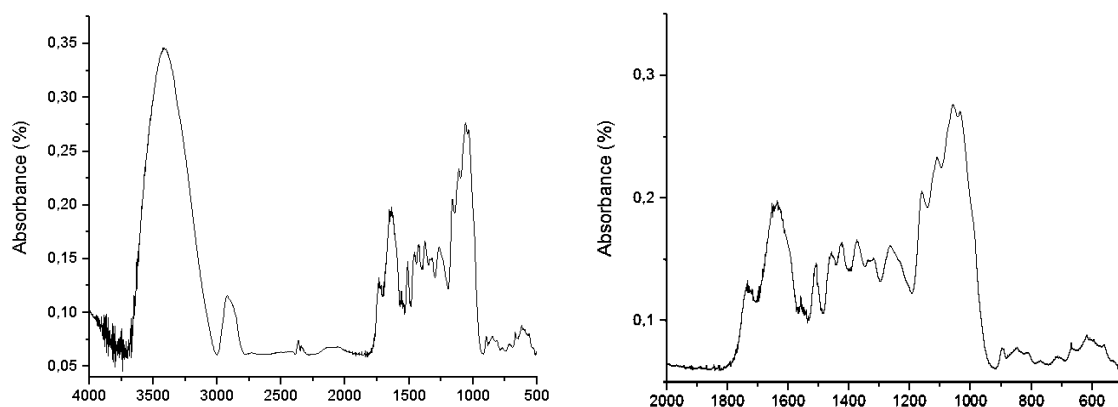


Figura 35 - FTIR da amostra 2

Tabela 14 – Análise dos elementos orgânicos presentes na amostra 2

Número de onda (cm ⁻¹)	Descrição da amostra 2
3422	Demonstra a tendência hidrofóbica das fibras de palha relacionadas com os grupos OH ⁻
1740	Presença dos grupos carboxílicos presente nos ácidos e esteres acéticos constituinte da hemicelulose
1637	Absorção de moléculas de água associada às fibras de celulose
1509	Quitina- α
1263	Hemicelulose
1069	Alongamento da vibração de C-O

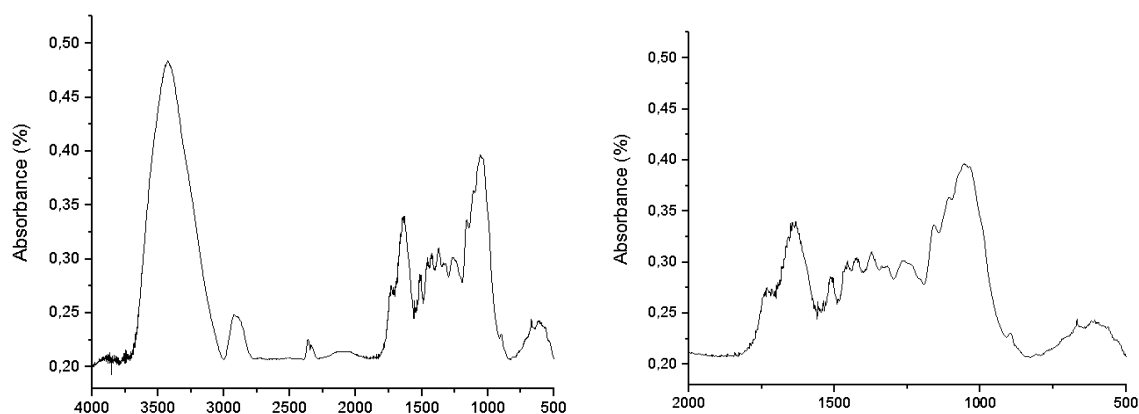


Figura 36 - FTIR da amostra 4

Tabela 15 - Análise dos elementos orgânicos presentes na amostra 4

Número de onda (cm ⁻¹)	Descrição da amostra 4
1730	Deformação assimétrica de C-H
1652	Possível contributo pela absorção de água dos Grupos Carboxílicos
1510 e 1426	A Resistência da ligação C $\equiv$ C do anel aromático da lenhina origina duas bandas de vibração nos referidos números de onda
1250	Hemicelulose

5. Conclusões

A pesquisa por mais e melhores materiais leva o homem a atingir metas muito antes consideradas inatingíveis. No que respeita à responsabilidade ecológica e ambiental, a preocupação de desenvolver materiais mais amigos do ambiente tem sido uma preocupação constante. O conceito de biocompósitos feitos a partir de biomassa está a ser uma alternativa e um contributo para atingirmos metas de controlo das emissões poluentes mais rigorosas. Há aplicações várias e muito abrangentes, o que também significa que muito existe ainda a fazer e, também, muito já foi realizado.

