UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

RICARDO KLAUS KRAMER

**Modificação superficial de fibras e microfibrilas de celulose em
suspensão aquosa via automontagem com polissacarídeos iônicos e por
meio da enxertia de grupos furânicos**

São Carlos
2019

RICARDO KLAUS KRAMER

**Modificação superficial de fibras e microfibrilas de celulose em
suspensão aquosa via automontagem com polissacarídeos iônicos e por
meio da enxertia de grupos furânicos**

Versão Corrigida

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais.

Orientador: Antonio José Felix de Carvalho

**São Carlos
2019**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

K89m	<p>Kramer, Ricardo Klaus</p> <p>Modificação superficial de fibras e microfibrilas de celulose em suspensão aquosa via automontagem com polissacarídeos iônicos e por meio da enxertia de grupos furânicos / Ricardo Klaus Kramer; orientador Antonio José Felix de Carvalho. São Carlos, 2019.</p> <p>Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e Área de Concentração em Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2019.</p> <p>1. Fibra de celulose. 2. Nanofibra de celulose. 3. Layer-by-Layer. 4. Microscopia confocal. 5. Diels-Alder. 6. Hidrogel termorreversível. I. Título.</p>
------	--

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **RICARDO KLAUS KRAMER.**

Título da tese: "Modificação superficial de fibras e microfibrilas de celulose em suspensão aquosa via automontagem com polissacarídeos iônicos e por meio da enxertia de grupos furânicos".

Data da defesa: 26/06/2019.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Titular **Antonio José Felix de Carvalho**
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovado

Prof. Dr. **Marco Aurélio De Paoli**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

APROVADO

Prof. Titular **Osvaldo Novais de Oliveira Junior**
(Instituto de Física de São Carlos/IFSC-USP)

APROVADO

Prof. Dr. **Daniel Pasquini**
(Universidade Federal de Uberlândia/UFU)

APROVADO

Dr. **Andrey Coatrini Soares**
(EMBRAPA)

APROVADO

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais:

Prof. Associado **Rafael Salomão**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e ao Departamento de Engenharia de Materiais da USP – EESC pela oportunidade da realização do doutoramento, pela infraestrutura e formação acadêmica.

Aos Prof. Dr. Antonio José Felix de Carvalho e Dr. Alessandro Gandini, pela oportunidade, orientação, ideias e ensinamentos, contribuindo para meu crescimento científico e pela oportunidade de realizar parte do doutorado na França.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e ao órgão de fomento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa

Ao Laboratoire de Génie des Procédés Papetiers (LGP2) – Grenoble INP, FRANCE, pela infraestrutura e oportunidade de conhecer outras culturas.

Aos amigos do grupo de pesquisa: Eliane, Manu, Rafael, Mirella, Deliane, Ana Clara, Fleur, técnico Ricardo Gomes e aos demais. E em especial ao Lucas Staffa, Gustavo de Souza, Fábio Mariani e José Sakihama pelas muitas conversas acadêmicas e informais e *happy-hour*. Aos amigos do condomínio da materiais: Deliane, Cordeiro, José, Gabi pela ótima convivência e amizade.

Ao NuPES e a todos os amigos do Departamento de Engenharia de Materiais (SMM), pela amizade, bandejões, convivência e cafés.

Aos casais: Luiz Lucca e Daiana Faria, Anielli Pasqualetti e Waldemir Paschoalino pela grande amizade e conselhos nesses anos todos de convivência.

A minha família, em especial aos meus pais, Rosely Reimann e Roberto Klaus Kramer e minha “madrasta” Betânia pelo apoio, amor e paciência, apensar da minha constante ausências, aos irmãos Beatriz e Caio pela grande parceria.

À Beatriz Lyra, pelo amor, compreensão, amizade, café, viagens e por dividir muitos momentos especiais.

A todos os amigos do Departamento de Engenharia de Materiais (SMM) da EESC.

À todos, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

KRAMER, R. K. **Modificação superficial de fibras e microfibrilas de celulose em suspensão aquosa via automontagem com polissacarídeos iônicos e por meio da enxertia de grupos furânicos**. 99p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

A celulose é o principal polímero derivado de fonte renovável de uso industrial tanto em termos de volume como em número de aplicações. A celulose é comercializada na forma de polpa, que se trata de uma commodity cuja principal aplicação é a indústria de papel e de derivados de celulose, tais como os seus éteres e ésteres. Com o advento das nanoceluloses, que podem ser obtidas diretamente da polpa química, se observa um expressivo aumento no interesse por esses materiais. A modificação superficial tanto das fibras (polpa) como das microfibrilas é de grande interesse, pois podem permitir a ampliação do uso desses materiais uma vez que suas propriedades poderiam ser modificadas. O desenvolvimento de métodos de modificação em meio aquoso da celulose em suspensão é de grande interesse em especial se realizado com o uso de agentes sustentáveis em contexto de química verde. Este trabalho visou a modificação da polpa de celulose por duas vias: química e física, realizadas inteiramente em meio aquoso e utilizando materiais de caráter renováveis. A modificação física da fibra de celulose “never-dried” foi feita pelo método de auto-montagem (Layer-by-Layer) com o par de polieletrólito quitosana / carboximetilcelulose (CH / CMC) em meio aquoso. Fibras modificadas foram submetidas à análise morfológica (MEV e microscopia confocal no método de absorção de dois fótons e EDS), propriedade mecânica (módulo elástico e limite de resistência à tração) e potencial zeta. O complexo CH / CMC depositado sobre as fibras apresentou uma espessura de aproximadamente 50 nm por camada e um aumento de aproximadamente 170% no limite de resistência a tração das folhas produzidos a partir das fibras, demonstrando uma forte interação fibra/polieletrólitos. Através da técnica de absorção de dois fótons foi possível identificar a deposição das camadas fora e dentro das fibras sem o uso de cromóforo. A modificação química da nanofibra de celulose foi feita pela enxertia de grupamentos furânicos na superfície da fibra, oxidada. Em seguida de uma reação com uma bismaleimida através da reação de “click” de Diels-Alder em meio aquoso. Os géis foram caracterizados por meio da técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e viscosimetria, com os quais pode-se verificar o efeito da termorreversibilidade uma vez que a 65°C ocorre gelificação do sistema e 95°C ocorre reversão do gel como resultado das reações DA e retro Diels-Alder. As modificações das fibras e nanofibras de celulose em meio aquoso foram bem-sucedidas, o que pode impulsionar o uso da polpa de celulose em novas aplicações originais como artefatos de papel fortes e géis biocompatíveis, visando a estratégia *green chemistry*.

Palavras-chave: Fibra de celulose. Nanofibra de celulose. Layer-by-Layer. Microscopia confocal. Diels-Alder. Hidrogel termorreversível.

ABSTRACT

KRAMER, R. K. **Surface modification of cellulose fibers and microfibrilated cellulose in aqueous suspension via self-assembly with ionic polysaccharides and by grafting furanic groups.** 99p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Cellulose is the main polymer derived from renewable sources of industrial use, in terms of volume and number of applications. Cellulose is marketed in the pulp form, which is a commodity whose main application is the paper industry and derived from pulp, such as its ethers and esters. The advent of nanocelluloses, which can be obtained directly from the chemical pulp, there is an expressive increase in these materials. The superficial modification in fibers (pulp) and microfibrils is great interest, since they can allow the amplification of the use of these materials since their properties could be modified. The development of methods for modification of cellulose in aqueous suspension is of particular interest especially if carried out with sustainable agents in the context of green chemistry. This work aimed at the modification of the cellulose pulp by two routes: chemistry and physics, performed entirely in aqueous medium and using renewable character materials. The physical modification of the "never-dried" cellulose fiber was done by the self-assembly method (Layer-by-Layer) with the polyelectrolyte pair chitosan / carboxymethylcellulose (CH / CMC) in aqueous medium. Modified fibers were subjected to morphological analysis (SEM and confocal microscopy in two-photon absorption technique and EDS), mechanical properties (elastic modulus and tensile strength) and zeta potential. The CH / CMC complex deposited under the fibers had a thickness of approximately 50 nm per layer and an increase of approximately 170% in the tensile strength of the sheets in compare of unmodified fibers sheets, showing a strong interaction between fiber and polyelectrolyte. Through the technique of two-photon adsorption, it was possible to identify the layers deposition outside and inside the fibers without the use of chromophore. The chemical modification of the cellulose nanofiber was made by the grafting of furanic groups on the surface of the oxidized fiber. Following by reaction with a bismaleimide through the "click" reaction of Diels-Alder in aqueous medium. The thermoreversible hydrogels were characterized by differential scanning calorimetry (DSC) and viscosimetry, which the effect of thermoreversibility can be verified at 65 °C when the gelation of the system occurs and 95 °C gel reversion occurs because of DA and retro Diels-Alder reactions. Modifications of cellulose fibers and nanofibers in aqueous media have been successful, which may increase the use of cellulose pulp in novel applications such as strong paper artifacts and biocompatible gels, targeting the green chemistry strategy.

Keywords: Cellulose fiber. Cellulose Nanofiber. Layer-by-Layer. Confocal microscopy. Diels-Alder. Thermoreversible hydrogel

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma geral das modificações (Fonte: Elaborado pelo autor).	26
Figura 2. Estrutura hierárquica da celulose e a diferença entre a fibra e a micro/nanofibrila de celulose (figura adaptada [9]).	28
Figura 3. Esquema das reações de oxidação via TEMPO da celulose (adaptado de [21]).	30
Figura 4. Exemplo representativo da técnica da automontagem em substrato sólido e linear. (Fonte: Elaborado pelo autor).	32
Figura 5. Estrutura química da carboximetilcelulose sódica.....	35
Figura 6. Estrutura química da quitosana.....	36
Figura 7. Esquema simplificado da protonação e desprotonação da superfície de TiO_2 . O PIE do TiO_2 é $\sim 5,8-7,5$	37
Figura 8. O equilíbrio de Diels-Alder entre os grupos furanos e uma maleimida na síntese macromolecular.	38
Figura 9. Esquema representativo da reação da quitosana com o isotiocianato de fluoresceína.....	44
Figura 10. Processo de automontagem em fibra de celulose.....	46
Figura 11. Processo de formação das folhas de fibras	47
Figura 12. Diferença de resolução das técnicas de absorção de 1 e 2 fótons	49
Figura 13. Geometria do corpo de prova para o ensaio de tração.	50
Figura 14. Reação de enxertia da furfurilamina na superfície da celulose oxidada <i>via</i> TEMPO.....	52
Figura 15. Síntese da bismaleimida preparada a partir de um aduto com a anidrido/diamina.	53
Figura 16. Reação r-DA para eliminação do furano.	53
Figura 17. Formação de hidrogel de celulose termicamente reversível através da reação DA/r-DA. As linhas pretas representam as nanofibras de celulose.	54
Figura 18. Equipamento de Schopper Riegler.....	55
Figura 19. Imagem de MEV da seção transversal do filme com 10 bicamadas em vidro. (a) com uma escala de 4 μm e (b) com uma escala de 50 μm	59
Figura 20. Imagens de MEV de amostra de celofane (a) sem recobrimento e (b) com 10 bicamadas.	60
Figura 21. Imagens de MEV do substrato celofane com (a) 20 e (b) 30 bicamadas. 61	

Figura 22. Relação do número de bicamadas pela espessura do filme.	61
Figura 23. Imagens de MEV da polpa celulósica (a) sem tratamento (b) recoberta com 3 bicamadas.	62
Figura 24. (a) Imagem confocal da fibra de celulose pura em meio aquoso, (b) espectro de emissão de celulose no círculo marcado na imagem e (c) perfil de corte confocal da fibra (seta).....	63
Figura 25. (a) imagem de microscopia confocal da fibra revestida com 2 bicamadas de CH/CMC em meio aquoso e (b) corte da seção transversal. Nota: As cores no gráfico são ilustrativas e não correspondem ao comprimento de onda emitido por cada substrato.	64
Figura 26. Imagens de microscopia confocal (a) da fibra sem tratamento, (b) e (c) da fibra revestida com CMC/CH-FITC.	65
Figura 27. (a) Imagem de microscopia confocal de uma fibra revestida por 2 bicamadas de CH/CMC ($\sim 0,2 \mu\text{m}$) utilizando a técnica de emissão de dois fótons e (b) perfil confocal ao longo da seção de fibras mostrando as emissões de celulose e quitosana.	66
Figura 28. Curva representativa de tensão-deformação para as fibras pura e modificadas.....	67
Figura 29. Tensão máxima para as folhas de polpa pura e fibras modificadas, com respectivos desvios padrões.....	68
Figura 30. Modulo elástico do filme de polpa e fibras modificadas, com respectivos desvios padrões.....	69
Figura 31. Índice de tração do filme de polpa e fibras modificadas, com respectivos desvios padrões.....	70
Figura 32. Potencial Zeta da nanopartícula de TiO_2 em diferentes pHs	71
Figura 33. EDS comparativo da nanopartícula de TiO_2 e fibra carregada com nanoTiO_2	72
Figura 34. Microscopia eletrônica de varredura das fibras (a) rauma e (b) refinada.	73
Figura 35. Espectro de FTIR comparativo da fibra (refinada), ToNFC-ref e ToNFC-ref – furfurilamina	74
Figura 36. Espectro de FTIR comparativo da fibra (rauma), ToNFC-rau e ToNFC-rau – furfurilamina.	75

Figura 37. Curvas de titulação condutimétrica de amostras: (a) polpa refinada e (b) polpa rauma.	76
Figura 38. Curvas de titulação condutimétrica de amostras de NFC oxidada <i>via</i> TEMPO: (a) ToNFC - ref e (b) ToNFC – rau.	77
Figura 39. Curvas de titulação condutimétrica de amostras de ToNFC graftizada com furfurilamina: (a) ToNFC-ref-furfurilamina (b) ToNFC-rau-furfurilamina.	78
Figura 40. ¹ H RMN dos reagentes TTDDA e ETHPA.....	80
Figura 41. ¹ H RMN da reação DA	81
Figura 42. ¹ H RMN da reação de r-DA	82
Figura 43. ¹³ C RMN reação r-DA.....	83
Figura 44. ¹³ RMN DEPT135 reação DA	84
Figura 45. ¹³ RMN DEPT135 reação r-DA.....	85
Figura 46. Ilustração pictórica do ciclo DA/r-DA. (a) solução inicial, (b) após <i>crosslinking</i> por DA, (c) após r-DA e (d) após novo <i>crosslinking</i> DA.....	86
Figura 47. Comportamento térmico das reações de DA e r-DA	87
Figura 48. Comportamento reológico dos hidrogéis durante a reação de DA.	88
Figura 49. Comportamento reológico dos hidrogéis durante a reação de r-DA.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades de módulo elástico, limite de resistência à tração e índice de tração das folhas das fibras puras e fibras modificadas.	71
Tabela 2. Grupo funcional e número de onda correspondente [29,105].	75
Tabela 3. Grupos carboxílicos reativos e respectivas porcentagens de reação, para dois tipos de fibras.	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CLSM	Microscopia confocal de varredura a laser
DA	Diels-Alder
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva de Raio x
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
G.A.	Grau de Acetilação
LbL	<i>Layer-by-Layer</i>
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
M_v	Massa molar viscosimétrica
nTiO₂	Nano partícula de óxido de titânio
P.A.	Pureza Analítica
r-DA	Retro Diels-Alder
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio
PIE	Ponto isoelétrico
ToNFC	Celulose nanofibrilada oxidada <i>via</i> TEMPO
XPS	Espectroscopia fotoeletrônica de raios-X

LISTA DE SIMBOLOS E COMPOSTOS

Acetona d-6	Acetona deuterado
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
CH	Quitosana
CH-FITC	Quitosana-Isotiocianato de fluoresceína
CMC	Carboximetilcelulose
EDC	hidrocloreto de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida
ETHPA	Exo-3,6-epoxi-1,2,3,6-tetrahidroftálico anidrido
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
HCl	Ácido clorídrico
MFC	Celulose microfibrilada
NaBr	Brometo de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaClO	Hipoclorito de sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NFC	Nanofibra de celulose
NHS	N-hidroxisuccinimida
TEMPO	N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina
TiO₂	Óxido de titânio
SiO₂	Dióxido de silício
TTDDA	4,7,10-trioxa-1,13-tridecanodiamina
NCC	Celulose nanocristalina
EPTMAC	Cloreto de N- (2-3-epoxipropil) trimetilamonio
CICHCl	Cloreto de clorocolina
PSS	Poliestirenosulfonato
PDDA	Polidialildimetilamônio
PDMAFM	Poli (N, N-dimetilacrilamida-co-furfuril metacrilato)
DMF	N, N-dimetilformamida
HECE	Hidroxietilcelulose etoxilado quaternizado
LS	Lignossulfonatos
PAA	Poliácido acrílico
CuSO₄	Sulfato de cobre
PEG	Polietileno glicol

