UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

LEANDRO SCHAFRANSKI BLACHECHEN

***Propriedades físico-químicas de sistemas
compostos por materiais celulósicos e aditivos
funcionais***

Versão corrigida da Tese defendida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

03/09/2014

LEANDRO SCHAFRANSKI BLACHECHEN

***Propriedades físico-químicas de sistemas compostos por
materiais celulósicos e aditivos funcionais***

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutor em Química*

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Denise Freitas Siqueira Petri

São Paulo

2014

FOLHA DE APROVAÇÃO

Leandro Schafranski Blachechen

Propriedades físico-químicas de sistemas compostos por materiais celulósicos e aditivos funcionais

Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutor em Química

Aprovado em: _____

Prof.(a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.(a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.(a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.(a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.(a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese em especial aos meus pais Ana e Pedro, e a todos professores e professoras que de alguma forma me ajudaram a pavimentar esse caminho...

EPÍGRAFE

*"Every time that I look in the mirror
All these lines in my face gettin' clearer
The past is gone
It went by like dusk to dawn
Isn't that the way?
Everybody's got their dues in life to pay
I know, nobody knows
Where it comes and where it goes
I know it's everybody's sin
You got to lose to know how to win
Half my life's in books' written pages
Lived and learned from fools and from sages
You know it's true
All the things
Come back to you
Sing with me
Sing for the year
Sing for the laughter n' sing for the tear
Sing with me
If it's just for today
Maybe tomorrow the good lord will take you away
Dream on
Dream yourself a dream comes true
Dream on
And dream until your dream comes true..."*

Aerosmith – Dream On

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a cada pessoa que em algum momento desta minha caminhada acrescentou algo na minha bagagem, acreditou em mim, me incentivou, apoiou, criticou, elogiou, sugeriu, consolou, tirou sarro, convidou para tomar um café e principalmente, riu e me fez rir...

À Prof.^a Dr.^a Denise F. S. Petri, minha excelentíssima orientadora a quem tudo devo. Por todos seus ensinamentos, sugestões, contribuições, ideias, preocupações, confiança e paciência por todos esses anos de convivência e bons frutos.

Aos meus pais Ana e Pedro que, além de terem me dado a vida, me acompanharam, incentivaram e nunca mediram esforços para me apoiar, de modo que eu pudesse chegar até onde cheguei.

À minha irmã Tatiana pela sua companhia (mesmo distante), conselhos, troca de ideias, amizade e aos merecidos “*nazdarovya*”.

“*Ei...*”, à minha namorada, amiga, mãe, companheira e amada Suzane, pelo seu carinho, compreensão, paciência, apoio, cumplicidade, estando ao meu lado nos momentos de felicidade assim como de dificuldade (*não tem gelato, não tem café, não tem nada, rs*). Agradeço também ao Sr. Messias e Dona Virgínia, pessoas excepcionais que são, pelo seu apoio e compreensão.

Aos meus amigos, brothers, “miguxos” e malas de longa data que juntamente com o seu apoio, me sarnearam, “elogiaram”, sacanearam e tudo o mais que verdadeiros amigos fazem, Aline Benatto, Célio Lipinki, Cleverton Dias, Cristiane Calisto, Cristina Grosskopf, Deise de Oliveira, Evandro Rozentaliski, George Sakae, Helena Augustiniaki, Leandro Huryn, Marcos Bechel, Suelem Martins, Tiago Adamczewski e Tiélidy de Lima.

Aos também amigos de laboratório que fizeram do ambiente de trabalho um lugar prazeroso, seja pelas brincadeiras como pela troca de conhecimentos, Anielle Martins, Daniel Zanchetta, Danielle Juais, Edla, Jaqueline Oliveira, Jorge Amim, Larissa

Hukui, Marcela Anunciação, Paulo Toledo, Pedro Marani, Robson Shimada, Rubens Araújo, Thomas Stauner, Thaís Ogeda, Vânia Bueno e em especial a Geórgia Delmilio pela sua solicitude e ajuda nos momentos necessários .

Aos camaradas Caio Albuquerque, Evandro Rozentalski, Filipe Dal'Bó, Gabriel Schühli e Pedro Queique pelas hospedagens e boas conversas até tarde da noite.