Uma das causas para não termos um crescimento do fungo mais disseminado por todas as amostras é o facto de não termos isolado parcialmente a lenhina presente na biomassa da celulose. Esta remoção deveria ter sido feita com sujeição da biomassa utilizada para a realização dos provetes a procedimentos químicos específicos, por forma a extrair a lenhina da biomassa. Assim, haveria maior concentração de celulose, o que promove o crescimento mais acelerado e também mais disseminado do fungo por todo o volume do provete.

A cristalinidade dos provetes é mais elevada do que a da amostra de referência, devido à hidratação da biomassa na fase inicial de execução dos provetes, conforme foi possível verificar anteriormente. Quanto maior o índice de cristalinidade do compósito melhor propriedades mecânicas serão espectáveis. Um compósito com mais elevada percentagem de zonas amorfas apresentará, provavelmente, maior fragilidade.

A cristalinidade aumenta quando é mais eficiente a remoção de polissacarídeos não celulósicos como a lenhina, ocorrendo desta forma a dissolução de zonas amorfas. Outra constatação é de que existe uma maior cristalinidade dos provetes devido à presença da quitina.

Os resultados de DRX da celulose revelam valores de cristalinidade aproximados com os valores de 57,5% referenciados na bibliografia. No entanto, o perfil das curvas características das medições realizadas com DRX indicava precisamente o contrário - antes de fazermos os cálculos necessários à determinação da cristalinidade, as fibras de celulose poderiam ter sofrido um tratamento químico. Esta análise reforça o facto de a proveniência das palhas, bem como a espécie utilizada, é bastante diversa, o que dificulta na obtenção de um resultado mais fiável.

Com os resultados obtidos no FTIR podemos dizer que a quitina proveniente dos fungos utilizados para a elaboração dos provetes, bem como da amostra de referência, é do tipo quitina- α .

No FTIR da amostra de referência não aparecem as bandas de vibração a 1507 e 1436 cm^{-1} , o que significa que a amostra de referência não tem representado o anel aromático da lenhina $\text{C}=\text{C}$, que indica que a biomassa utilizada para a realização da amostra de referência foi sujeita a tratamentos químicos para remoção parcial da lenhina.

6. Trabalho futuro

O presente trabalho contribui para o estudo, desenvolvimento e caracterização de compósitos de origem natural. Contribui também para o estudo e interpretação da quitina no seu estado isolada e para o estudo e interpretação da celulose.

Relativamente ao trabalho futuro que se pretende realizar, apresenta-se a necessidade de dar continuidade ao aperfeiçoamento da técnica de fabrico de compósitos biodegradáveis à base de quitina e celulose, bem como a incorporação de catalisadores para promoverem o crescimento dos fungos.

Finalmente, para aprofundar a caracterização deste tipo de biocompósitos seria também necessário proceder à determinação das propriedades mecânicas e térmicas dos mesmos, trabalho esse que ao momento da publicação deste trabalho já está em desenvolvimento.

7. Bibliografia

Andersen, M., Johansson, L., Tanen, B. S. & Stenius, 2006. Primary Cellulose 16. In: s.l.:s.n., pp. 665-677.

Anupama Kaushik & Mandeep Singh, 2011. Isolation and Characterization of cellulose nanofibrils from wheat straw using steam explosion coupled with high shear homogenization. In: *Carbohydrate Research*. s.l.:ScienceDirect, pp. 76-85.

Avérous, L. & Le Digabel, F., 2006. Properties of Biocomposites based on lignocellulosic fillers. *Carbohydrate Polymers*.