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MOTIVAÇÃO E OBJETIVO.....	25
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 Celulose e nanofibrila de celulose (NFC)	27
3.2 Introdução de grupos carregados na celulose.....	29
3.2.1 <i>Técnica filmes automontados: Técnica Layer-by-Layer</i>	31
3.2.2 <i>Polieletrólitos</i>	34
3.3 Propriedades da NFC	37
3.4 Reação de Diels-Alder: Hidrogel termoreversível.....	38
4. MATERIAIS	41
5. EXPERIMENTAL.....	43
5.1 Modificação física	43
5.1.1 <i>Substrato</i>	43
5.1.2 <i>Soluções dos polieletrólitos</i>	43
5.1.3 <i>Preparo da automontagem nos substratos – vidro e celofane</i>	45
5.1.4 <i>Preparo da automontagem no substrato – fibra</i>	46
5.1.5 <i>Preparo dos filmes com as fibras modificadas</i>	46
5.1.6 <i>Caracterização</i>	47
5.2 Modificação química.....	51
5.2.1 <i>Modificação da nanofibra de celulose com a inserção (enxertia) do grupo furano</i> 51	
5.2.2 <i>Síntese da bismaleimida (BM)</i>	52
5.2.3 <i>Preparação do hidrogel termoreversível via reação DA e r-DA</i>	54
5.2.4 <i>Caracterização</i>	54
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
6.1 Modificação física	59

6.1.1	<i>Filmes LbL quitosana/carboximetil celulose sobre substrato de vidro.</i>	59
6.1.2	<i>Filmes LbL quitosana/carboximetil celulose sobre substrato de celulose regenerada (filme de celofane).</i>	60
6.1.3	<i>Filmes LbL quitosana/carboximetil celulose sobre polpa celulósica.</i>	62
6.2	<i>Modificação química.</i>	73
6.2.1	<i>Polpa, NFC, ToNFC e graftização.</i>	73
6.2.2	<i>Síntese do agente de reticulação (bismaleimida)</i>	79
6.2.3	<i>Síntese do hidrogel termo reversível</i>	85
7.	CONCLUSÕES	91
8.	REFERÊNCIAS	93

1. INTRODUÇÃO

Os polímeros naturais, tais como celulose, a borracha natural e as proteínas, sempre tiveram um papel importante para a economia e foram a base dos primeiros polímeros sintéticos, como por exemplo, os derivados de celulose, em especial o nitrato e o acetato [1]. A celulose é o biopolímero mais abundante na Terra, sendo o principal componente macromolecular da biomassa vegetal onde perfaz de 35 a 40%, sendo os demais materiais majoritários as hemiceluloses (25-30%) e ligninas (15-30%) [2]. A biomassa vegetal é produzida a uma taxa de aproximadamente 10^{12} toneladas por ano [3]. A celulose apresenta grande interesse tecnológico pelas suas aplicações clássicas, sendo o papel a principal delas. Outro aspecto importante é o fato de que a celulose é a principal fonte de carbono ligado sendo, portanto, um dos materiais mais importantes quando se discute o desenvolvimento de materiais derivados de fontes renováveis.

A celulose ocupa um dos papéis centrais no conceito de biorefinaria, sistema no qual estão consorciados aos materiais a produção de combustíveis e energia [2]. Com o advento da indústria petroquímica os polímeros naturais tiveram sua importância reduzida. Contudo certos nichos como o de papel e celulose tiveram importância crescente no século XX e hoje constituem uma das grandes indústrias de materiais de fonte renovável.

A fibra de celulose, advinda da polpa, pode ser obtida como estruturas de diferentes morfologias e dimensões, encontrando-se na escala de nanômetros a milímetros, de acordo com o procedimento utilizado. A partir da fibra de celulose surgem novos derivados da polpa, como a celulose microfibrilada (MFC) e a celulose nanocristalina (NCC)

Em função da necessidade do desenvolvimento de materiais derivados de fontes renováveis e com os avanços tecnológicos como o advento das nanoceluloses e suas modificações, houve um aumento expressivo na pesquisa desses materiais recentemente. Esse interesse está baseado na necessidade de se desenvolver novos produtos com maior valor agregado, podendo ser aplicado em materiais compósitos, na indústria papelreira, em aditivos de revestimento, em cosméticos, nas áreas farmacêutica e medicinal, em dispositivos eletrônicos.

Tanto as fibras de celulose (polpa) como a celulose microfibrilada (MFC) são produtos cujas características e propriedades são determinadas majoritariamente pela origem do material, de modo que desenvolver novos métodos de modificação tanto via processos físicos como químicos são de grande interesse. Como os processos de produção da polpa e da MFC são conduzidos em meio aquoso, deve-se considerar a possibilidade de realizar as modificações propostas em meio aquoso. Métodos que não empregam solventes orgânicos ou materiais complexos e com baixo consumo energético são considerados métodos verdes.

Nesse contexto, o presente trabalho, tem como principal objetivo desenvolver metodologias de modificação física e química, realizadas inteiramente em meio aquoso, para que as propriedades de fibras de celulose (polpa) e das nanofibrilas de celuloses sejam modificadas.

O processo de modificação física proposto está baseado na técnica de automontagem (Layer-by-Layer) que consiste em produzir filmes finos utilizando soluções poliméricas de cargas opostas (polieletrólitos) para a deposição alternada sobre um substrato, por meio de interações eletroestáticas e ligação de hidrogênio. A modificação física da superfície de fibras de polpa e celulose nanofibriladas por meio da técnica LbL pode ser uma interessante metodologia para a preparação de novos materiais a partir de polpa que é uma commodity e da NFC que deverá em breve também ser considerada uma commodity.

Já a rota proposta para a modificação química superficial em meio aquoso deverá ser realizada por meio de reações do tipo click de Diels-Alder. Os compostos furânicos apresentam caráter renovável, e sendo realizadas em meios aquosos, se tornando uma alternativa para formação de hidrogéis termoreversíveis, com grande potencial para a preparação de biomateriais, reduzindo possíveis processos de troca de solvente orgânicos e reduzindo custos e etapas.

Para ambas as rotas de modificação vale ressaltar que em virtude das características intrínsecas tanto da polpa de celulose como da MFC, é necessário dispor de métodos que permitam a sua modificação em suspensão aquosa, uma vez que a secagem desses materiais produz aglomerados de difícil redispersão e inviabilizando assim o seu uso em diversas aplicações onde a natureza fibrosa é relevante.

2. MOTIVAÇÃO E OBJETIVO

Há 150 anos a celulose é utilizada como fonte de matéria-prima, primeiramente utilizada para preparar o nitrato de celulose e outros derivados como o acetato de celulose, dando origem aos primeiros materiais poliméricos termoplásticos sintéticos, demonstrando que a modificação química da celulose poderia ser produzida industrialmente, abrindo caminho para a síntese de novos materiais derivados de celulose. Também foram de grande importância os materiais de celulose regenerada, no qual a celulose é dissolvida por meio de uma reação química ou formação de um complexo e regenerada por meio de um banho de coagulação. São exemplos de celulose regenerada o Celofane ou Rayon obtido pelo processo xantato. Entre os primeiros materiais de celulose regenerada também são importantes os processos que utilizam complexos metálicos como o cupramônio. Processos mais modernos como a celulose Lyocel ganharam importância mais recentemente, por se tratar, esse último, de um processo ecologicamente mais interessante [4].

O crescente interesse na modificação da polpa de celulose e de seus produtos em escala nano (micro/nanofibras e nanocristais de celulose) tem como objetivo a obtenção de novos materiais fibrosos por meio de processos físicos e químicos, permitindo ampliar a gama de materiais que podem ser utilizados, como por exemplo, na preparação de papéis com propriedades mecânicas aprimoradas, géis e hidrogéis, compósitos com matrizes termoplásticas, fibras com elevada resistência à hidrólise, fibras especiais com propriedades de barreira ao ultravioleta e ação funcional como biocida, entre outras novas aplicações a serem exploradas e propostas, uma vez que novos métodos de modificação sejam disponibilizados.

Um obstáculo para a utilização de fibras de celulose modificada é o fato de que muitos processos para a modificação química, por exemplo, são realizados em meios orgânicos e anidros, o que eleva os custos além de em geral fazer uso de solventes tóxicos.

O objetivo do presente trabalho é a modificação de polpa de celulose por meio tanto de processos físicos como químicos, sendo ambos em meio aquoso, o que confere a esses processos uma conotação processos “verdes” (*green chemistry*). A Figura 1 apresenta a proposta de forma esquemática.

Figura 1. Fluxograma geral das modificações (Fonte: Elaborado pelo autor).

A modificação de fibras e nanofibras de celulose via modificação física tem como objetivo a deposição de um filme fino nanoestruturado sobre as fibras. Esse filme é produzido em camadas ou bicamadas sequenciais que podem ser alternadas com outros materiais. O processo proposto é o método de automontagem por adsorção física (LbL - *Layer-by-Layer*), que utiliza camadas alternadas de polieletrólitos e é baseado na interação eletrostática. Dentre os polieletrólitos que serão empregados estão a quitosana que é um polieletrólito catiônico e a carboximetilcelulose (CMC) que é um polieletrólito aniônico, ambos polissacarídeos.

Já a modificação química das fibras de celulose tem como objetivo a preparação de hidrogéis termorreversíveis de celulose baseados na reação de Diels-Alder *via* reação *click*, entre nanofibra de celulose modificada quimicamente pela inserção de um composto furânico e uma bismaleimida sintetizada a partir de uma diamina em meio aquoso, que atua como reticulante.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Celulose e nanofibrila de celulose (NFC)

A celulose é o polissacarídeo mais abundante da natureza, sendo proveniente de uma grande variedade de fontes vegetais, tais como madeira (fibra curta e fibra longa), linho, juta, rami, algodão, coco, cana, bambu, de animais marinhos tais como tunicados, algas, fungos e bactérias [1,5,6]. A celulose é um homopolímero linear, que ocorre na forma cristalina, é hidrofílica e passível de modificação química devido aos grupos hidroxilas, sendo dois ligados a carbonos secundários e um a um carbono primário. É formada por unidades de β -D-glucose, denominadas de unidades anidroglicosídicas, que se condensam por meio de ligações glicosídicas do tipo $\beta(1\rightarrow4)$ [7].

Cada unidade anidroglicosídica contém três grupos hidroxilas livres, ligados ao carbono 2 e 3, correspondentes à álcoois secundários e ao carbono 6, que correspondem a álcoois primários. O posicionamento das hidroxilas as torna disponíveis para estabelecerem dois tipos de ligação: intramoleculares, ocorrendo entre hidroxilas da mesma cadeia e intermoleculares, entre grupos hidroxilas de cadeias adjacentes. Essas ligações concedem uma relativa estabilidade química, resultando em uma alta cristalinidade e como consequência, o material não apresenta ponto de fusão e uma baixa solubilidade em solventes em geral [1]. A celulose é considerado um material de baixo custo, de grande disponibilidade mundial, é biodegradável (em condições adequadas), apresenta elevada rigidez quando na forma de fibra, baixa densidade e pode ser convertida em insumo para fermentação via hidrólise ou em energia térmica por combustão [5,6].

As fibras de celulose constituem o elemento estrutural básico da madeira e são compostas de uma parede primária e uma parede secundária, formada por três subcamadas [8]. As fibras são associadas às hemiceluloses, pectina e ligninas e outros constituintes, dando origem a um compósito, possuindo uma das mais elevadas propriedades mecânicas na natureza [9].

As paredes da fibra de celulose são compostas de microfibrilas de celulose que por sua vez, são constituídas por microfibrilas. As microfibrilas são compostas de fibrilas elementares de 20-30 nm de largura em feixes homogêneos e

alinhados de 3-5 nm de diâmetro [10–12]. A diferença entre as fibras celulósicas e as nano/microfibrilas, assim como sua estrutura hierárquica é apresentada na Figura 2.

Figura 2. Estrutura hierárquica da celulose e a diferença entre a fibra e a micro/nanofibrila de celulose (figura adaptada [9]).

As dimensões, composição e propriedades da nanocelulose podem ser influenciadas pelo método de produção e podem ser divididas em duas categorias principais: (i) nanocristais de celulose (CNC) ou whiskers de celulose e (ii) nanofibrilas de celulose, microfibrilas de celulose (MFC) ou celulose nanofibrilada (NFC). Devido a várias terminologias usadas para descrever os nanomateriais de celulose, vários comitês técnicos e organizações como ISO TC 6 e TC 229; TAPPI e CSA Z5100-14, deram início à padronização de diferentes tipos de nanocelulose [13].

As primeiras publicações sobre a preparação de MFC foram feitas por Turbak, Snyder e Sandberg nos Estados Unidos no início da década de 80 no laboratório de ITT Rayonier [14]. Atualmente em sua maioria, a obtenção da nanofibra de celulose a partir da madeira é iniciada pelo cozimento *Kraft* ou pelo processo sulfito seguido de modificação química. A modificação por processo químico pode ser realizada por dois métodos principais: (i) Oxidação da celulose via TEMPO pelo radical livre (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina), conhecida como oxidação via TEMPO [15] ou (ii) Método de carboxilação [16]. Ambos os tratamentos químicos aumentam a carga iônica da celulose proveniente da formação de grupos carboxílicos, evitando assim que as fibras se agreguem devido a repulsão eletrostática em meio aquoso.

Existem vários métodos para se obter a celulose nanofibrilada, listados brevemente a seguir: Em meio ácido, a partir de celulose bacteriana [17], a partir do

tecido de celulose de tunicatos [18], por *eletrospinning* (eletrofiação) de derivados de celulose [19] e celulose tratada enzimaticamente [20], por hidrólise ácida [21], microfuidização, homogeneização [22] e *cryocrushing* [19,23]. A combinação de métodos citados pode aumentar o rendimento do material nanofibrilado.

3.2 Introdução de grupos carregados na celulose

As polpas celulósicas, após processos de limpeza e lavagens, podem possuir grupos aniônicos em sua superfície [24], possivelmente devido ao tratamento químico prévio, como por exemplo, em polpação com sulfito, onde ocorre a formação de ácido sulfônicos fortes ou em processo Kraft, que pode induzir a formação de grupos carboxílicos fracos. O motivo da introdução de grupos carregados na polpa celulósica, como um pré tratamento para a formação da MFC ou NFC, se faz pela repulsão eletrostática das cargas formadas, aumentando a delaminação da parede celular da fibra. Os métodos mais utilizados para o aumento de cargas nas fibras são a carboximetilação, cationização e a oxidação via reagente TEMPO (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina) [25].

O método do carboximetilação das fibras celulósicas com baixo grau de substituição foi estudado inicialmente por Walecka (1956). Porém, a aplicação do método como pré-tratamento para a formação NFC só foi utilizado em 1987 por Wågberg et al. Este método consiste na reação de hidróxido de sódio e ácido monocloroacético em suspensão de mistura hidroalcoólica (como isopropanol/metanol), convertendo os grupos carboxílicos da fibra em sua forma sódica, facilitando a delaminação induzida pelas cargas [16].

O método de cationização da celulose introduz grupos catiônicos por meio de cloreto de N- (2-3-epoxipropil) trimetilamonio (EPTMAC) ou cloreto de clorocolina (ClChCl) em solvente orgânico na presença de NaOH. As duas reações geram grupos amônio quaternário na molécula de celulose [26,27] e geralmente neste método as moléculas são anfóteras pois os grupos aniônicos nas fibras permanecem independente da cationização.

A método de oxidação das fibras de celulose por meio do processo de oxidação que emprega como catalisador o N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO) foi extensivamente estudado para a produção de NFC [15,21,28–30]. A reação é conduzida em meio aquoso na presença de hipoclorito de sódio (NaClO) e

brometo de sódio (NaBr) na presença de TEMPO, que atua na oxidação regioseletiva dos álcoois primários em aldeídos e posteriormente os oxida em ácido carboxílico ou íons carboxilatos. O reagente hipoclorito de sódio, atua na reação como ativador do reagente TEMPO em sal oxoamônio e este atua como oxidante primário da hidroxila da celulose, gerando aldeído e posterior caboxilato. O reagente brometo de sódio atua como catalisador e re-oxidante da hidroxilamina em íon oxoamônico e em meio alcalino (pH 10-11) resulta na reação regioseletiva do grupamento aldeído posicionado no carbono C-6, gerando grupamento de ácido carboxílico [21,31,32]. O esquema das reações envolvidas é apresentado na Figura 3.

Figura 3. Esquema das reações de oxidação via TEMPO da celulose (adaptado de [21]).

Existem outras formas de modificação da NFC, como a técnica Layer-by-Layer (LbL), que consiste na adsorção sequencial e alternada de polieletrólitos por interação de materiais contendo cargas opostas. Essa interação pode ser através da afinidade hidrofílica, atração eletrostática, ligação de hidrogênio ou por força de van der Waals, podendo ampliar seu potencial de aplicação [33].

Outros métodos de modificação química, que não foram utilizados neste estudo, são os de: Sulfonação, o qual utiliza ácido sulfúrico com catalizador, esterificando o grupamento hidroxila em éster de sulfato. Método de sililação da

superfície da celulose, que insere grupamentos derivados de silanos. Método de uretanização, conhecido como carbanilação, o qual insere grupamento isocianatos na superfície da celulose. E o método de amidação, que insere grupamentos amidas em grupos carboxílicos de celuloses previamente oxidada, a inserção do grupamento amida ocorre via reação de amidação mediada por carbodiimida sem que ocorra a modificação da morfologia e cristalinidade da celulose [13,25,34].