À equipe da Central Analítica que, sempre de bom humor estão dispostos a ajudar no que for preciso, Alessandra, Alfredo, Cristiane, Giovana, Luzia, Márcio, Michele e Rebeca.

A todos os funcionários do Instituto de Química e também da USP, que com suas funções tornaram possível o desenvolvimento dessa tese, em especial à Cibeles, Emiliano, Milton, Marcelo, Marlene, Nanci, Paulo, Silvinha e, claro, a Dona Maria e Myriam, por prepararem todos os dias o combustível necessário para a produção científica, café.

Aos professores Drs. Maria Rita Sierakowski (UFPR), Maria Regina Alcântara, Maria Cecília e Yoshio Kawano (USP) pelos sábios ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Pedro Fardim por ter me acolhido em seu laboratório e no seu grupo de trabalho na Finlândia. Também a toda sua equipe multicultural, Agneta, Beatriz, Carl, Elina, Goran, Holger, Hong, Jan, Jani, Jasmina, Joanna, Kostya, Liji, Olga e Poonam.

Ao Prof. Dr. Fabiano Vargas Pereira e sua equipe (UFMG), pelas amostras cedidas e colaboração científica.

Aos professores Drs Rosângela Itri e Prof. Dr. Leandro R. S. Barbosa, e suas equipes, pela colaboração científica.

À Eastman Chemical Co. (Brasil) pelas amostras de ésteres de celulose cedidas.

Aos órgãos de fomento CNPq, CAPES (Rede NANOBIOTEC e PROEx) e Ciência sem Fronteiras, pelo suporte financeiro, tornando possível minha dedicação exclusiva a este trabalho.

RESUMO

BLACHECHEN, L. S. **Propriedades físico-químicas de sistemas compostos por materiais celulósicos e aditivos funcionais**. 2014, 133p. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

O presente estudo demonstrou que a formação de cavidades (*breath figures*) em filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB preparados por *spin-coating* de soluções em tetrahidrofurano (THF) foi dependente das características moleculares dos polímeros quando preparados em ambiente com umidade relativa baixa (UR 35%), enquanto que em UR mais elevadas (55% e 75%) o balanço entre a energia superficial da água, THF e energia interfacial entre água e THF foi determinante. Por outro lado, a rápida exposição (de 3 a 6 min) desses filmes ao vapor de solvente teve um efeito plastificante tornando os filmes de CAB, CAPH e CMCAB completamente lisos, enquanto que para filmes de CA foi observado o efeito *dewetting*.

Surfactantes biocompatíveis à base de sorbitano (Tween®) foram usados como plastificantes para filmes de ésteres de celulose obtidos por evaporação de solvente. O comportamento térmico dos filmes foi dependente do tamanho da cauda hidrofóbica do surfactante, do tipo do grupo lateral dos polímeros e da composição da mistura. Tween 20 e 40 mostraram agir como um excelente plastificante para os ésteres de celulose, exceto para o CA, no qual foi imiscível. Teores baixos de Tween favoreceram a flexibilidade das cadeias de polímeros ao passo que quantidades maiores aumentaram a mobilidade molecular dos ésteres de celulose levando a variações de T_g de até 200 °C.

Filmes de nanocompósitos de CAB reforçados com nanocristais de celulose (CNC) modificados com diferentes grupos funcionais (acetato e metiladipoíla) foram preparados a partir de dispersões em acetato de etila (AE), THF e *N,N*-dimetilformamida (DMF). A melhor estabilidade coloidal foi verificada em DMF, devido sua alta polaridade. Suspensões em AE e THF de CNC modificados foram mais estáveis do que CNC por conta das interações entre grupos substituintes e solventes. As propriedades mecânicas dos nanocompósitos, resultantes da dispersibilidade de nanocristais na matriz de CAB mostraram forte relação com a estabilidade coloidal das dispersões.

Beads de celulose foram obtidos utilizando polpa pré-tratada de eucalipto, oxidados e utilizados como suporte para incorporação de um agente bactericida QPVP-C5. Bactérias de *Micrococcus luteus* adsorveram sobre *beads* oxidados e nos *beads* contendo baixa quantidade de QPVP-C5 adsorvido e foi observada propriedade biocida nos *beads* com elevada quantidade de QPVP-C5 adsorvido. Os resultados mostram o preparo de materiais celulósicos multifuncionais de baixo custo e simples preparação para aplicações em meios aquosos com a finalidade de imobilização e ação biocida frente a bactérias Gram-positivas.