Bayer, E., McIntyre & Swersey, 2007. *Method for producing grown materials and products made thereby*. USA, Patente N.º US 2008/0145577 A1.

Bledzki, A. K. & Gassan, J., 1999. Composites Reinforced with cellulose-based fibres. *Progress in Polymer Science*, 24, pp. 221-274.

Bledzki, A. K., Jazzkiewicz, A., Murr, M. & Sperber, V., 2008. *Processing Techniques for natural and wood-fibre composites*. Germany: Woodhead Publishing Limited.

Carlton College, s.d. *Wavelength-Dispersive X-Ray Spectroscopy (WDS)*. [Online] Available at: http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/wds.html [Acedido em 25 Setembro 2014].

Daniel, J., 1985. Celulose, structure and properties. In: *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering vol.3*. New York: John Wiley & Sons, pp. 90-123.

Dokter, T., Muller, M. & Brown, C., 2012. *ECOVATIVE GROWS MUSHROOMS FOR PACKAGING MATERIAL*. [Online] Available at: <http://fullinsight.com/blog/2012/05/ecovative-grows-mushrooms-for-packaging-material> [Acedido em 22 05 2015].

Faruk, O., Bledzki, A., Fink, H.-P. & Sain, M., 2012. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. *Progress in Polymer Science* 37, pp. 1552-1596.

Fengel, D. & Wegner, G., 1988. Wood: Chemistry Ultrastructure Reactions. In: Berlin: s.n.

Fidalgo, M., Teron, M. & Martinez, A., 1993. In: *Journal of Agricultural Food Chemistry* 41. s.l.:s.n., pp. 1621-1626.

G. Allan, G. C. J. L. M. W. R., 1972. *Procedings of a Symposium on Man-made Polymers in Paper Making*. Helsinki, Finland: s.n.

Hirano S., M. T., 1998. Novel method for the preparation of N-acylchitosan fiber and N-acylchitosan-cellulose fiber. *Biomaterials*, pp. 293-297.

Khor, E., 2001. Chitin: fulfilling a biomaterials promise. In: Amsterdam: Elsevier Science.

Krassig, H., 1985. *Structure of cellulose and its Relation to Properties of Cellulose Fibers*, Chichester, U.K.: Ellis Horwood.

Kumar, M. N. R., 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers* 46, pp. 1-27.

Markey, M., Bowman, M. & Bergamini, M., 1989. Chitin and Chitosan. *Elsevier Applied Science, London*, p. 713.

Mark, H. F., Bikales, N. M., Overberger, C. G. & Menges, G., 1985. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Vol. 1*. New York: Wiley.

Martinez, M., s.d. *Reino Fungi - Cogumelo*. [Online] Available at: <http://www.infoescola.com/reino-fungi/cogumelo/> [Acedido em 23 12 2014].

Mathur NK, N. C., 1990. Chitin and Chitosan, Versatile polysaccharides from marine animals. In: *J Chem Educ* 1990. s.l.:s.n., pp. 938-942.

Mohanty, A. K., Misra, M. & Hinrichsen, G., 2000. Biofilers, biodegradable polymer and composites: an overview.. *Macromolecular Materials Engineering*, pp. 276-277.

Mohanty, Misra & Hinrichsen, 2000. Biofilers, biodegradable polymer and composites: an overview.. *Macromolecular Materials Engineering*, pp. 276-277.

Muzzarelli, R., 1973. Natural chelating polymers. In: New York: Pergamon Press.

Muzzarelli, R., 1977. Chitin. In: s.l.:Oxford: Pergamon Press.

Muzzarelli, R., 1997. Human enzymatic activities related to the therapeutical administration of chitin derivatives. *Celular Molecular Biology Life Science* 53, p. 131.

Muzzarelli, R., 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. In: *Polymer International* 57. s.l.:s.n., pp. 397-430.

Muzzarelli, R., 2011. Chitin nanostructures in living organisms.. In: *Chitin Formation and Diagnosis*. New York: Springer.