3.2.1 ***Técnica de filmes automontados: Técnica Layer-by-Layer***

Os filmes automontados pela técnica LbL, podem ocorrer por duas vias: i) adsorção química, em que a monocamada formada no substrato são obtidas por ligações covalentes por meio da reação entre grupos funcionais e ii) adsorção física, em que as camadas são obtidas por meio de interações eletroestáticas, ligação de hidrogênio e interações hidrofóbicas [35–37].

A adsorção física oferece algumas vantagens em relação aos processos químicos, já que pode ser realizada com grande facilidade em meio aquoso e apresenta potencial de escalonamento para uso industrial. A utilização dessa técnica possibilita um controle da espessura e composição do filme no substrato, utilizando a variação do pH, força iônica do meio, concentração e tipos de soluções de polieletrólitos [38].

A potencialidade da técnica é demonstrada pela gama de materiais que podem ser utilizados no processo, que incluem além dos polieletrólitos, materiais biológicos, materiais inorgânicos, [39], além de nanopartículas inorgânicas carregadas em suspensão e enzimas [40]. Possibilitando construir heteroestruturas com funções específicas, com propriedades de interesse, como porosidade variável [37], eletrocondutibilidade, magnetismo e resistência ao fogo [33].

A técnica de automontagem (LbL) atualmente vem sendo classificada em três grupos: (i) Montagem convencional: Desenvolvida para o entendimento da formação do filme, manipulação das propriedades na escala molecular e exploração dos materiais e substratos para determinadas aplicações, por meio de técnicas como por deposição em spray, spin, eletromagnético e imersão. (ii) Montagem não-convencional: Baseado no método convencional, porém utiliza uma abordagem interdisciplinar, integrando conceitos de campos diferentes. As técnicas impressão por jato de tinta, litografia *dip-en* multicamadas celulares (*3D bio-print*), etc. E (iii) quase automontagem: Se baseia na tecnologia de LbL, porém se aplica a automontagem

simultânea, como por exemplo em técnicas de *spray-dried*, deposição eletroquímica, spray simultâneo, sedimentação de polieletrólitos complexados [35].

A técnica de automontagem convencional (LbL) por imersão é baseada na adsorção sequencial alternada por interação física de materiais contendo cargas opostas (interação eletrostática), demonstrado na Figura 4 [41].

Figura 4. Exemplo representativo da técnica da automontagem em substrato sólido e linear. (Fonte: Elaborado pelo autor).

O substrato a ser recoberto, que pode ser neutro ou conter grupos ionizáveis, é imerso em uma solução de um eletrólito com uma determinada carga (catiônica ou aniônica). Caso o substrato gere cargas em meio aquoso o primeiro eletrólito deverá ter carga oposta a essas da superfície. Em seguida o substrato é removido da solução e lavado para a remoção do excesso do primeiro eletrólito e em seguida é imerso no segundo eletrólito com carga oposta ao primeiro. O processo é então repetido até se obter o número de camadas ou bicamadas (uma da solução catiônica e outra da aniônica) desejadas [39].

Com facilidade e baixo custo da técnica de revestimento de substratos, muitas pesquisas são desenvolvidas na área, com diversos polieletrólitos e substratos. Li e colaboradores, aplicaram a técnica de revestimento (LbL) na superfície de papel celulósico, utilizando polilisina e CMC como polieletrólitos para aplicação em embalagem de alimento com atividade antimicrobiana [42].

Em outro estudo, Li e colaboradores utilizaram como substrato lâminas de quartzo e fibras de celulose para automontagem. As camadas foram produzidas por lignossulfonatos (LS) e poliacrilamida como polieletrólitos, visando o aumento da hidrofobicidade pela deposição do polieletrólito LS sobre a superfície do substrato, atingindo um ângulo de contato com água de 109° e 90° após 1 segundo e um aumento da resistência da fibra de celulose de 12,4% comparado com o substrato original [40].

Alguns autores utilizam materiais lignocelulósicos (material constituído de pectinas, ligninas, hemiceluloses e celulosas) como substrato para a automontagem com diversos polieletrólitos. Zheng e colaboradores aplicaram a técnica LbL em fibras de lignocelulose, utilizando como polieletrólitos o poliestirenosulfonato (PSS) e policloridrato de alilamina. As fibras de lignocelulose revestidas apresentaram de 20 a 50 nm de espessura, aumentando a interação entre as fibras durante a formação do papel. As fibras modificadas foram adicionadas às fibras padrão em proporções variáveis para produzir papel com variação correspondente nas propriedades, tais como aumento de resistência e condutividade elétrica [43].

Lu e colaboradores utilizaram os pares nanopartícula de TiO_2 / poliestireno sulfonato de sódio linear e cloreto de polidialildimetilamônio/ nanopartícula de SiO_2 e nanotubos de argila haloisita como polieletrólitos na automontagem em lignocelulose. A espessura do revestimento de duas camadas foi estimada em 46, 58 e 115 nm para TiO_2 , SiO_2 e tubos de haloisita, respectivamente. O brilho das folhas de papel revestimento com nanopartículas de TiO_2 apresentou uma refletância 4% maior que a da amostra de fibras virgens. As folhas de papel preparadas com fibras revestidas com nanopartículas apresentaram porosidade 30–50% maior com índice de resistência à tração retido próximo à amostra controle. Para caracterização morfológica e comprovação do revestimento, foram utilizados marcadores químicos com cromóforos (FluoSpheres®) [37].

Kim e colaboradores utilizaram a técnica LbL através das ligações de hidrogênio entre as camadas automontadas, visando a incorporação de drogas e consequente liberação pela alteração do pH. O filme automontado foi produzido com base na ligação de hidrogênio entre o poliácido acrílico (PAA) como um doador de ligação H e micelas biodegradáveis de poli (óxido de etileno) -bloco-poli (ϵ -caprolactona) (PEO-b-PCL) como receptor de ligação de H, em condições ácidas. Os autores observaram que, pela natureza fraca da ligação entre as camadas, o filme pode rapidamente ser desconstruído para a liberação do fármaco em condições fisiológicas. Como a encapsulação micelar de agentes terapêuticos hidrofóbicos pode fornecer uma nova rota para a integração de terapias ativas pequenas, não carregadas e hidrofóbicas em filmes finos de LbL para revestimentos biológicos e biomédicos [44].

Wu e colaboradores utilizaram fibra de celulose tratada com carboximetilcelulose (CMC) em suspensão para obter folhas de papel e estas folhas foram modificadas através da deposição do complexo CMC/quitosana via LbL. Os autores observaram um aumento da resistência à tração úmida e seca dos filmes com o aumento de camadas do complexo sendo 177% para amostra úmida e 1100% para a amostra seca. Além de observar uma redução da permeação da água em 33% [45].

Em outro estudo de deposição via LbL sobre microfibras de celulose, Xing e colaboradores utilizaram PSS, polidialildimetilamônio (PDDA) e enzimas (lacase e urease) como polieletrólito para a automontagem. Os autores visaram a liberação do fármaco utilizando a nanoestrutura automontada na fibra de celulose e verificaram que a retenção da atividade catalítica enzimática foi proporcional ao número de camadas de enzimas revestidas. Para compósitos de fibra de lacase, cerca de 50% de sua atividade inicial foi retida após 2 semanas. Os compósitos de fibra com urease foram aplicados com sucesso no crescimento de micropartículas de carbonato de cálcio necessárias para o branqueamento de papel [46].

3.2.2 **Polieletrólitos**

Polieletrólitos são macromoléculas que apresentam em sua estrutura grupos que podem se dissociar para formar íons em um meio de elevada constante dielétrica como, por exemplo, a água que é o solvente mais importante para esses materiais. Os polieletrólitos podem ser catiônicos, aniônicos ou anfóteros, dependendo do grupo ionizável presente [47].

A carboximetilcelulose (CMC) é um éter de celulose contendo grupos carboxílicos que, em geral, são apresentados na forma de sal sódico (Figura 5). A CMC é obtida pela reação de Williamson, da celulose com ácido monocloroacético na presença de NaOH em etanol/água. Geralmente é apresentada na forma sódica, porém em meio aquoso, apresenta características de polieletrólito aniônico de ácido fraco [48].

Figura 5. Estrutura química da carboximetilcelulose sódica

A CMC é em geral solúvel em água, mas a sua solubilidade está diretamente ligada à quantidade de grupos carboxilatos substituídos na molécula de celulose, sendo que quanto maior o grau de substituição, maior a solubilidade em meio aquoso [49]. A CMC tem sido utilizada para a fabricação de filmes, hidrogéis, e outras aplicações, tais como emulsificantes, estabilizantes e espessantes.

A quitosana é um polímero linear, que pode ser considerado um copolímero, já que é formada pelas unidades 2-acetamido-2-deoxi- β -D-glucopiranosose e 2-amino-2-deoxi- β -D-glicopiranosose (Figura 6) ligados via ligação β (1-4). A quitosana é obtida por desacetilação da quitina que é um polímero de 2-acetamido-2-deoxi- β -D-glucopiranosose. A quitosana é insolúvel em meio aquoso neutro e na maioria dos solventes orgânicos, devido à sua estrutura cristalina altamente organizada, porém em meio contendo um ácido, ocorre a protonação dos grupos amino dando origem a um polieletrólito catiônico solúvel. Devido ao seu caráter catiônico, a quitosana pode formar complexos de polieletrólitos com polieletrólitos aniônicos como a carboximetilcelulose, alginatos e outros. Tanto a quitosana como a CMC podem ser

utilizadas na formação de filmes finos via automontagem, desde que exibindo carga, que no caso da quitosana ocorre somente em meio ácido [50,51].

Figura 6. Estrutura química da quitosana

A quitosana possui uma gama de aplicações, como em áreas de alimentos, biomédicas, agricultura e veterinária, devido às suas características de material não tóxico, biocompatível, biodegradável e por sua característica antimicrobiana [52]. Estudos mais recentes utilizam o complexo CMC/CH como *local drug delivery* de clorexidina [53] e vancomicina [54].

Há estudos sobre filmes e complexos utilizando o par de eletrólitos quitosana e carboximetilcelulose, como em Radeva e colaboradores, em que produziram filmes ultrafinos, com quitosana e CMC, confirmando o crescimento linear das camadas e um filme com alta estabilidade [55].

Rosca e colaboradores estudaram a formação de um complexo na interação da quitosana com CMC. Através de análises de FTIR, condutimetria, potenciometria e termogravimetria observaram que houve a formação do complexo em uma relação estequiométrica (1:1) por ligações eletrostáticas, juntamente com outros tipos de ligações, envolvendo os grupos carboxílicos e as aminas [50].

O Óxido de titânio, em algumas pesquisas é utilizado para a fotocatalise. Li e colaboradores utilizaram TiO₂ e compostos lignosulfatos como modificadores [56,57][57] para superfície de fibra de celulose, medindo a permeação e a atividade fotocatalizadora. O TiO₂ ocorre naturalmente em três fases cristalinas distintas: anatase, broquita e rutilo, e tem sido amplamente utilizado como pigmento (rutilo), como carga em polímeros, filtros solares, tintas [58], sistemas fotocatalíticos para

fotodecomposição, em sistemas fotovoltaicos de geração de energia devido a sua elevada fotoatividade, atividade antibactericida [59], *drug delivery* [60] e etc. Pela sua estrutura, o TiO_2 pode apresentar uma variação de cargas dependendo do pH (Figura 7) podendo atuar como polieletrólito negativo (desprotonação) ou positivo (protonação) em meio aquoso, sendo o ponto em que não há cargas é chamado de ponto isoelétrico (PIE) [61].

Figura 7. Esquema simplificado da protonação e desprotonação da superfície de TiO_2 . O PIE do TiO_2 é $\sim 5,8-7,5$

3.3 Propriedades da NFC

A nanofibrila de celulose é um material com propriedades biodegradáveis, baixa densidade, elevada razão de aspecto e com grande área superficial [17]. Apresenta uma boa resistência mecânica devido à sua estrutura [62], comparada à fibra de celulose, sendo que o grau de polimerização das cadeias de celulose está correlacionado com a resistência mecânica à tração, sendo uma relação diretamente proporcional, para um filme de NFC [63,64].

A NFC possui uma excelente capacidade para formar uma rede ou película devido sua escala nano-dimensional se apresentando transparente ou translúcida dependendo do material de origem, pré-tratamentos e processos de desintegração [11,65], podendo ser aplicada em compósitos plásticos/NFC devido seu baixo coeficiente de expansão térmica [66].

As NFC são higroscópicas e devido a sua elevada área superficial podem estabelecer uma forte interação umas com as outras por meio da formação de ligações de hidrogênio. Por esse motivo, quando em suspensão aquosa, ao contrário das fibras de celulose nativas, tendem a formar um gel, mesmo em baixas

concentrações (0,5-2%) [12,17,67]. Porém o alto número de ligações de hidrogênio pode ser um inconveniente para a NFC, pois lhe confere forte ligações entre fibras, e a hidrofiliabilidade, dificultando a aplicação em algumas áreas, como por exemplo em compósitos, pela sua aglomeração. Outro inconveniente é a não redispersão das fibras quando seca a partir da polpa úmida [68].

A utilização das NFC's abre novos caminhos para pesquisas como em materiais baseados em nanocelulose com grande potencial de aplicações, incluindo materiais transparentes, aplicações biomédicas [69] produção de papéis com propriedades mecânicas melhoradas [63], usado como hidrogel *never-dried* como modificador reológico, aerogel [70], como material seco em nanopapel [71] e em aplicações para cosméticos, alimentos, tintas e produtos farmacêuticos [1].

Existem vários pedidos de patentes anualmente sobre NFC em diferentes áreas de aplicação, desde a construção civil, embalagem e indústria química até alimentos e aplicações biomédicas [72,73].

3.4 Reação de Diels-Alder: Hidrogel termoreversível

A polimerização envolvendo a formação de adutos de Diels-Alder (DA) consiste na cicloadição entre dienos (com dupla ligação conjugada - furano) e dienófilos (alcenos ou derivados de alquinos - maleimida) formando um aduto (Figura 8) estável a temperatura ambiente. A reação ocorre sem formação de intermediários birradicais, podendo formar estereoisômeros [44,74], permitindo uma reação quimioseletiva sem a necessidade de grupos protetores.

Figura 8. O equilíbrio de Diels-Alder entre os grupos furanos e uma maleimida na síntese macromolecular.

A presença de grupos furanos na cadeia principal ou como grupo lateral pode fornecer propriedades originais e valiosas aos materiais macromoleculares. Pelo fato dos furanos descenderem de recursos renováveis, provavelmente desempenharão um papel crescente nas abordagens sustentáveis da química (verde) e da ciência de materiais [75].

A reação de Diels-Alder ocorre tipicamente a 65°C e sua maior peculiaridade é o fato desta reação ser termicamente reversível. Quando aquecido o produto por volta de 100°C, denominada retro-DA (r-DA), ou seja, a temperatura pode controlar o equilíbrio da reação. A aplicação da reação de DA em polímeros é de grande interesse, uma vez que utiliza da química dos furanos, que são materiais renováveis e pelas suas características de reversibilidade e pelo fato de ser uma reação limpa do tipo click [75,76]. Outra grande vantagem dessas reações é que elas podem ser realizadas em meios solventes orgânicos não polares e em solventes polares. A água utilizada como solvente, aumenta consideravelmente a velocidade da reação [77].

Estudos na área reportam a utilização da reação de Diels-Alder em meio aquoso, em um novo processo de gelificação entre poli (N, N-dimetilacrilamida-co-furfuril metacrilato) (PDMAFM) e N- [4- (formil polietilenoglicol éster) bismaleimida] verificando que a água acelera a reação de DA enquanto o solvente N, N-dimetilformamida (DMF) aceleraria a r-DA, além de observar que o tempo de gelificação diminui com o aumento da temperatura [78]. Em outro estudo do mesmo autor, foi utilizado o PDMAFM e poli(etileno glicol), obtendo-se assim resultados semelhantes do anterior, mas com melhora na biocompatibilidade do hidrogel [79].

Guaresti e colaboradores utilizaram uma bismaleimida sintetizada com um polímero em bloco [poli(óxido de propileno) / poli(óxido de etileno) / poli(oxipropileno)] como agente reticulante para a síntese de hidrogel *via* DA sensível ao pH com quitosana modificada com furano. Analisando as propriedades de inchaço e recuperação em diferentes pH e diferentes proporções de bismaleimida/furano a fim de ajustar as propriedades finais dos hidrogéis e a sua resposta a diferentes ambientes tendo em vista a aplicação direcionada à liberação de fármacos [80].

Por esses fatores a reação de Diels-Alder se torna uma alternativa para formação de hidrogéis. Os hidrogéis podem ser definidos como estruturas poliméricas altamente reticuladas tridimensionalmente, cuja principal propriedade é absorver

grande quantidade de água sem perder a estabilidade dimensional [81]. Em escala molecular, se comportam como soluções, assim, moléculas solúveis em água podem difundir em hidrogéis [82].