Palavras chave: ésteres de celulose, filmes finos, *breath figures*, nanocompósitos, *beads* de celulose, plastificante biocompatível.

ABSTRACT

BLACHECHEN, L. S. **Physicochemical properties of systems composed of cellulosic materials and functional additives**. 2014, 133p. PhD Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The present study demonstrated that the breath figures formation in CA, CAPH, CAB and CMCAB films spin-coated from solutions in tetrahydrofuran (THF) was dependent on the polymers molecular characteristics when prepared under low relative humidity (RH 35%), whereas under higher RH (55% and 75%), the balance among water and THF surface energy and interfacial energy between water and THF was determinant. On the other hand, the short solvent vapor exposure had a plasticizer effect, making CAB, CAPH and CMCAB films completely smooth (from 3 up to 6 min), while dewetting phenomena was observed for CA films.

Biocompatible sorbitan-based surfactants (Tween®) were used as plasticizer for CA, CAPH, CAB and CMCAB casted films. The thermal behavior of films was dependent on the size of surfactant hydrophobic tail, type of polymer side group and the mixture composition. Tween 20 and 40 showed act as an excellent plasticizer for cellulose esters, except for CA, which was immiscible. Low Tween content favored polymeric chains flexibility while higher content increased the cellulose esters molecular mobility leading to T_g variations up to 200 °C.

CAB-based nanocomposites casted films reinforced with cellulose nanocrystals (CNC) modified with different functional groups (acetate and methyl adipoil) were prepared from dispersions in ethyl acetate (EA), THF and *N,N*-dimethylformamide (DMF). The best colloidal stability was verified in DMF, due its high polarity. Suspensions in EA and THF of modified CNC where more stable than unmodified CNC, regarding the interactions among substituents groups and solvents. The mechanical properties of nanocomposites stemming from nanocrystals dispersibility in the CAB matrix showed strong relationship with the colloidal stability.

Cellulose beads were obtained by using pretreated Eucalyptus pulp, oxidized and used as a support for the incorporation of a biocide agent. *Micrococcus luteus* bacteria adsorbed onto oxidized beads and on the beads with low content of adsorbed QPVP-C5. It was observed biocide property for the beads with high QPVP-C5 content. The results show the simple preparation of low cost multifunctional cellulosic materials for applications in aqueous media for the purpose of immobilization and biocide action against Gram-positive bacteria.

Keywords: cellulose esters, thin filmes, breath figures, nanocomposites, cellulose beads, biocompatible plasticizer.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática das estruturas químicas dos ésteres de celulose, em que R refere-se a (a) $-\text{COCH}_3$ no caso do CA; (b) $-\text{COCH}_3$ e $-\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})(\text{CO})$, para o CAPH; (c) $-\text{COCH}_3$ e $-\text{COC}_3\text{H}_7$, para CAB; e (d) $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_3\text{H}_7$ e $-\text{CH}_2\text{COOH}$, para CMCAB
- Figura 2.** Representação das estruturas químicas dos plastificantes. Onde $w + x + y + z = 20$ e $m = 12$ para Tween 20, $m = 16$ para Tween 40 e $m = 18$ para Tween 60
- Figura 3.** Representação de grupos funcionais ligados à superfície de CNCs, CNCa e CNCm provenientes das reações correspondentes e micrografias de TEM obtidas dos nanocristais [DE MESQUITA, *et al.*, 2012]
- Figura 4.** Representação esquemática da reação de oxidação dos grupos hidroxilas primárias da celulose utilizando o sistema TEMPO/NaClO/NaClO₂ (ilustração retirada da publicação de HIROTA, *et al.* 2009b)
- Figura 5.** Representação esquemática da reação de quaternização do PVP com bromopentano
- Figura 6.** Ilustração da determinação da espessura dos filmes por AFM através da medição da distância pico-vale em uma micrografia (2x2) μm^2 obtida de um filme de éster de celulose
- Figura 7.** Espectros de XPS obtidos (a) no modo *survey* de baixa resolução (187 eV) e (b) em alta resolução no modo C 1s, de amostras de beads de celulose oxidada (BC07%)
- Figura 8.** Representação esquemática de formação dos *breath figures* a partir do processo de *spin-coating*
- Figura 9.** Imagens topográficas de AFM com as correspondentes seções transversais obtidas para os filmes de (a) CA, (b) CAPH, (c) CAB e (d) CMCAB obtidos por *spin-coating* a partir de soluções 10 mg mL⁻¹ em THF, com UR de (35±5)%
- Figura 10.** Gráficos dos valores médios de espessura determinados por (a) elipsometria (d_{ELLI}) e (b) AFM (d_{AFM}) para CA, CAPH, CAB e CMCAB filmes obtidos por *spin-coating* com UR de (35±5)% (55±5)% e (75±5)%
- Figura 11.** Imagens topográficas de AFM com as correspondentes seções transversais obtidas para os filmes de (a) CA, (b) CAPH, (c) CAB e (d) CMCAB obtidos por *spin-coating* a partir de soluções 10 mg mL⁻¹ em THF, com UR de (55±5)%
- Figura 12.** Imagens topográficas de AFM com as correspondentes seções transversais obtidas para os filmes de (a) CA, (b) CAPH, (c) CAB e (d) CMCAB obtidos por *spin-coating* a partir de soluções 10 mg mL⁻¹ em THF, com UR de (75±5)%
- Figura 13.** Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CA preparados em UR de (55±5)% a partir de soluções 10 mg mL⁻¹ em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