Nakagaito, A. & Yano, H., 2005. Applied Physics A 80. In: s.l.:s.n., pp. 155-159.

Nishi N., T. S., 1982. *Preparation and properties of alkylchitin fibers*. Tallori, Japan, s.n., pp. 244-247.

Nishino, T., Matsuda, I. & Hirao, K., 2004. Macromolecules 37. In: s.l.:s.n., pp. 7683-7687.

Noyshiki, Y. et al., 2003. Alkaliinduced conversion of b-chitin to a-chitin. In: *Biomacromolecules*, 4. s.l.:s.n., pp. 896-899.

Nuopponen, M. H. et al., 2006. Estimation of Wood Density and Chemical Composition by Means of Difuse Mid-infrared Fourier Transform Spectroscopy. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54, pp. 34 - 40.

Panthapulakkal, S., Zereschkian, A. & Sain, M., 2006. Preparation and characterization of wheat straw fibers for reinforcing application in injection molded thermoplastic composites. *Bioresource Technol* 97, pp. 72-265.

Paralikar, K. & Balasubramanya, R., 1984. Electron diffraction study of alpha-chitin. *journal of Polymer Science*, 22, pp. 543-546.

Peng, S. W. Y., 2010. The structural and thermal characteristics of Wheat straw hemicellulose. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* (88), pp. 134-139.

Pillai, C., WilliPaul, P., C. & Sharma, 2009. Chitin and chitosan polymers: cemistry, solubility and fiber formation. In: *Progress in Polymer Science*, 34. s.l.:Elsevier, pp. 641-678.

Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. In: *Progress in Polymer Science* 31. s.l.:s.n., pp. 603-632.

Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polymers Science* 31, pp. 603-632.

Sain, M. & Alemdar, A., 2008. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. In: *Composites Science and Technology* 68. s.l.:Elsevier, pp. 557-565.

Sain, M. & Panthapulakkal, S., 2006. Bioprocess preparation of Wheat straw fibers and their characterization. *Industrial Crops and Products* 23, pp. 1-8.

Santos, J. A., 2009. *Normas internacionais - Norma da FAO - ISPM n.15/2009*. INETI, s.n.

Shinsuke, I., Ryoki, N., Minoru, M. & Saimoto, H., 2011. Preparation of Chitin Nanofibers from Mushrooms. *Materials*, pp. 1417-1425.

Shintake, I. et al., 2011. Simple preparation method of chitin nanofibers with a uniform width of 10 to 20 nm from prawn shell under the neutral conditions. *Carbohydr polym.*, pp. 762-764.

Songkroach, C., Nakbanpote, W. & Thiravetyan, P., 2004. *Recovery of silver-thiosulfate complexes with chitin*. *Process Biochem.* s.l.:1553-9.

Sun, J., Sun, X., Sun, R. & Su, Y., 2004. In: *Carbohydrate Polymers* 56. s.l.:s.n., pp. 195-204.

Tatsuko, H. & Hyoe, H., 2005. *Thermal Properties of Green Polymers and Biocomposites*. s.l.:Springer Science + Business Media, Inc..

Teleman, A., Lundqvist, J. & Tjernel, F., 2000. In: *Carbohydrate Research* 329. s.l.:s.n., pp. 807-815.

Vetter, J., 2007. Chitin content of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. *Food Chemistry* 102, pp. 6-9.

Wickholm, K., Larsson, P. T. & Iversen, T., 1998. Assignment of non-crystalline forms in cellulose I by CP/MAS C NMR spectroscopy. In: *Carbohydrate Research* 312. s.l.:Elsevier, pp. 123-129.

Willner, T. & Brunner, G., 2005. In: *Chemical Engineering Technology* 28. s.l.:s.n., pp. 1212-1225.

Young, R. A., 2004. Vegetable Fibers. In H.F. Mark (third ed.). In: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology, Part 3 (Vol. 12)*. s.l.:NY: Wiley.

Zohuriaan-Mehr, 2005. Major Advances in Chitin and Chitosan modification through copolymerization: a comprehensive review. In: *Iranian Polymers Journal* 14. s.l.:s.n., pp. 235-265.