Os hidrogéis podem ser reticulados por meio de ligações cruzadas físicas ou químicas entre os seus componentes. Os hidrogéis formados por reticulação física possuem transição reversível sol-gel sem necessitar de catalisadores ou iniciadores, porém a resistência mecânica desses géis é inferior à dos hidrogéis de reticulação química. Os hidrogéis obtidos por reações químicas necessitam de iniciadores ou catalisadores, o que torna difícil eliminação dos subprodutos e diminuem sua biocompatibilidade. Por esses motivos, a busca por rotas alternativas que combinem as melhores características dos hidrogéis com um melhor controle químico de sua síntese é desejável. A reação de Diels-Alder é considerada uma via muito interessante para promover a reticulação dos géis especialmente em função de sua termoreversibilidade [83].

Os hidrogéis foram inicialmente sintetizados a partir de polivinil álcool, funcionalizado com grupos azida ou acetileno com adição de catalisador CuSO_4/Na [84]. Anos depois, já utilizavam ácido hialurônico como reticulante apresentando uma citocompatibilidade, abrindo uma grande área de aplicação biomédica [85], devido sua rede tridimensional hidratada ser semelhante aos tecidos corporais [86]. Koschella et al, obteve o primeiro hidrogel a base de celulose, utilizando proporções de azidas e alquinos *via click chemistry* [87]. Atualmente nanocristais vem sendo investigado na área, Shao e colaboradores, obtiveram um gel a partir de CNC-maleimida e PEG com propriedade de “*self-healing*” [88]. Existem muitos trabalhos na utilização da reação de DA para a formação de polímeros reticulados, porém há poucos relatos sobre a preparação de hidrogéis em meios aquosos.

García-Astrain e colaboradores, funcionalizaram nanocristais de celulose com maleimida e gelatina com grupamentos furânicos para formação de hidrogéis *via* reação click de Diels-Alder, a síntese foi confirmada por XPS. Os hidrogéis obtidos apresentaram uma rede mais rígida com menor taxa de intumescimento devido ao maior grau de reticulação. Para os autores a estratégia de “click” provou ser promissora para a formação de hidrogéis bionanocompósitos totalmente renováveis [89].

4. MATERIAIS

Polpa de celulose Kraft branqueada refinada e rauma, nunca secas ("never-dried") foi fornecida pela Suzano S.A. Os filmes de celofane ou celulose regenerada via processo xantato com espessura de 0,2 mm foram fornecidas pela Coopercel, Brasil. Lâmina de microscópio (Bioslide), Carboximetilcelulose sódica (P.A. Synth), quitosana G.A. = 10,5% M_v = 59000 g/mol (Galena Química e Farmacêutica Ltda), cloreto de sódio ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich), isotiocianato de fluoresceína ($\geq 90,0\%$, Sigma-Aldrich) e Metanol (Seco, Sigma-Aldrich), hidrocloreto de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil] carbodiimida – EDC (Puro, Sigma-Aldrich), N-hidroxisuccinimida - NHS (98%, Sigma-Aldrich), Furfurilamina (99%, Sigma-Aldrich), Metanol (Seco, Sigma-Aldrich), exo-3,6-epoxi-1,2,3,6-tetrahidroftálico anidrido – EHPA (97%, Sigma-Aldrich), 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanodiamina – TTDDA (97%, Sigma-Aldrich), N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO - 98%, Sigma-Aldrich), brometo de sódio - NaBr ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich), hipoclorito de sódio - NaClO (10-15 %, Sigma-Aldrich), Clorofórmio deuterado ($CDCl_3$, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) e acetona d-6 (99,9%, Sigma-Aldrich).

NOTA: Neste trabalho foram utilizados dois tipos de fibras de celulose, a rauma e a refinada. Ambas as fibras não passaram por ciclo de secagem durante seus processos de obtenção, sendo assim, chamadas de "never dried". A diferença entre as fibras provém do processo após branqueamento das fibras de celulose, a fibra "refinada" passa por processo de refinamento e a polpa "rauma" não sofreu processo de refino e recebe esse nome, devido ao equipamento utilizado.

5. EXPERIMENTAL

5.1 Modificação física

5.1.1 *Substrato*

O substrato de vidro foi previamente tratado com uma solução de etanol contendo 10% H_2O e 2% NaOH , no ultrassom por 15 minutos. As lâminas foram lavadas com água Milli-Q e imersas em uma solução de permanganato de potássio ($0,5 \text{ g.L}^{-1}$) por 24 horas. Posteriormente, lavada com água Milli-Q e imersa em uma solução de água oxigenada ($1\text{H}_2\text{O}_2:7\text{H}_2\text{O}$) por 10 minutos.

O filme de celofane foi lavado com água Milli-Q, a fim de retirar o glicerol da superfície do substrato. A polpa refinada *never-dry* não foi submetida a nenhum tratamento prévio.

5.1.2 *Soluções dos polieletrólitos*

Solução de quitosana ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$): A solução foi preparada adicionando 500 mL de água Milli-Q, 5 mL de ácido acético P.A. e 0,5 g de quitosana sob agitação, por 48 horas. A solução foi filtrada a vácuo (funil de büchner). O pH da solução foi ajustado para 3 com ácido acético glacial e a força iônica para 20 mM com NaCl.

Solução de quitosana-isotiocianato de fluoresceína (CH-FITC): A solução de quitosana a ser modificada foi preparada utilizando 0,5 g de quitosana em 50 mL de solução aquosa (1 % v/v ácido acético) sob agitação por 48 horas e adicionado 50 mL de metanol à solução.

O composto de isotiocianato de fluoresceína foi preparado utilizando 25mg de FITC em 25mL de metanol, sob agitação em ambiente ausente de luz.

A solução de FITC foi adicionada lentamente à solução de quitosana em metanol, com agitação por uma hora, em ambiente protegido da luz e à temperatura ambiente. A solução foi precipitada com solução de NaOH (10 % m/m) e filtrada à vácuo. Posteriormente a solução de quitosana modificada com FITC foi preparada seguindo o mesmo procedimento descrito para a solução de quitosana ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e armazenada em um ambiente com ausência de luz para evitar a degradação da fluoresceína. O esquema da reação é demonstrada na Figura 9.

Figura 9. Esquema representativo da reação da quitosana com o isotiocianato de fluoresceína.

Solução de carboximetilcelulose: A solução foi preparada adicionando 0,5 g de CMC em 500 mL de água Milli-Q, mantendo sob agitação, por 24 horas. A solução foi filtrada a vácuo por meio de funil de büchner com papel qualitativo. O pH da solução foi ajustado para 3 por meio da adição de ácido acético glacial e a força iônica ajustada para 20 mM por meio da adição de NaCl.

Nota: A escolha do pH para as soluções de polieletrólitos foi feita seguindo um estudo prévio, onde foi verificado que a melhor condição para a deposição era com pH 3. Nesse trabalho verificou-se que a espessura da camada formada, depende de diversos fatores, dentre eles a dissociação dos grupos carboxilato e amino para formar COO^- e NH_3^+ responsáveis pelas interações iônicas entre os componentes [90,91]. A escolha do valor da força iônica foi baseada em dois estudos prévios, onde o autor demonstrou que a camada de filme que reveste o substrato apresentou maior espessura quando utilizado um polieletrólito de força

iônica de 20 mM em comparação a um polieletrólito com força iônica de 0,5 mM [92] e em outro de Sundman, onde o autor variou pH e força iônica para automontagem de CMC e hidroxietilcelulose etoxilado quaternizado (HECE) sobre fibra de celulose [93]. Deve-se levar em conta que a adição de sal à uma solução de polieletrólito provoca a blindagem das cargas e como resultado a cadeia macromolecular se apresenta mais enovelada e não na forma estendida [94].

Suspensão de nanopartícula de dióxido de titânio: O TiO_2 foi preparado de acordo com o método de Da SILVA e colaboradores [95], em que uma mistura 1:1 de tetra-N-butil titanato e álcool isopropílico em 600 mL de água deionizada com 2 mL de HNO_3 concentrado (70%) sob agitação magnética por 2 h. Então, a solução foi aquecida a 80 °C por 4 horas e agitada por mais 12 h em temperatura ambiente. A nanopartícula apresentou um diâmetro médio de 50nm, obtido por DLS e polimorfismo majoritariamente anatase, caracterizado por difração de raio-x.

5.1.3 *Preparo da automontagem nos substratos – vidro e celofane*

Os filmes automontados foram preparados sobre dois substratos planos, lâmina de vidro, e filme de celofane. Os polieletrólitos utilizados foram a quitosana, como polieletrólito catiônico e a carboximetilcelulose, como polieletrólito aniônico.

Os substratos, que possuem cargas negativas primeiramente são imersos por 5 minutos em solução de carga oposta (polication) de quitosana. O substrato é retirado da solução e imerso por 5 minutos em solução aquosa três vezes a fim de retirar o excesso do polieletrólito e evitar a contaminação entre as soluções. O substrato foi imerso em polieletrólito, de carga oposta, sendo um poliânion (CMC). O processo de formação das bicamadas foi repetido de acordo com a quantidade desejada. O termo bicamadas será utilizado para cada par de polieletrólito (CH/CMC) sob o substrato.

O tempo de 5 minutos foi escolhido apenas para padronizar o método. De acordo com Decher (2012), a cinética de adsorção do polieletrólito em substrato é rápida, entre 1 a 2 minutos por camada e a espessura da monocamada é autolimitante, não havendo dessorção aparente [96].

5.1.4 **Preparo da automontagem no substrato – fibra**

O processo de automontagem na fibra refinada *never-dry* em suspensão, se assemelha com o de uma automontagem em um substrato de superfície linear, porém se mostrou mais complexo. Quando a fibra é imersa em um polieletrólito, é necessário a utilização de um homogeneizador, Ultra-Turrax IKA (operando a 5.000 rpm), para dispersão das fibras por 5 minutos, a fim de aumentar a probabilidade de adsorção do polieletrólito em torno da fibra individualmente. O processo de automontagem e lavagem ocorrem em um filtro biológico (Figura 10), com o auxílio de vácuo. Porém durante a filtragem, as fibras devem permanecer úmidas, para não haver colapso. Na Figura 10 em destaque, uma fibra revestida com uma bicamada de CH/CMC.

Figura 10. Processo de automontagem em fibra de celulose.

5.1.5 **Preparo dos filmes com as fibras modificadas**

A polpa de celulose refinada “*never-dried*” pura ou modificada foram suspensas em água 0,1 % em massa e homogeneizada com Ultra-Turrax IKA operando a 5.000 rpm durante 5 min. A suspensão de fibra (pura ou modificada) foi filtrada com funil de Buchner com diâmetro de 90 mm sob vácuo (Figura 11-a). A pasta de fibra úmida foi cuidadosamente removido do papel de filtro e colocado entre dois papéis de filtro novos para remover o excesso de água (Figura 11-b).

Figura 11. Processo de formação das folhas de fibras

Em sequência, o sistema foi pressado entre duas placas de metal com um separador de metal de 1 mm (Figura 11-b) e aquecido a 120 °C por 30 min sob uma massa de 100 kg em uma prensa hidráulica (Figura 11-c). As folhas de fibra produzidos foram armazenados em dessecador contendo sílica gel (Figura 11-d).

5.1.6 **Caracterização**

Os filmes obtidos foram caracterizados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), EDS, por microscopia confocal, tração e potencial zeta/DLS. Esses resultados serão abordados a seguir.

5.1.6.1 MEV e EDS

As imagens de MEV permitem visualizar a seção transversal das camadas automontadas sobre o substrato, após fraturar a amostra em nitrogênio líquido, possibilitando estimar a sua estrutura e observar a topografia obtida.

A análise da fibra celulósica foi obtida por elétrons secundários, usando um equipamento FEI *inspect* F50, com uma distância de trabalho de aproximadamente 10,0 mm, com um *spot* de aproximadamente 3,0 pA com uma voltagem de 2 kV.

Para os polieletrólitos puros, uma gota do material foi seca à vácuo sob uma placa de sílica e para a amostra com fibra, foi fixada em um “*stub*” com fita de carbono, e metalizada com uma camada de platina.

As análises de espectroscopia de energia dispersiva de Raio x (EDS), foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura FE50 *inspect* F50, com uma distância de trabalho de aproximadamente 10,0 mm, com um *spot* de aproximadamente 3,0 pA com uma voltagem de 2 kV e com um detector *Octane Ectect EDS System* da EDAX.

5.1.6.2 Microscopia confocal de varredura a laser (CLSM)

As imagens obtidas pelo microscópio confocal de fluorescência por absorção de fótons permite analisar as propriedades dos filmes finos que emitem luz (como o isotiocianato de fluoresceína), em meio aquoso. As amostras caracterizadas pela técnica de absorção de um fóton foram as fibras refinadas puras, fibras automontadas com CMC/CH e fibras automontadas com CMC/CH-FITC. Todas as imagens foram obtidas em microscópio Zeiss (modelo invertido LSM 780), usando como excitação um LASER Ti: Sapphire e lentes objetivas de 40x, 1,2 NA e 0,28mm de distância de trabalho em água.

Para a técnica por absorção de dois fótons, as amostras analisadas foram as fibras refinadas puras e fibras automontadas com CMC/CH. A técnica de absorção de dois fótons envolve a interação combinada de dois fótons, os quais combinam suas energias para produzir uma excitação eletrônica análoga à energia causada por um fóton (de menor comprimento de onda) [97].

Figura 12. Diferença de resolução das técnicas de absorção de 1 e 2 fótons

A Figura 12 **Erro! Fonte de referência não encontrada.** demonstra resumidamente a diferença de excitação e absorção de um ou dois fótons, partindo do estado fundamental para o estado excitado gerando uma resolução particular de cada técnica. Na microscopia *via* absorção de um fóton, a intensidade do sinal de fluorescência é linearmente proporcional à intensidade do local de excitação, isso pode gerar um alto espalhamento de luz gerando ruído e diminuindo a resolução longitudinal (ao longo do caminho óptico). Já a técnica *via* 2 fótons, o comprimento de onda de cada fóton é duas vezes maior, ou seja, a energia de cada fóton ocorre com metade da energia pela outra técnica, a frequência de excitação está na região transparente da amostra, gerando uma profundidade maior de penetração. Assim, o sinal origina-se em apenas uma pequena região focal aumentando a resolução [98].

5.1.6.3 Tração

Os ensaios de solicitação mecânica sob tração foram realizados em equipamento Instron (Modelo 5969) com uma célula de carga de 5 kN, com velocidade de ensaio de 0,5 mm.min⁻¹. A temperatura e a umidade relativa foram controladas a

23 °C e 48 % umidade relativa durante todos os testes. As amostras testadas foram as folhas de fibra refinada pura e folha de fibras modificadas por LbL e posteriormente condicionadas na sala de teste por pelo menos 24 horas antes do ensaio.

A geometria escolhida dos corpos de prova utilizados no ensaio de tração foi retangular miniaturizada (Figura 13), conforme Hervy e colaboradores [99], de tamanho 35 mm por 5 mm e a distância entre garras de 25 mm.

Figura 13. Geometria do corpo de prova para o ensaio de tração.

Os corpos de prova foram presos por garras de borracha para evitar escorregamento da amostra durante o ensaio. Foram utilizados seis corpos de prova por amostra e os resultados obtidos servirão para analisar a influência das quantidades de bicamadas depositadas na fibra com as propriedades mecânicas das mesmas e avaliados por análise de variância *One-way* (ANOVA) e teste de comparação múltipla de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

5.1.6.4 Potencial Zeta/DLS

Os ensaios de potencial Zeta foram realizados utilizando um LitesizerTM 500 (Anton Paar, Austria), com cubeta do tipo *Omega shaped cuvette*. As amostras de nanoparículas de TiO₂ foram preparadas em três pHs distintos, mantendo a força iônica de 20 mM com NaCl a 23°C, em triplicata. A análise permite identificar a carga das nanopartículas, assim utilizando-as como polieletrólito. O tamanho das nanopartículas foram determinadas por DLS.

5.2 Modificação química

5.2.1 *Modificação da nanofibra de celulose com a inserção (enxertia) do grupo furânicos.*

Para a preparação da nanofibra de celulose oxidada *via* TEMPO em meio aquoso, uma suspensão de 5g de fibra refinada ou fibra rauma *never-dry* em água foi homogeneizada utilizando um Ultra-Turrax por 5 minutos operando a 5.000 rpm. Em seguida, 50 mL da solução aquosa do catalisador, contendo TEMPO (0,1 mmol/g de celulose) e NaBr (1 mmol/g de celulose) foram adicionadas à fibra sob agitação magnética em temperatura ambiente, adicionando lentamente 50 mL de uma solução de NaClO (10 - 15 %). O pH da solução foi mantido em 10, por meio da adição de solução de NaOH a 0,5 M até a variação do pH não ser mais observada. Após a estabilização do pH, a reação foi mantida sob agitação por mais 4 horas, à temperatura ambiente. O pH fora ajustado para 7 com a adição de solução 0,1M de HCl. A suspensão de fibra modificada foi filtrada, lavada com água deionizada e armazenada a 4°C. O teor de grupos carboxilatos da celulose nanofibrilada oxidada *via* TEMPO (ToNFC) foi determinado por titulação condutimétrica. Para a ToNFC obtida a partir da fibra de celulose refinada, será utilizado a sigla ToNFC-ref e para a ToNFC obtida a partir da fibra de celulose rauma, será utilizado a sigla ToNFC-rau.

Para a enxertia do grupamento furânico na nanofibra de celulose, foi adicionado 3,2 mmol dos catalisadores EDC/NHS em 66 mL de uma suspensão aquosa de ToNFC contendo 0,1 g de celulose perfazendo uma concentração de 1,5%, sob agitação por 30 minutos. Posteriormente, foi adicionado 3,2 mmol de furfurilamina, ajustando o pH para 5, com HCl 3,0 M. A suspensão foi mantida sob agitação magnética a 40 °C por 24 horas. Após a reação, o pH da suspensão de fibra modificada foi reduzido para 1,5 por meio da adição de HCl 3,0 M. A suspensão foi então purificada por meio de diálise com água deionizada, por 7 dias, para remoção de sais e excessos de reagente. A suspensão foi então desfibrilada (dispersa) em banho de ultrassom (sonicador) operando com 70% da potência por 5 minutos e estocada sob refrigeração à 4°C. O esquema da reação é apresentado resumidamente na Figura 14.

Figura 14. Reação de enxertia da furfurilamina na superfície da celulose oxidada via TEMPO.

O reagente catalítico EDC é um ativador solúvel para grupamentos carboxílicos. O NHS é usualmente utilizado em conjunto com o EDC para tornar a reação mais eficiente, criando um intermediário metaestável de uma éster-amina, que podem reagir com moléculas que contêm grupos amina e formar ligações amida estáveis [100].

5.2.2 Síntese da bismaleimida (BM)

O agente de reticulação, necessário para a formação do hidrogel foi sintetizado a partir de uma solução de 10 g de exo-3,6-epoxi-1,2,3,6-tetrahidroftálico anidrido (ETHPA) em 50 mL de metanol (previamente seco com peneiras moleculares de 3 Å), que foi adicionada a 6,83 g de 4,7, 10-trioxa-1,13-tridecanodiamina (TTDDA) (razão molar de 2:1), e mantido em refluxo a 65 ° C sob agitação magnética por 24 horas. O esquema da reação é apresentado no esquema da Figura 15.

Figura 15. Síntese da bismaleimida preparada a partir de um aduto com a anidrido/diamina.

Após a reação, o metanol foi removido por rotaevaporação e o material resultante foi liofilizado. O produto obtido foi aquecido para promover a r-DA do aduto a 95 °C durante 24 horas em solução aquosa removendo o grupo furano por evaporação (Figura 16) [83].

Figura 16. Reação r-DA para eliminação do furano.

5.2.3 *Preparação do hidrogel termoreversível via reação DA e r-DA.*

As reações Diels-Alder e r-DA do hidrogel foram conduzidas, misturando a ToNFC modificado com grupamento furânico e a bismaleimida em meio aquoso, sob agitação a 60 °C sob atmosfera de nitrogênio, seguido de aquecimento à 90 °C sem agitação, como esquematizado na Figura 17.

Figura 17. Formação de hidrogel de celulose termicamente reversível através da reação DA/r-DA. As linhas pretas representam as nanofibras de celulose.

5.2.4 *Caracterização*

5.2.4.1 *Método de Schopper Riegler.*

O método Schopper Riegler tem como objetivo determinar a taxa de drenagem ou o grau de refino de polpas em suspensão. Um litro de uma suspensão aquosa com 2g de polpa foi filtrada por meio de uma “peneira” padrão na câmara de drenagem. A água de drenagem, transbordada do funil, que escorre pelo orifício lateral do equipamento determinando o valor *freeness* (ml), sendo que um °SR corresponde à 10 ml de água. O método de drenabilidade está de acordo com a norma ISO 5267-1 [101](Figura 18**Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

Figura 18. Equipamento de Schopper Riegler

5.2.4.2 Titulação condutimétrica.

A quantidade de grupamentos carboxílicos dos materiais, antes e após as reações de modificação, foi determinada por meio de titulação condutimétrica ácido/base. Para isso, 100 mL de suspensão das amostras a 0,1 % em massa foram dispersas por 5 minutos por meio de um homogeneizador Ultra-Turrax operando a 5.000 rpm. O pH da suspensão foi então ajustado para 2,5 por meio da adição de HCl 0,1 M. O material foi então titulado com NaOH 0,1 M, adicionado em alíquotas de aproximadamente 0,2 mL em intervalos de 20 segundos sob agitação magnética. A quantidade de grupos carboxílicos na amostra foi estimada por meio da equação 1. O resultado é apresentado em mmol/g de amostra:

$$X = \frac{C * (V_2 - V_1)}{w} \quad (1)$$

onde C é a concentração do titulante (NaOH 0,1 M), w é a massa da fibra ou nanofibra (aproximadamente 0,1 g) e V_1 e V_2 são os volumes de NaOH equivalentes em litros.

Para o cálculo do grau de oxidação (DO = *Degree of oxidation*) nas amostras foi aplicado a equação 2:

$$DO = \frac{162 * C * (V_2 - V_1)}{w - [36 * C * (V_2 - V_1)]} \quad (2)$$

onde C é a concentração do titulante (NaOH 0,1 M), w é a massa da fibra ou nanofibra (aproximadamente 0,1 g) e V_1 e V_2 são os volumes de NaOH equivalentes em litros.

5.2.4.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier - FTIR

Os espectros de FTIR foram obtidos pelo método de Reflexão Total Atenuada (ATR), por transmitância em um equipamento Spectrum 100 da PerkinElmer, no intervalo de 4000-600 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} , tendo sido realizadas 20 varreduras para cada espectro.

5.2.4.4 RMN – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância foram realizados em um espectrômetro Bruker Avance DSX 400MHz operando a 300 MHz a temperatura ambiente, utilizando clorofórmio deuterado e acetona- d_6 como solventes, em tubos de 5mm. Os métodos de análise de RMN para esse trabalho foram RMN ^1H , RMN ^{13}C e RMN ^{13}C -Dept135.

5.2.4.5 Reometria rotacional

A caracterização do comportamento reológico foi utilizada para observar o aumento de viscosidade do hidrogel em função da temperatura e tempo. Foi utilizado um reômetro Brookfield (DV3TLV) de geometria cone-placa (raio do cone de 12 mm e ângulo do cone de 3°), sob frequência constante de 0,1 rpm durante 1 minuto a 25 $^\circ\text{C}$.

5.2.4.6 Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC

A técnica de DSC foi utilizada para observar a reprodutibilidade do hidrogel termoreversível, através das reações de DA e r-DA. As amostras foram analisadas em um equipamento Pyris 1 (Perkin-Elmer) sob uma atmosfera de nitrogênio. As taxas de aquecimento e resfriamento foram de 20 °C/min, em uma panela de alumínio selada, com volume aproximado de 11 µL. As amostras foram inicialmente aquecidas e mantidas a 55°C durante 20 min, seguida de aquecimento para 90°C com isoterma de 20 min, na mesma temperatura, seguida de resfriamento para 55°C e isoterma de 20 minutos. Os ciclos foram repetidos por mais 3 vezes.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Modificação física

6.1.1 *Filmes LbL quitosana/carboximetil celulose sobre substrato de vidro.*

Inicialmente, um estudo da técnica de automontagem foi feito para analisar o comportamento de crescimento sob substrato de vidro. As Figura 19(a) e (b) apresentam as imagens obtidas com os valores da espessura total das camadas em secção transversal fraturadas com nitrogênio líquido em substrato de vidro.

Figura 19. Imagem de MEV da seção transversal do filme com 10 bicamadas em vidro. (a) com uma escala de 4 μm e (b) com uma escala de 50 μm.

Nas imagens é possível observar a interface das camadas com o substrato com facilidade, já que o vidro possui boa linearidade na superfície. A espessura total das 10 bicamadas depositadas foi de aproximadamente 1200 nm, ou seja, 60 nm por camada de polieletrólito depositado. A espessura do filme depositado sugere que não ocorre somente a deposição de uma única camada, mas um aglomerado de polieletrólito por camada.

6.1.2 *Filmes LbL quitosana/carboximetil celulose sobre substrato de celulose regenerada (filme de celofane).*

A Figura 20(a) apresenta as imagens obtidas do substrato celofane na seção transversal fraturada em diferentes escalas, com 5 kV de tensão de aceleração. A espessura do substrato obtido nas micrografias presentes na Figura 20 foram de aproximadamente 25,7 μm e demonstram que o celofane é relativamente uniforme.

Figura 20. Imagens de MEV de amostra de celofane (a) sem recobrimento e (b) com 10 bicamadas.

A Figura 20-b apresentam as imagens obtidas da seção transversal dos filmes com 10 bicamadas de quitosana/CMC sobre substrato de celulose regenerada obtidas por fratura frágil em nitrogênio líquido com o microscópio operando com 5 kV de tensão de aceleração. A espessura média obtida para 10 bicamadas foi de 780 μm . Observa-se que a superfície apresenta um relevo heterogêneo, o que sugere que a deposição do polieletrólito pode ocorrer com a cadeia macromolecular mais enovelada e não na forma estendida formando aglomerados em cada polieletrólito [94].

As Figura 21-a e b apresentam as imagens obtidas das camadas em seção transversal fraturadas com nitrogênio líquido, com 20 e 30 bicamadas de quitosana/CMC, respectivamente. As espessuras obtidas foram de 2034 nm para 20 e 2748 nm para 30 bicamadas, ou seja, a espessura média foi de aproximadamente 50 e 46 nm/camada, respectivamente. A heterogeneidade da superfície sugere que

não ocorre somente a deposição de uma única camada, mas um aglomerado de polieletrólito por camada.

Figura 21. Imagens de MEV do substrato celofane com (a) 20 e (b) 30 bicamadas.

As medidas de espessura do filme obtidas a partir das imagens do MEV foram graficadas com função do número de bicamadas depositadas e são apresentadas na Figura 22.

Figura 22. Relação do número de bicamadas pela espessura do filme.

A curva apresentou uma relação direta da quantidade de material adsorvido pela espessura do filme. O aumento do número de bicamadas pela espessura revela uma certa linearidade confirmando a relação obtida por Radeva [55].

6.1.3 *Filmes LbL quitosana/carboximetil celulose sobre polpa celulósica refinada.*

Após um estudo da técnica de automontagem e do crescimento das bicamadas em vidro e celofane, iniciou-se a modificação nas fibras de celulose. As Figura 23-a e b apresentam as imagens da morfologia da polpa celulósica, sem tratamento e com 3 bicamadas de CH/CMC, respectivamente.

Figura 23. Imagens de MEV da polpa celulósica (a) sem tratamento (b) recoberta com 3 bicamadas.

Observa-se que não houve uma mudança significativa na morfologia, tanto na superfície quanto na dispersão das fibras. O método de Microscopia eletrônica de varredura não foi eficaz para caracterizar este tipo de substrato, pois não foi possível a análise da seção transversal das fibras. A fixação em resina epóxi e corte por ultramicrotomia ou a fixação de uma fibra isolada poderiam ser uma possibilidade para analisar transversalmente a fibra, porém a probabilidade de conseguir uma fratura na fibra para identificação as bicamadas são baixas.

Portanto a técnica de microscopia confocal de varredura a laser foi utilizada como uma alternativa de se observar o interior da fibra, através do corte

confocal, para que seja possível a identificação das camadas dos polieletrólitos automontados. A Figura 24-a apresenta a imagem da fibra de celulose pura, em um corte confocal.

Figura 24. (a) Imagem confocal da fibra de celulose pura em meio aquoso, (b) espectro de emissão de celulose no círculo marcado na imagem e (c) perfil de corte confocal da fibra (seta).

Uma análise em modo pontual da fibra (representado por círculo vermelho na Figura 24-b apresenta o espectro de emissão da fibra e a intensidade máxima de fótons ocorre no comprimento de onda em torno de 440 nm e pode estar associada as várias origens dos constituintes da polpa de celulose, como resquícios de hemiceluloses e outros carboidratos (lignina residual) [102]. A Figura 24-c apresenta o perfil da fibra, representado pelo corte transversal indicado seta vermelha na Figura 24-a. A fibra apresentou um diâmetro total externo de 20 μm e cerca de 5,8 μm de espessura de cada parede. Uma alternativa amplamente utilizada é a

modificação química do polieletrólito com a inserção de um cromóforo na estrutura, modificando o comprimento de onda do fóton emitido, para maiores valores.

Figura 25. (a) imagem de microscopia confocal da fibra revestida com 2 bicamadas de CH/CMC em meio aquoso e (b) corte da seção transversal. Nota: As cores no gráfico são ilustrativas e não correspondem ao comprimento de onda emitido por cada substrato.

A Figura 25-a mostra a imagem de microscopia confocal da fibra revestida com 2 bicamadas de CH/CMC. O revestimento ou a interface não podem ser identificados, uma vez que as emissões de celulose e quitosana se sobrepõem. Isso ocorre pois a quitosana possui uma estrutura semelhante à celulose, emitindo fótons em comprimento de onda muito próximo ao da celulose, não havendo uma diferenciação das diferentes moléculas.

Portanto, a quitosana foi modificada com isotiocianato de fluoresceína, e substituída em uma camada específica do filme automontado, como na primeira camada, a fim de observar se houve a adsorção da quitosana na superfície da fibra [103].

Figura 26. Imagens de microscopia confocal (a) da fibra sem tratamento, (b) e (c) da fibra revestida com CMC/CH-FITC.

Na imagem da Figura 26-a observa-se a fibra de celulose modificada com quitosana pura, não havendo diferenciação no espectro de emissão, porém na Figura 26-b, utilizou-se uma superfície da fibra revestida por 3 bicamadas de CH/CMC, sendo a primeira camada do polieletrólito substituída pela quitosana modificada com isotiocianato de fluoresceína. A camada de revestimento pode ser constatada por duas emissões em comprimentos de ondas diferentes.

O plano confocal, que corta a fibra longitudinalmente, demonstra as paredes e o volume interior da fibra (observado na Figura 26-c). Foram detectadas duas emissões em comprimentos de ondas diferentes, uma em 480 nm, referente aos componentes da celulose e outra em 520 nm, característico do isotiocianato de fluoresceína. Embora esses resultados tenham mostrado que houve a deposição do FITC-CH na fibra, não foi possível a identificação dos diferentes componentes, devido à alta saturação do cromóforo, assim, decidimos por usar outro método da técnica de microscopia confocal para uma fibra automontada com um polycation não modificado.

O objetivo era usar uma técnica que pudesse distinguir celulose de quitosana e carboximetilcelulose, este método é absorção por dois fótons, o que difere da técnica anteriormente usada com apenas um fóton de excitação.

Amostras de fibra modificada com 2 bicamadas de CH/CMC foram analisadas pela técnica de microscopia confocal por absorção de dois fótons (Figura 27-a).

Figura 27. (a) Imagem de microscopia confocal de uma fibra revestida por 2 bicamadas de CH/CMC ($\sim 0,2 \mu\text{m}$) utilizando a técnica de emissão de dois fótons e (b) perfil confocal ao longo da seção de fibras mostrando as emissões de celulose e quitosana.

Graficando a intensidade medida em função da distância indicada pela seta vermelha na Figura 27 (a) e (b), observa-se que houve duas emissões diferentes, uma de celulose e outra da camada de quitosana. O gráfico de perfil mostra que as camadas de CH/CMC foram adsorvidas dentro e fora da fibra de celulose, correspondendo a 4 picos de emissão. A adsorção interna de quitosana demonstra que os polieletrólitos de quitosana e CMC penetram na parte interna da fibra formando uma automontagem de CH/CMC, resultando em um revestimento externo e interno da fibra celulósica. A penetração dos polieletrólitos solubilizados em água ocorre pela presença de poros na fibra, em que é aumentada pela força iônica da solução, devido a entropia do sistema [104]. As paredes apresentaram uma espessura de aproximadamente $5 \mu\text{m}$, e a espessura do revestimento automontado foi de $0,2 \mu\text{m}$, ou seja, cada camada de polieletrólito depositada apresentou aproximadamente 50 nm. A espessura média de cada camada depositada na fibra se aproximou da

espessura média das camadas em outros substratos, como no vidro e no celofane, demonstrando que o processo de automontagem ocorre de maneira parecida em diferentes substratos carregados.

Após observar que o revestimento na fibra ocorre tanto internamente quanto externamente na fibra pela técnica *Layer-by-Layer*, e que a espessura aproximada de cada camada é de aproximadamente 50 nm, as fibras de celulose foram revestidas com diferentes quantidades de bicamadas e prensadas em filmes para analisar a influência nas propriedades mecânicas da fibra.

Quatro folhas foram preparadas para a análise, sendo uma de polpa pura e três com fibras modificadas, com 1, 2 e 3 bicamadas de CH/CMC. Foram utilizados seis corpos de prova por amostra. A Figura 28 apresenta as curvas representativas de tensão vs deformação para a folha de polpa pura e para as fibras automontadas.

Figura 28. Curva representativa de tensão-deformação para as fibras pura e modificadas

Os filmes, quando solicitados mecanicamente, apresentaram um comportamento inicial elástico seguido de uma deformação inelástica com uma falha frágil [99]. A Figura 29 apresenta o limite de resistência à tração (LRT) para as amostras, em quantidades de bicamadas distintas, com seus respectivos desvios padrões. Nota-se que pelo comportamento mecânico apresentado pelas amostras, a tensão máxima é equivalente a tensão de ruptura das folhas.

Figura 29. Tensão máxima para as folhas de polpa pura e fibras modificadas, com respectivos desvios padrões.

Conforme apresentado na Figura 29, a resistência à tração aumentou significativamente com a modificação das fibras com 1, 2 e 3 bicamadas de CH/CMC. A resistência mecânica da fibra ao modifica-la com uma bicamada aumentou de $11,32 \pm 1,02$ para $21,83 \pm 2,48$ MPa, ou seja, de 92,8%. Para a fibra com duas bicamadas, o aumento foi proporcionalmente menor, porém obteve 138,1 % em relação a fibra pura e para fibra modificada com três bicamadas, um aumento de 171,4 %.

A Figura 30 apresenta o módulo elástico para a folha de fibra de celulose e folhas de fibra modificada. O módulo da folha de fibra pura foi de $0,99 \pm 0,07$ GPa, bem abaixo quando comparadas aos módulos apresentados por materiais constituído por nanofibras, como nano filmes de celulose (NFC) ou nano-filmes de celulose bacteriana, sendo $15,3 \pm 2,8$ e $14,3 \pm 1,1$ GPa, respectivamente, para o mesmo tipo de corpo de prova [99].

Figura 30. Modulo elástico do filme de polpa e fibras modificadas, com respectivos desvios padrões.

As folhas fabricadas com as fibras modificadas pela deposição LbL de 1, 2 e 3 bicamadas de CH/CMC, apresentaram um módulo elástico maior, conforme o aumento do número de bicamadas depositadas sobre as fibras. O aumento do módulo das folhas com fibras revestidas por uma bicamada foi de $0,99 \pm 0,07$ para $1,81 \pm 0,05$ GPa, representando um aumento de 82,4 %. Para as folhas produzidas com fibras modificadas duas bicamadas observou-se um aumento de 91,9%, no módulo, apresentando $1,91 \pm 0,17$ GPa de módulo elástico. Para a folha produzida com fibras modificadas de com 3 bicamadas, foi observado um aumento de 121,1 %.

O índice de tração (σ^T_w) representa a força máxima por unidade de largura e gramatura das amostras, os valores e os desvios padrões estão resumidos no gráfico a seguir (Figura 31).

Figura 31. Índice de tração do filme de polpa e fibras modificadas, com respectivos desvios padrões.

Com uma bicamada de revestimento, o índice de tração aumentou para $1346,06 \pm 152,62$ Nm/g, representando um aumento de aproximadamente 126%. Para a folha de fibras com duas bicamadas houve um aumento de 143%, apresentando $1446,44 \pm 130,91$ Nm/g. Com o acréscimo de mais uma bicamada a folha passou a ter $1791,81 \pm 251,72$ Nm/g, um aumento de 201% em relação à folha de fibra não modificada.

O aumento do índice de tração em função do número de bicamadas automontadas empregado na produção das fibras usadas na fabricação das folhas pode ser consequência da boa interação da quitosana com a fibra e com a CMC, visto que a interação é eletrostática, aumentando a resistência da fibra ao ser modificada [47] ou pela interação entre fibras. O índice de tração (σ^T_w) também leva em conta a gramatura do corpo de prova, isso comprova que o aumento da resistência do filme é diretamente influenciado pelas camadas depositadas, desconsiderando possíveis falhas, vazios da produção do filme. Este índice, também leva em conta a largura, porém todos os corpos de prova são padronizados, não influenciando diretamente nos diferentes valores.

Um resumo dos valores de todas as propriedades mecânicas, para todas as amostras ensaiadas e seus respectivos desvios padrões estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades de módulo elástico, limite de resistência à tração e índice de tração das folhas das fibras puras e fibras modificadas.

	Módulo elástico (E) (GPa)	Tensão máxima ($\sigma_{\text{máx}}$) (MPa)	Índice de tração (σ^T_w) (Nm/g)
Polpa	$0,99 \pm 0,07$	$11,32 \pm 1,02$	$595,28 \pm 53,66$
1 Bicamada	$1,81 \pm 0,05$	$21,83 \pm 2,48$	$1346,06 \pm 52,62$
2 Bicamadas	$1,91 \pm 0,17$	$26,97 \pm 2,44$	$1446,44 \pm 130,91$
3 Bicamadas	$2,18 \pm 0,18$	$30,74 \pm 4,32$	$1791,81 \pm 251,72$

As fibras também foram modificadas com nanopartículas de óxido de titânio (nanoTiO_2). Para definir o processo de preparação, foi feito um estudo sobre a carga superficial das nano partículas, por meio de medidas de potencial Zeta nas suspensões de nanoTiO_2 utilizadas. As cargas das soluções com pHs distintos estão ilustradas na Figura 32.

Figura 32. Potencial Zeta da nanopartícula de TiO_2 em diferentes pHs

A suspensão de nanopartícula de TiO_2 alcalina apresentou uma carga superficial negativa (-20,2 mV), atuando como polycation, apresentando uma estabilidade das nanopartículas, como observado na Figura 32. Quando pH das soluções foram ácidas (pH~2,5 e 4,5), as nanopartículas apresentaram baixa estabilidade, havendo a aglomeração das partículas e carga superficial foi positiva (31,2 e WW mV, respectivamente). A suspensão então utilizada para a deposição na fibra foi na forma catiônica (pH ~12,5), sendo depositada diretamente na fibra de celulose. A Figura 33 apresenta os espectros de energia dispersiva de Raio-x (EDS) da nano partícula de TiO_2 e do filme de fibra modificada com TiO_2 .

Figura 33. EDS comparativo da nanopartícula de TiO_2 e fibra carregada com nano TiO_2

Essa técnica foi aplicada de uma forma qualitativa e com base nos resultados, observa-se que a nanopartícula TiO_2 , na forma majoritariamente anatase, foi depositada na superfície da fibra pela permanência do pico $\text{K}\alpha_1$ da nano partícula, podendo possivelmente obter atividade fotocatalítica, antimicrobiana.

6.2 Modificação química.

6.2.1 Polpa, NFC, ToNFC e graftização.

Para a modificação química, foram utilizados dois tipos de fibras de celulose, a rauma e a refinada. As fibras foram analisadas pelo grau de refino utilizando o método de Schopper Riegler (SR). O valor obtido para a fibra rauma foi de 17,25 °SR, o que denota que a polpa não sofreu nenhum tipo de refinamento, como observado no MEV na Figura 34-a.

Figura 34. Microscopia eletrônica de varredura das fibras (a) rauma e (b) refinada.

A polpa refinada demonstrou uma maior resistência ao escoamento da água, ou seja, menor drenabilidade, sendo valor corrigido foi de 25 °SR, demonstrando um refinamento como observado na superfície cisalhada da fibra na imagem de MEV da Figura 34-b.

A modificação química da superfície das fibras de celulose, ocorreu pela oxidação mediada por TEMPO de seus grupos hidroxila primários em meio aquoso, seguida da condensação de furfurilamina sobre os grupos de carboxílicos *via* a reação de amidação com EDC/NHS em meio aquoso (como descrito na Figura 14).

O sucesso da oxidação dos grupos hidroxilados da celulose primária para carboxilatos foi confirmado por FTIR. A Figura 35 apresenta os espectros de FTIR das amostras correspondentes a fibra da polpa de celulose refinada, a fibra oxidada *via* TEMPO e a ToNFC graftizada com furfurilamina.

Figura 35. Espectro de FTIR comparativo da fibra (refinada), ToNFC-ref e ToNFC-ref – furfurilamina

Nos espectros de FTIR foi possível observar que as absorções em aproximadamente 3338 cm^{-1} variaram em função dos processos aplicados. Essa banda está relacionada com a absorção dos grupos hidroxila (-OH) de álcoois e ácidos carboxílicos e há uma diminuição na intensidade do pico quando parte das hidroxilas do ácido carboxílico das fibras de celulose oxidadas *via* TEMPO são modificadas pela furfurilamina.

A banda em 1603 cm^{-1} , atribuído ao carboxilato, apresenta um aumento na transmitância após a oxidação *via* TEMPO na fibra de celulose. Quando a ToNFC-ref é modificada com furfurilamina a intensidade da banda atribuída ao carboxilato diminui, e a banda referente ao C=O de amida é intensificado em 1721 cm^{-1} e a banda próxima a 1648 cm^{-1} referente à banda N-H também aumenta. Porém, nesta faixa de absorção, as bandas podem se sobrepor, dificultando a associação dos picos obtidos da oxidação com a da modificação da celulose.

Na Tabela 2, encontra-se um resumo das bandas de absorção com seus respectivos número de onda padrão.

Tabela 2. Grupo funcional e número de onda correspondente [29,105].

Grupo Funcional	Número de onda(cm^{-1})
O-H deformação axial	3338
C-H deformação axial	2900
C=O deformação axial	1721
C=O amida primaria	1690
N-H deformação angular	1650-1580
(COO-) deformação axial	1603
C-N deformação axial	1531
C-O (ácido carboxílico)	1420, 1300
(C-O-C) deformação axial	1050

A Figura 36 apresenta os espectros de FTIR das amostras correspondentes à fibra da polpa de celulose rauma, a fibra oxidada *via* TEMPO e a ToNFC-rau enxertada com o reagente furânico.

Figura 36. Espectro de FTIR comparativo da fibra (rauma), ToNFC-rau e ToNFC-rau – furfurilamina.

Foi observado o mesmo comportamento das bandas para ambas as fibras, porém com intensidades distintas. Isso pode ter ocorrido devido a desfibrilação das diferentes fibras, deixando os grupamentos das superfícies mais expostos. Quando a celulose nanofibrilada oxidada por TEMPO (ToNFC-rau) foi modificada com furfurilamina, a banda a 1603 cm^{-1} diminuiu e uma banda relacionada ao estiramento da amida $\text{C} = \text{O}$ apareceu a 1721 cm^{-1} . Além disso, a banda a 1648 cm^{-1} correspondendo ao estiramento de N-H aumentou, embora a banda se sobreponha à banda de carboxilato residual, tornando esta avaliação menos explícita. Além disso, a faixa típica de anel furânico em torno de 1000 cm^{-1} foi completamente mascarada pela forte banda de éter de celulose. Portanto, foi necessário confirmar a ocorrência de oxidação e enxertia por titulações condutimétricas dos grupos carboxílicos nos vários estágios do processo. O cálculo do grau de oxidação e da quantidade de grupos carboxílicos na superfície da fibra e da nanofibra foi obtido pela titulação condutimétrica.

Para as amostras de fibra puras, tanto a refinada quanto a rauma, foram mantidas em 2 % em massa e tituladas com NaOH 0,1 M. As curvas de titulação obtidas demonstram a presença inicial do ácido forte em excesso, posteriormente do ácido fraco, correspondente a quantidade de grupos carboxílicos presente na amostra determinados pelos valores V_1 e V_2 , e após V_2 a presença da base forte titulada, demonstradas nas Figura 37-a e b.

Figura 37. Curvas de titulação condutimétrica de amostras: (a) polpa refinada e (b) polpa rauma.

A quantidade de grupamentos carboxilatos para a polpa refinada e rauma foram 0,543 e 0,685 mmol/g, respectivamente. A diferença na quantidade de

grupamentos carboxílicos pode ser devido aos constituintes da celulose, como ácidos carboxílicos presentes nas hemiceluloses e pelo método de obtenção das fibras *never-dry*.

Após a reação de oxidação das fibras *via* reagente TEMPO, a quantidade de grupamentos carboxílicos aumentou em 1,9 mmol/g (249,9 %) e 1,7 mmol/g (148,8 %), para a fibra refinada e rauma, respectivamente, demonstrada na Figura 38-a e b. A diferença da quantidade de grupos oxidados pode ser devido ao processo de obtenção das fibras, já que o refinamento da polpa deixa as fibras mais desfibriladas, sendo mais acessíveis à reação de oxidação.

Figura 38. Curvas de titulação condutimétrica de amostras de NFC oxidada *via* TEMPO: (a) ToNFC - ref e (b) ToNFC - rau.

Para a formação do hidrogel foi necessário a inserção de um furano na superfície da NFC. Mediante a isso a reação de enxertia da furfurilamina sobre a superfície da celulose foi realizada através da reação de acoplamento com carbodiimina (EDC e NHS), como resumidamente representada na Figura 14.

Após a amidação das ToNFC com furfurilamina, observou-se nas curvas de titulação condutimétrica, representadas nas Figura 39-a e b uma considerável diminuição do número de grupamentos carboxílicos nas amostras. O que era esperado, já que houve a modificação do grupamento carboxílico por uma amida. A amostra referente ao ToNFC-ref-furfurilamina apresentou uma quantidade de grupos carboxílicos restantes de 0,246 mmol/g, ou seja, um rendimento de 87,0% de graftização. Para a amostra de ToNFC-rau-furfurilamina, a quantidade de grupos carboxílicos que não reagiu foi de 0,214 mmol/g, o que revela um rendimento de graftização de 87,4%.

Figura 39. Curvas de titulação condutimétrica de amostras de ToNFC graftizada com furfurilamina: (a) ToNFC-ref-furfurilamina (b) ToNFC-rau-furfurilamina.

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para o grau de oxidação e quantidade de grupos carboxílicos para todas as amostras, além da porcentagem de oxidação e da porcentagem de graftização (referente aos grupamentos carboxílicos das ToNFC), para as amostras de fibra refinada e fibra rauma.

Tabela 3. Grupos carboxílicos reativos e respectivas porcentagens de reação, para dois tipos de fibras.

	Grau de Oxidação (DO)	Grupos Carboxílicos (mmol/g)	Porcentagem de oxidação (%)	Porcentagem de graftização (%)
Fibra-Refinada	0,088	0,543		
ToNFC-ref	0,334	1,9	73,6	
ToNFC-ref-Furfurilamina	0,04	0,246		87,0
Fibra-Rauma	0,114	0,685		
ToNFC-rau	0,30	1,7	62,0	
ToNFC-rau-Furfurilamina	0,035	0,214		87,4

A quantidade de grupos carboxílicos e a porcentagem de enxertia das amostras revelam que a reação de oxidação *via* TEMPO e o processo de enxertia dos grupamentos carboxílicos da celulose obtiveram um alto rendimento.

6.2.2 **Síntese do agente de reticulação (bismaleimida)**

Nesse estudo, a NFC oxidada *via* TEMPO modificada com furfurilamina foi reticulada na presença de uma bismaleimida, através da reação de Diels-Alder, sendo a bismaleimida agindo como dienófilo difuncional como agente de ligação cruzada, para isso, a bismaleimida foi inicialmente sintetizada.

A primeira etapa constituiu na reação do ETHPA com o TTDDA em uma solução de metanol seco, a 65°C (Figura 15). O mecanismo da reação ocorre inicialmente com um ataque nucleofílico do grupo amino à carbonila do anidrido (anel imídico). O carbono da dupla ligação tem um alto caráter eletrofílico, facilitando a entrada do nucleófilo formando a imida.

Pelos espectros de ¹H-RMN dos reagentes TTDDA e ETHPA observam-se picos característicos de cada molécula. Em ambos os casos, o solvente utilizado foi a acetona deuterada d-6, com deslocamento padrão em 2,05 ppm, caracterizado por um multiplete (5 picos), conforme apresentado na Figura 40.

Figura 40. ¹H RMN dos reagentes TTDDA e ETHPA

Para o reagente TTDDA, o deslocamento do pico em 2,06 ppm é característico do sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio, porém ocorre uma sobreposição parcial do pico com o solvente deuterado. Para o precursor ETHPA, os deslocamentos para maiores valores são mais característicos, referentes ao hidrogênio dos carbonos hibridizados sp. Observa-se, também, um pico (singlete)

intenso de água residual em 2,8 ppm. O produto obtido possui características de óleo, e solúvel tanto em água quanto em tolueno, não sendo possível a cristalização do material.

Na segunda etapa foi necessária uma troca de solvente do produto resultante, de metanol seco para água. O metanol foi retirado por rotaevaporação e liofilização. O produto obtido solubilizado em solução aquosa foi aquecido a 95°C para a retirada do grupamento furânico, *via* reação de retro Diels-Alder, obtendo uma bismaleimida.

O produto obtido na reação de r-DA não cristalizou, apresentando uma boa solubilidade em água. Quando rotaevaporado e liofilizado o produto apresentou-se na forma de um óleo, não sendo possível a purificação do material por cristalização.

O espectro de ^1H -RMN do produto da reação do aduto e a diamina (Figura 41) confirmou a reação esperada. O solvente utilizado foi clorofórmio deuterado, com deslocamento padrão em 7,27 ppm, caracterizado por um singlete. Observa-se que o deslocamento referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio em 2,06 ppm desaparece, decorrente da formação de um grupo amida.

Figura 41. ^1H RMN da reação DA

Pelo espectro de ^1H -RMN, observa-se que pode haver impurezas e assimetria na molécula (considerando o plano simétrico da molécula: cis-trans, cis-cis ou trans-trans) pela multiplicidade e maior quantidade de picos, como por exemplo, os reagentes precursores da reação. Por esse motivo, também, não é possível a normalização da integral dos picos

Após a reação de r-DA foi observada a diminuição da intensidade dos picos referentes ao grupamento furânico, em deslocamentos em 5,24 e 2,90 ppm (Figura 42), demonstrando que parte do produto da r-DA foi obtido.

Figura 42. ^1H RMN da reação de r-DA

Porém, observa-se que o segundo produto (r-DA) também apresentou impurezas, parte referente aos reagentes e parte do primeiro produto (que pode ter não ocorrido a r-DA ou ocorrido uma volta da parte furânica ao dieno, retornando ao primeiro produto), sendo observado pelos picos referente ao grupo furânico nos

deslocamentos em 5,24 e 2,90 ppm e pela maior multiplicidade dos picos apresentados.

O espectro de ^{13}C -RMN da reação de r-DA (Figura 43) confirmou a saída de grande parte dos grupos furânicos. Os deslocamentos referentes aos carbonos 1, 2, 29 e 30 em 5,24 ppm e dos carbonos 3, 4, 31 e 32 em 2,85 ppm apresentados no espectro do ETHPA sofreram uma diminuição da intensidade após a reação de r-DA.

Figura 43. ^{13}C RMN reação r-DA

Pelo espectro de ^{13}C -RMN, observa-se que houve r-DA, porém resquícios do produto de partida e/ou reagente furânico foram detectados junto ao produto final.

As amostras foram analisadas também por RMN Dept135 em clorofórmio deuterado. O pulso é emitido a 135° e produz um espectro de carbono com metil (CH_3) e metino (CH) com sinais para cima e espectro de carbonos metileno (CH_2) para baixo.

O espectro do produto da reação do aduto e a diamina (Figura 44) confirmou a reação esperada. O pico referente aos carbonos 1, 2, 29 e 30 no deslocamento 47,01 ppm e os picos referente ao carbono 3, 4, 31 e 32 no deslocamento 80,51 ppm, foram observados com sinal para cima.

Figura 44. ^{13}C RMN DEPT135 reação DA

O pico em 49,75 ppm é atribuído ao metanol, que foi utilizado como solvente na reação de Diels Alder, considerando-o uma impureza. Após a r-DA

observa-se dois sinais (Figura 45), em 47,51 e 80,90 ppm, referente ao reagente anterior, revelando que não houve uma r-DA completa, havendo uma impureza no novo produto.

Figura 45. ^{13}RMN DEPT135 reação r-DA

6.2.3 Síntese do hidrogel termo reversível

Em uma suspensão aquosa de celulose modificada (ToNFC-furfurilamina) foi adicionada a solução de bismaleimida sob agitação a 60 °C, em atmosfera de nitrogênio, como demonstrado na Figura 46-a. A viscosidade da mistura aumentou progressivamente, deixando de fluir e assumindo caráter de gel, sugerindo que foram formadas pontes entre as nanofibras devido a formação de ligações furano-maleimida *via* reação de Diels-Alder, esquematizada na Figura 46-b. A reação de

reticulação terminou em 30 minutos, aproximadamente, quando foi atingido o tempo de gelificação.

A reação de reversão (desreticulação) ocorreu por meio do aquecimento do sistema a 95 °C, com a viscosidade média diminuindo progressivamente para formar um líquido, caracterizando a r-DA, mostrada na Figura 46-c.

Figura 46. Ilustração pictórica do ciclo DA/r-DA. (a) solução inicial, (b) após *crosslinking* por DA, (c) após r-DA e (d) após novo *crosslinking* DA.

Para se verificar a reprodutibilidade da reação DA/r-DA, a mistura foi resfriada à 60°C por 30 minutos, ocorrendo novo acoplamento furano/maleimida *via* reação DA, demonstrado na Figura 46-d. Nesta etapa ocorreu novamente o aumento da viscosidade do sistema, sugerindo novamente a obtenção de um gel. O ciclo de aquecimento e resfriamento foi repetido por mais três vezes.

A eficiência das reações DA e r-DA pôde ser confirmada pelo comportamento térmico dos hidrogéis de celulose. As curvas de DSC presentes na Figura 47 apresentaram um pico exotérmico em aproximadamente 56 °C,

correspondendo à energia liberada durante a formação do aduto entre furano e maleimida, formando o hidrogel. O sistema foi aquecido até 90°C e mantido por 20 minutos. Durante o processo de resfriamento, apresentou um pico endotérmico em torno de 87 °C, associado à ocorrência da reação de r-DA, havendo a cisão das ligações entre o aduto do furano e maleimida. Os ciclos térmicos sucessivos são mostrados na Figura 47, comprovando a reprodutibilidade do ciclo DA / rDA, isto é, a reversibilidade térmica do hidrogel.

Figura 47. Comportamento térmico das reações de DA e r-DA

O ligeiro deslocamento dos picos endotérmico e exotérmico, assim como a variação da capacidade calorífica, podem ser atribuídos à curta duração dos experimentos, que não permitiu uma reticulação completa no acoplamento DA, nem a conclusão das reações de rDA por completo.

O comportamento reológico do hidrogel termicamente reversível foi avaliado a uma frequência constante de 0,1 Hz, para entender a variação da viscosidade em relação ao tempo e temperatura. Inicialmente o sistema foi mantido por 30 minutos a 60 °C em uma estufa a fim de aumentar o rendimento da reação DA

e depois ensaiado à temperatura ambiente, como demonstrado na Figura 48. O valor da viscosidade do hidrogel foi de 84.200 ± 4.400 cP.

Figura 48. Comportamento reológico dos hidrogéis durante a reação de DA.

O sistema foi aquecido a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ em uma estufa por 30 minutos e posteriormente inserido no equipamento. Como a temperatura do equipamento estava em aproximadamente 20°C a velocidade de resfriamento do gel de celulose foi consideravelmente rápida, observando a diminuição na viscosidade da amostra, ocorrendo a reação de r-DA (Figura 49).

Figura 49. Comportamento reológico dos hidrogéis durante a reação de r-DA.

O “Ponto 1” na Figura 49, demonstra a reação máxima de des-reticulação, quando o valor da viscosidade era o mais baixo, de aproximadamente 380 cP. Então, à medida que a temperatura do hidrogel diminuía, a viscosidade média aumentava progressivamente, terminando no “ponto 2”, à temperatura ambiente, quase atingindo o valor da viscosidade inicial do hidrogel. Estes resultados confirmaram que o *click chemistry* da reação de Diels-Alder foi bastante eficiente na promoção da formação de hidrogéis termicamente reversíveis.

7. CONCLUSÕES

A modificação das fibras de celulose foi investigada por duas vias: a modificação física pela técnica de automontagem e a modificação química, pela oxidação via TEMPO da nanofibra de celulose, em ambos os casos, as modificações ocorreram em meio aquoso.

Para as modificações físicas foram utilizados os polieletrólitos CH/CMC para diversos substratos. Pela microscopia eletrônica de varredura foi possível obter a topografia e as espessuras do revestimento nos substratos vidro e celofane e correlaciona-las com o número de bicamadas de CH/CMC depositados, sendo na mesma ordem de grandeza, aproximadamente 50 nm por camada. Porém para a fibra celulósica, a técnica não se demonstrou efetiva. A microscopia confocal (CLSM) por dois fótons se mostrou uma alternativa eficiente para identificar a deposição das camadas na fibra sem o uso de cromóforos. O revestimento foi observado tanto na superfície externa, quanto no interior da fibra, pela difusão dos polieletrólitos pelos poros e espessura média de 50 nm, demonstrando que o crescimento revestido independe do substrato. A resistência a tração da fibra revestida aumentou em aproximadamente duas vezes, demonstrando uma ótima interação entre os polieletrólitos e a fibra.

Com o objetivo de se ampliar a aplicação da nanofibra de celulose, se faz necessário obter rotas alternativas de modificação sem perder suas propriedades. Foi demonstrado que a modificação a superfície da nanofibra de celulose pode ser obtida em meio aquoso.

A modificação química da celulose com a oxidação via TEMPO e enxertia de um grupo furânico em meio aquoso, foi acompanhada por FTIR e titulação condutimétrica. A formação da bismaleimida foi confirmada por RMN de hidrogênio e carbono e posteriormente utilizado como reagente reticulante para a obtenção de um gel termoreversível.

O estudo mostrou que o sistema de termoreversibilidade foi bem-sucedido, sendo avaliado por ciclos de aquecimento no DSC, apresentando um hidrogel a 60°C, com viscosidade na ordem de 84000 cP como um resultado da reticulação via reação de Diels-Alder e o *decrosslinkg* a 90°C como resultado da r-DA.

8. REFERÊNCIAS

- [1] KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H.-P.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 30 maio 2005.
- [2] RAGAUSKAS, A. J. The Path Forward for Biofuels and Biomaterials. **Science**, v. 311, n. 5760, p. 484–489, 27 jan. 2006.
- [3] GANDINI, A.; BELGACEM, M. N. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. [s.l.] Elsevier, 2008. v. 36
- [4] FINK, H.-P.; WEIGEL, P.; PURZ, H. .; GANSTER, J. Structure formation of regenerated cellulose materials from NMMO-solutions. **Progress in Polymer Science**, v. 26, n. 9, p. 1473–1524, nov. 2001.
- [5] SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. **Cellulose**, v. 17, n. 3, p. 459–494, 21 jun. 2010.
- [6] FARUK, O.; BLEDZKI, A. K.; FINK, H. P.; SAIN, M. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000-2010. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 11, p. 1552–1596, 2012.
- [7] FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood—chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin and New York: Walter de Gruyter, 1984.
- [8] CHAUHAN, V. S.; CHAKRABARTI, S. K. Use of Nanotechnology for High Performance Cellulosic and Papermaking Products. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 46, n. 5–6, p. 389–400, 2012.
- [9] GANDINI, A. The irruption of polymers from renewable resources on the scene of macromolecular science and technology. **Green Chemistry**, v. 13, n. 5, p. 1061, 2011.
- [10] GONZÁLEZ, I.; BOUFI, S.; PÊLACH, M. A.; ALCALÀ, M.; VILASECA, F.; MUTJÉ, P. NANOFIBRILLATED CELLULOSE AS PAPER ADDITIVE IN EUCALYPTUS PULPS. **BioResources**, v. 7, n. 4, p. 5167–5180, 6 set. 2012.
- [11] EICHHORN, S. J. et al. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 45, n. 1, p. 1–33, 1 jan. 2010.
- [12] CARVALHO, A. J. F. Nanocelluloses from Eucalyptus Wood Pulp. **Journal of Renewable Materials**, v. 2, n. 2, p. 118–122, 1 maio 2014.
- [13] NECHYPORCHUK, O.; BELGACEM, M. N.; BRAS, J. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 2–25, dez. 2016.
- [14] MISSOUM, K.; BELGACEM, M.; BRAS, J. Nanofibrillated Cellulose Surface Modification: A Review. **Materials**, v. 6, n. 5, p. 1745–1766, 3 maio 2013.
- [15] SAITO, T.; KIMURA, S.; NISHIYAMA, Y.; ISOGAI, A. Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 8, p. 2485–2491, 2007.
- [16] WÄGBERG, L.; DECHER, G.; NORGREN, M.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; AXNÄS, K. The Build-Up of Polyelectrolyte Multilayers of Microfibrillated Cellulose and Cationic Polyelectrolytes. **Langmuir**, v. 24, n. 3, p. 784–795, fev. 2008.
- [17] 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, n. 24, p. 5438–5466, 2011.

[18] ZHAO, Y.; LI, J. Excellent chemical and material cellulose from tunicates: diversity in cellulose production yield and chemical and morphological structures from different tunicate species. **Cellulose**, v. 21, n. 5, p. 3427–3441, 5 out. 2014.

[19] FRENOT, A.; HENRIKSSON, M. W.; WALKENSTRÖM, P. Electrospinning of cellulose-based nanofibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, n. 3, p. 1473–1482, 5 fev. 2007.

[20] LIM, Y.-M.; GWON, H.-J.; PYO, J.; NHO, Y.-C. Preparation of Cellulose-based Nanofibers Using Electrospinning. **Nanofibers**, n. February, 2012.

[21] ISOGAI, A.; SAITO, T.; FUKUZUMI, H. TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. **Nanoscale**, v. 3, n. 1, p. 71–85, 2011.

[22] ALCALÁ, M.; GONZÁLEZ, I.; BOUFI, S.; VILASECA, F.; MUTJÉ, P. All-cellulose composites from unbleached hardwood kraft pulp reinforced with nanofibrillated cellulose. **Cellulose**, v. 20, n. 6, p. 2909–2921, 2013.

[23] KALIA, S.; BOUFI, S.; CELLI, A.; KANGO, S. Nanofibrillated cellulose: surface modification and potential applications. **Colloid and Polymer Science**, v. 292, n. 1, p. 5–31, 21 jan. 2014.

[24] MATHEWS, J.; GUSTAFSON, R.; HODGSON, K. A method to determine the charge demand of single pulp fibers. **Nordic Pulp & Paper Research Journal**, v. 19, n. 4, p. 453–459, 1 dez. 2004.

[25] GANDINI, A.; BELGACEM, M. N. The Surface and In-Depth Modification of Cellulose Fibers. In: **Advances in Polymer Science**. [s.l: s.n.]. v. 54p. 169–206.

[26] AULIN, C.; JOHANSSON, E.; WÅGBERG, L.; LINDSTRÖM, T. Self-Organized Films from Cellulose I Nanofibrils Using the Layer-by-Layer Technique. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 4, p. 872–882, 12 abr. 2010.

[27] OLSZEWSKA, A.; ERONEN, P.; JOHANSSON, L.-S.; MALHO, J.-M.; ANKERFORS, M.; LINDSTRÖM, T.; RUOKOLAINEN, J.; LAINE, J.; ÖSTERBERG, M. The behaviour of cationic NanoFibrillar Cellulose in aqueous media. **Cellulose**, v. 18, n. 5, p. 1213–1226, 16 out. 2011.

[28] KURAMAE, R.; SAITO, T.; ISOGAI, A. TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils prepared from various plant holocelluloses. **Reactive and Functional Polymers**, v. 85, p. 126–133, dez. 2014.

[29] DA SILVA PEREZ, D.; MONTANARI, S.; VIGNON, M. R. TEMPO-Mediated Oxidation of Cellulose III. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 5, p. 1417–1425, set. 2003.

[30] FUKUZUMI, H.; SAITO, T.; ISOGAI, A. Influence of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril length on film properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, n. 1, p. 172–177, mar. 2013.

[31] SAITO, T.; ISOGAI, A. Introduction of aldehyde groups on surfaces of native cellulose fibers by TEMPO-mediated oxidation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 289, n. 1–3, p. 219–225, out. 2006.

[32] SOUZA, M. V. N. DE. Utilização do TEMPO (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina) na oxidação de álcoois primários e secundários. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 287–292, abr. 2004.

[33] LAUFER, G.; KIRKLAND, C.; MORGAN, A. B.; GRUNLAN, J. C. Intumescent multilayer nanocoating, made with renewable polyelectrolytes, for flame-retardant cotton.

Biomacromolecules, v. 13, n. 9, p. 2843–2848, 2012.

[34] HABIBI, Y. Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 5, p. 1519–1542, 2014.

[35] RICHARDSON, J. J.; CUI, J.; BJÖRNMALM, M.; BRAUNGER, J. A.; EJIMA, H.; CARUSO, F. Innovation in Layer-by-Layer Assembly. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 23, p. 14828–14867, 14 dez. 2016.

[36] ARIGA, K.; YAMAUCHI, Y.; RYDZEK, G.; JI, Q.; YONAMINE, Y.; WU, K. C.-W.; HILL, J. P. Layer-by-layer Nanoarchitectonics: Invention, Innovation, and Evolution. **Chemistry Letters**, v. 43, n. 1, p. 36–68, 5 jan. 2014.

[37] LU, Z.; EADULA, S.; ZHENG, Z.; XU, K.; GROZDITS, G.; LVOV, Y. Layer-by-layer nanoparticle coatings on lignocellulose wood microfibers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 292, n. 1, p. 56–62, 2007.

[38] DECHER, G.; HONG, J. D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. **Thin Solid Films**, v. 210–211, n. PART 2, p. 831–835, abr. 1992.

[39] RAPOSO, M.; OLIVEIRA JR, O. N. Adsorption mechanisms in layer-by-layer films. **Brazilian Journal of Physics**, v. 28, n. 4, p. 00–00, dez. 1998.

[40] LI, H.; FU, S.; PENG, L.; ZHAN, H. Surface modification of cellulose fibers with layer-by-layer self-assembly of lignosulfonate and polyelectrolyte: effects on fibers wetting properties and paper strength. **Cellulose**, v. 19, n. 2, p. 533–546, 3 abr. 2012.

[41] PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA JR., O. N. DE. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 228–235, abr. 2001.

[42] LI, H.; CUI, R.; PENG, L.; CAI, S.; LI, P.; LAN, T. Preparation of Antibacterial Cellulose Paper Using Layer-by-Layer Assembly for Cooked Beef Preservation at Ambient Temperature. **Polymers**, v. 10, n. 1, p. 15, 23 dez. 2017.

[43] ZHENG, Z.; MCDONALD, J.; KHILLAN, R.; SU, Y.; SHUTAVA, T.; GROZDITS, G.; LVOV, Y. M. Layer-by-layer nanocoating of lignocellulose fibers for enhanced paper properties. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 6, n. 3, p. 624–632, 2006.

[44] KIM, B. S.; PARK, S. W.; HAMMOND, P. T. Hydrogen-bonding layer-by-layer-assembled biodegradable polymeric micelles as drug delivery vehicles from surfaces. **ACS Nano**, v. 2, n. 2, p. 386–392, 2008.

[45] WU, T.; FARNOOD, R. Cellulose fibre networks reinforced with carboxymethyl cellulose/chitosan complex layer-by-layer. **Carbohydrate Polymers**, v. 114, p. 500–505, dez. 2014.

[46] XING, Q.; EADULA, S. R.; LVOV, Y. M. Cellulose fiber-enzyme composites fabricated through layer-by-layer nanoassembly. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 6, p. 1987–1991, 2007.

[47] MEKA, V. S.; SING, M. K. G.; PICHKA, M. R.; NALI, S. R.; KOLAPALLI, V. R. M.; KESHARWANI, P. A comprehensive review on polyelectrolyte complexes. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 11, p. 1697–1706, nov. 2017.

[48] CARASCHI, JO. C.; FILHO, S. P. C. Influência do Grau de Substituição e da Distribuição de Substituintes Sobre as Propriedades de Equilíbrio de Carboximetilcelulose em Solução Aquosa. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 9, n. 2, p. 1–8, 1999.

[49] FUJIMOTO, J.; REIS, E. A. DE O.; PETRI, D. F. S.; CAMPANA FILHO, S. P.

Formação de multicamadas de polissacarídeos e proteína. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 757–761, set. 2002.

[50] ROSCA, C.; POPA, M. I.; LISA, G.; CHITANU, G. C. Interaction of chitosan with natural or synthetic anionic polyelectrolytes. 1. The chitosan–carboxymethylcellulose complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, n. 1, p. 35–41, out. 2005.

[51] ORELMA, H.; FILPPONEN, I.; JOHANSSON, L.-S.; LAINE, J.; ROJAS, O. J. Modification of Cellulose Films by Adsorption of CMC and Chitosan for Controlled Attachment of Biomolecules. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 12, p. 4311–4318, 12 dez. 2011.

[52] KONG, M.; CHEN, X. G.; XING, K.; PARK, H. J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 1, p. 51–63, 2010.

[53] BIGUCCI, F.; ABRUZZO, A.; VITALI, B.; SALADINI, B.; CERCHIARA, T.; GALLUCCI, M. C.; LUPPI, B. Vaginal inserts based on chitosan and carboxymethylcellulose complexes for local delivery of chlorhexidine: Preparation, characterization and antimicrobial activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 478, n. 2, p. 456–463, jan. 2015.

[54] CERCHIARA, T.; ABRUZZO, A.; PAROLIN, C.; VITALI, B.; BIGUCCI, F.; GALLUCCI, M. C.; NICOLETTA, F. P.; LUPPI, B. Microparticles based on chitosan/carboxymethylcellulose polyelectrolyte complexes for colon delivery of vancomycin. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, p. 124–130, 2016.

[55] RADEVA, T.; KAMBUROVA, K.; PETKANICHIN, I. Formation of polyelectrolyte multilayers from polysaccharides at low ionic strength. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 298, n. 1, p. 59–65, jun. 2006.

[56] LI, H.; FU, S.; PENG, L. Surface modification of cellulose fibers by layer-by-layer self-assembly of lignosulfonates and TiO₂ nanoparticles: Effect on photocatalytic abilities and paper properties. **Fibers and Polymers**, v. 14, n. 11, p. 1794–1802, 6 nov. 2013.

[57] LI, H.; PENG, L. Antimicrobial and antioxidant surface modification of cellulose fibers using layer-by-layer deposition of chitosan and lignosulfonates. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, n. June, p. 35–42, jun. 2015.

[58] CHEN, X.; MAO, S. S. **Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications and applications** *Chemical Reviews*, 2007.

[59] GALKINA, O. L.; SYCHEVA, A.; BLAGODATSKIY, A.; KAPTAY, G.; KATANAEV, V. L.; SEISENBAEVA, G. A.; KESSLER, V. G.; AGAFONOV, A. V. The sol-gel synthesis of cotton/TiO₂ composites and their antibacterial properties. **Surface and Coatings Technology**, v. 253, p. 171–179, 2014.

[60] GALKINA, O. L.; IVANOV, V. K.; AGAFONOV, A. V.; SEISENBAEVA, G. A.; KESSLER, V. G. Cellulose nanofiber–titania nanocomposites as potential drug delivery systems for dermal applications. **J. Mater. Chem. B**, v. 3, n. 8, p. 1688–1698, 2015.

[61] BERANEK, R. (Photo)electrochemical Methods for the Determination of the Band Edge Positions of TiO₂-Based Nanomaterials. **Advances in Physical Chemistry**, v. 2011, n. August, p. 1–20, 9 fev. 2011.

[62] MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 7, p. 3941, 2011.

[63] HENRIKSSON, M.; BERGLUND, L. A.; ISAKSSON, P.; LINDSTRÖM, T.; NISHINO, T. Cellulose Nanopaper Structures of High Toughness. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 6, p.

1579–1585, jun. 2008.

[64] ROL, F.; BELGACEM, M. N.; GANDINI, A.; BRAS, J. Recent advances in surface-modified cellulose nanofibrils. **Progress in Polymer Science**, v. 88, p. 241–264, jan. 2019.

[65] IWAMOTO, S.; ABE, K.; YANO, H. The Effect of Hemicelluloses on Wood Pulp Nanofibrillation and Nanofiber Network Characteristics. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 3, p. 1022–1026, mar. 2008.

[66] NAKAGAITO, A. N.; NOGI, M.; YANO, H. Displays from Transparent Films of Natural Nanofibers. **MRS Bulletin**, v. 35, n. 03, p. 214–218, 31 mar. 2010.

[67] ZHANG, Y.; NYPELÖ, T.; SALAS, C.; ARBOLEDA, J.; HOEGER, I. C.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanofibrils. **Journal of Renewable Materials**, v. 1, n. 3, p. 195–211, 1 jul. 2013.

[68] HULT, E.-L.; LARSSON, P. T.; IVERSEN, T. Cellulose fibril aggregation — an inherent property of kraft pulps. **Polymer**, v. 42, n. 8, p. 3309–3314, abr. 2001.

[69] CZAJA, W. K.; YOUNG, D. J.; KAWECKI, M.; BROWN, R. M. The Future Prospects of Microbial Cellulose in Biomedical Applications. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 1, p. 1–12, jan. 2007.

[70] PÄÄKKÖ, M.; VAPAAVUORI, J.; SILVENNOINEN, R.; KOSONEN, H.; ANKERFORS, M.; LINDSTRÖM, T.; BERGLUND, L. A.; IKKALA, O. Long and entangled native cellulose i nanofibers allow flexible aerogels and hierarchically porous templates for functionalities. **Soft Matter**, v. 4, n. 12, p. 2492–2499, 2008.

[71] ÖSTERBERG, M.; VARTIAINEN, J.; LUCENIUS, J.; HIPPI, U.; SEPPÄLÄ, J.; SERIMAA, R.; LAINE, J. A fast method to produce strong NFC films as a platform for barrier and functional materials. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 5, n. 11, p. 4640–4647, 2013.

[72] ASPLER, J.; BOUCHARD, J.; HAMAD, W.; BERRY, R.; BECK, S.; DROLET, F.; ZOU, X. Review of Nanocellulosic Products and Their Applications. **Biopolymer Nanocomposites**, p. 461–508, 2013.

[73] LAUKKANEN, A.; TEIRFOLK, J.; SALMELA, J.; LILLE, M. **AGENT AND COMPOSITION FOR OILFIELD APPLICATIONS**, 2011.

[74] GANDINI, A.; CARVALHO, A. J. F.; TROVATTI, E.; KRAMER, R. K.; LACERDA, T. M. Macromolecular materials based on the application of the Diels-Alder reaction to natural polymers and plant oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, n. 1, p. 1700091, jan. 2018.

[75] GANDINI, A. The furan/maleimide Diels–Alder reaction: A versatile click–unclick tool in macromolecular synthesis. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 1, p. 1–29, jan. 2013.

[76] CANADELL, J.; FISCHER, H.; DE WITH, G.; VAN BENTHEM, R. A. T. M. Stereoisomeric effects in thermo-remendable polymer networks based on diels-alder crosslink reactions. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 48, n. 15, p. 3456–3467, 2010.

[77] RIDEOUT, D. C.; BRESLOW, R. Hydrophobic acceleration of Diels-Alder reactions. **Journal of the American Chemical Society**, Biotechnology in Agriculture and Forestry. v. 102, n. 26, p. 7816–7817, dez. 1980.

[78] WEI, H.-L.; YANG, Z.; ZHENG, L.-M.; SHEN, Y.-M. Thermosensitive hydrogels synthesized by fast Diels–Alder reaction in water. **Polymer**, v. 50, n. 13, p. 2836–2840, jun. 2009.

[79] WEI, H.-L.; YANG, Z.; CHEN, Y.; CHU, H.-J.; ZHU, J.; LI, Z.-C. Characterisation of N-vinyl-2-pyrrolidone-based hydrogels prepared by a Diels–Alder click reaction in water. **European Polymer Journal**, v. 46, n. 5, p. 1032–1039, maio 2010.

[80] GUARESTI, O.; GARCIA-ASTRAIN, C.; URBINA, L.; ECEIZA, A.; GABILONDO, N. Reversible swelling behaviour of Diels–Alder clicked chitosan hydrogels in response to pH changes. **Express Polymer Letters**, v. 13, n. 1, p. 27–36, 2019.

[81] PATEL, A.; MEQUANINT, K. Syntheses and characterization of physically crosslinked hydrogels from dithiocarbamate-derived polyurethane macroiniferter. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 46, n. 18, p. 6272–6284, 15 set. 2008.

[82] TANAKA, Y.; GONG, J. P.; OSADA, Y. Novel hydrogels with excellent mechanical performance. **Progress in Polymer Science**, v. 30, n. 1, p. 1–9, jan. 2005.

[83] MONTIEL-HERRERA, M.; GANDINI, A.; GOYCOOLEA, F. M.; JACOBSEN, N. E.; LIZARDI-MENDOZA, J.; RECILLAS-MOTA, M. T.; ARGÜELLES-MONAL, W. M. Furan–chitosan hydrogels based on click chemistry. **Iranian Polymer Journal**, v. 24, n. 5, p. 349–357, 25 maio 2015.

[84] OSSIPOV, D. A.; HILBORN, J. Poly(vinyl alcohol)-Based Hydrogels Formed by “Click Chemistry”. **Macromolecules**, v. 39, n. 5, p. 1709–1718, mar. 2006.

[85] DERIVATIVES, P. P.; PUIGGAL, J. Hydrogels for Biomedical Applications: Cellulose, Chitosan, and Protein/Peptide Derivatives. **Gels**, v. 3, n. 3, p. 27, 17 jul. 2017.

[86] XU, X.; CHEN, C.; WANG, Z.; WANG, G.; CHENG, S.; ZHANG, X.; ZHUO, R. “Click” chemistry for in situ formation of thermoresponsive P(NIPAAm- co -HEMA)-based hydrogels. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 46, n. 15, p. 5263–5277, 1 ago. 2008.

[87] KOSCHELLA, A.; HARTLIEB, M.; HEINZE, T. A “click-chemistry” approach to cellulose-based hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 1, p. 154–161, ago. 2011.

[88] SHAO, C.; WANG, M.; CHANG, H.; XU, F.; YANG, J. A Self-Healing Cellulose Nanocrystal-Poly(ethylene glycol) Nanocomposite Hydrogel via Diels-Alder Click Reaction. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 7, p. 6167–6174, 2017.

[89] GARCÍA-ASTRAIN, C.; GONZÁLEZ, K.; GURREA, T.; GUARESTI, O.; ALGAR, I.; ECEIZA, A.; GABILONDO, N. Maleimide-grafted cellulose nanocrystals as cross-linkers for bionanocomposite hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, p. 94–101, set. 2016.

[90] VENANZI, D. C. **Filmes finos autoorganizados de polissacarídeos derivados de carboximetilcelulose, amido catiônico e quitosana: Fabricação dos filmes e incorporação de corantes iônicos.** São Carlos Universidade Federal de São Carlos, 2008.

[91] VENANZI, D. C.; PAVINATTO, F. J.; BALOGH, D. T.; OLIVEIRA JUNIOR, O. N.; CARVALHO, A. J. F. **Self-standing thin films of chitosan/carboxymethylcellulose complexes.** International Conference on Science and Technology of Synthetic Metals - ICSM. **Anais...** Porto de Galinhas: 2008

[92] JUNKA, K.; SUNDMAN, O.; SALMI, J.; ÖSTERBERG, M.; LAINE, J. Multilayers of cellulose derivatives and chitosan on nanofibrillated cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, n. 1, p. 34–40, 2014.

[93] SUNDMAN, O.; LAINE, J. Layer-by-Layer Adsorption of Two Cellulose-Based Polyelectrolytes on Cellulose Fibers. Dependence of pH and Ionic Strength on the Resulting Charge Density as Measured by Polyelectrolyte Titration. **BioResources**, v. 8, n. 4, p. 4827–4836, 1 ago. 2013.

[94] CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S. Effect of Sulfonation Level on Solubility and Viscosity Behavior of Low to Medium Charged Sulfonated Polystyrenes. **Macromolecules**, v. 36, n. 14, p. 5304–5310, jul. 2003.

[95] DA SILVA, F. **Estudo do processo de preparação de filmes híbridos de TiO₂ e polímeros fotovoltaicos para eletrônica orgânica.** 2013. 83 f. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO.

2013.

[96] DECHER, G. Layer-by-Layer Assembly (Putting Molecules to Work). **Multilayer Thin Films: Sequential Assembly of Nanocomposite Materials: Second Edition**, v. 1, p. 1–21, 2012.

[97] DENK, W.; STRICKLER, J.; WEBB, W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. **Science**, v. 248, n. 4951, p. 73–76, 6 abr. 1990.

[98] CORRÊA, D. S. **Absorção de multi-fótons em polímeros e resinas poliméricas: espectroscopia não linear e microfabricação**. 2009. 177 f. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. 2009.

[99] HERVY, M.; SANTMARTI, A.; LAHTINEN, P.; TAMMELIN, T.; LEE, K. Y. Sample geometry dependency on the measured tensile properties of cellulose nanopapers. **Materials and Design**, v. 121, p. 421–429, 2017.

[100] STAROS, J. V.; WRIGHT, R. W.; SWINGLE, D. M. Enhancement by N-hydroxysulfosuccinimide of water-soluble carbodiimide-mediated coupling reactions. **Analytical Biochemistry**, v. 156, n. 1, p. 220–222, jul. 1986.

[101] STANDARD, I. **Pulps - Determination of drainability -- Part 1: Schopper-Riegler method** International Organization for Standardization, , 1999.

[102] CASTELLAN, A.; RUGGIERO, R.; FROLLINI, E.; RAMOS, L. A.; CHIRAT, C. Studies on fluorescence of cellulose. **Holzforschung**, v. 61, n. 5, p. 504–508, 1 jan. 2007.

[103] TØMMERAAS, K.; STRAND, S. P.; TIAN, W.; KENNE, L.; VÅRUM, K. M. Preparation and characterisation of fluorescent chitosans using 9-anthraldehyde as fluorophore. **Carbohydrate Research**, v. 336, n. 4, p. 291–296, dez. 2001.

[104] HORVATH, A. T.; HORVATH, A. E.; LINDSTRÖM, T.; WÅGBERG, L. Diffusion of cationic polyelectrolytes into cellulosic fibers. **Langmuir**, v. 24, n. 19, p. 10797–10806, 2008.

[105] LIU, Y.; KIM, H.-J. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and Simple Algorithm Analysis for Rapid and Non-Destructive Assessment of Developmental Cotton Fibers. **Sensors**, v. 17, n. 7, p. 1469, 22 jun. 2017.