Figura 14. Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CAPH preparados em UR de $(55\pm5)\%$ a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

Figura 15. Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CAB preparados em UR de $(55\pm5)\%$ a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

Figura 16. Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CMCAB preparados em UR de $(55\pm5)\%$ a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

Figura 17. Termogramas obtidos por DSC de (a) ésteres de celulose puros e (b) surfactantes Tween 20, Tween 40 e Tween 60 puros

Figura 18. Temperaturas de transição vítrea (T_g) de (a) CAB, (b) CMCAB e (c) CAPH determinadas pela equação de Fox (---) e DSC experimentais em função da fração em massa (x) de surfactantes nas misturas de EC/surfactante

Figura 19. Efeito do tamanho da cadeia hidrofóbica do surfactante na T_g de ésteres de celulose em misturas de polímero/tensoativo. O gráfico corresponde a temperatura de transição vítrea (T_g) de CAB, CMCAB e CAPH obtido com $x_{\text{surfactante}} =$ (a) 0,10 (b) 0,30

Figura 20. Perfis de transmitância obtidos a $(30\pm2)^\circ\text{C}$ para CNCs, CNCa e CNCm dispersos a 0,1% m/v em (a) DMF, (c) THF, (e) AE puros, ou em soluções de CAB a 0,9% m/v em (b) DMF, (d) THF e (f) AE

Figura 21. Micrografias ópticas obtidas de filmes de (a) CAB puro, (b) CAB/CNCs, (c) CAB/CNCa e (d) CAB/CNCm obtidos por *spin-coating* a partir de suspensões preparadas de AE, THF ou DMF

Figura 22. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de soluções de CAB em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a_2-c_2) representam imagens topográficas ($5\times5\text{ }\mu\text{m}^2$), (a_1-c_1) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a_3-c_3) imagens de zoom ($2\times2\text{ }\mu\text{m}^2$)

Figura 23. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de dispersões de CAB/CNCs em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a_2-c_2) representam imagens topográficas ($5\times5\text{ }\mu\text{m}^2$), (a_1-c_1) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a_3-c_3) imagens de zoom ($2\times2\text{ }\mu\text{m}^2$)

Figura 24. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de dispersões de CAB/CNCa em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a_2-c_2) representam imagens topográficas ($5\times5\text{ }\mu\text{m}^2$), (a_1-c_1) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a_3-c_3) imagens de zoom ($2\times2\text{ }\mu\text{m}^2$)

Figura 25. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de dispersões de CAB/CNCm em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a_2-c_2) representam imagens topográficas ($5 \times 5 \mu\text{m}^2$), (a_1-c_1) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a_3-c_3) imagens de zoom ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$)

Figura 26. Fotografias de *beads* molhados (a) BC7% e (b) BCO7%, respectivamente. A barra da escala corresponde a 1 cm

Figura 27. Micrografias de MEV das seções transversais dos *beads* liofilizados em água. (a) BC5%, (b) BCO5%, (c) BC6%, (d) BCO6%, (e) BC7% e (f) BCO7%. A barra da escala corresponde a 1 mm. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação

Figura 28. Micrografias de MEV das seções transversais dos *beads* liofilizados em terc-BuOH. (a) BC5%, (b) BCO5%, (c) BC6%, (d) BCO6%, (e) BC7% e (f) BCO7%. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação

Figura 29. Curvas de tensão de compressão *versus* deformação determinadas para (a) *beads* molhados, (b) liofilizados em água e (c) liofilizados em terc-BuOH. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação. As linhas representam os ajustes lineares para a determinação dos valores de módulos de Young

Figura 30. Espectros de FTIR-ATR obtidos para QPVP-C5, BCO e BCO contendo QPVP-C5 adsorvido, (a) $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ e (b) $1750-1450 \text{ cm}^{-1}$

Figura 31. Quantidade de QPVP-C5 adsorvido ($\Gamma_{\text{QPVP-C5}}$) em (a) BC7% e (b) BCO7% em função da concentração de QPVP-C5 na solução. Colunas verdes e azuis representam as quantidades de polímero adsorvido e dessorvido, respectivamente

Figura 32. Imagens de MEV da superfície de *beads* liofilizados (a) BCO7%, (b) BCO7%/QPVP-C5-5 e (c) BCO7%/QPVP-C5-12,5 e (d) do interior de BCO7%/QPVP-C5-12,5, depois de 24h de contato com suspensões de *M. luteus*. As barras de escala correspondem a $1 \mu\text{m}$ e os círculos realçam a presença de *M. luteus* ou detritos de bactéria

Figura 33. Representação esquemática das interações entre bactérias (círculos sólidos vermelhos) e *beads* após 24h. (a) adesão parcial das bactérias em BCO7%, (b) adsorção de bactérias em BCO7%/QPVP-C5-5 fracamente carregados, sem a ruptura das bactérias e (c) aderência de bactérias em BCO7%/QPVP-C5-12,5 altamente carregados, seguido pela ruptura das bactérias

Figura 34. Esquema representativo dos principais resultados obtidos nessa tese

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Características dos ésteres de celulose: $\overline{M}_n$, T_g e T_f representam a massa molar numérica média, temperatura de transição vítrea e ponto de fusão, respectivamente. Como segue, é indicado o grau de esterificação do acetato (DS_{Ac}), butirato (DS_{Bu}), carboximetilcelulose (DS_{CM}), ftalato (DS_{Ph}) e hidroxila (OH); e n é o índice de refração nominal. Dados fornecidos pelo fabricante

Tabela 2. Propriedades físico-químicas dos solventes orgânicos e da água, onde dD , dP e dH referem-se aos parâmetros de dispersão, polar e de ligação de hidrogênio, respectivamente

Tabela 3. Códigos das amostras e as respectivas composições. AE, THF e DMF foram usados para a preparação das dispersões

Tabela 4. Valores médios de espessura obtidos por elipsometria (d_{ELLI}) e AFM (d_{AFM}), e de rugosidade (RMS) determinados por AFM para filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos por *spin-coating*, em UR de $(35\pm 5)\%$, $(55\pm 5)\%$ e $(75\pm 5)\%$. Os valores de desvio-padrão derivam de medições realizadas em diferentes áreas do filme usando pelo menos dois filmes para a mesma amostra de éster de celulose

Tabela 5. Valores médios de espessura obtidos por elipsometria (d_{ELLI}) e AFM (d_{AFM}) e de rugosidade (RMS) determinados por AFM para filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB preparados por *spin-coating* a UR de $(55\pm 5)\%$ a partir de soluções em THF, depois da exposição ao vapor de THF durante 3 min, 6 min ou 720 min. Os valores de desvio-padrão derivam de medições realizadas em diferentes áreas dos filmes e usando pelo menos dois filmes para a mesma amostra de éster de celulose

Tabela 6. Valores de módulo de Young (E) e tensão de ruptura (σ) determinados para filmes de CAB puro e CAB reforçado com CNCs preparados por evaporação do solvente a partir de dispersões preparadas em DMF, AE e THF. ΔE e $\Delta \sigma$ referem-se ao aumento relativo dos valores de módulo de Young e de resistência à tração em comparação aos filmes de CAB puro

Tabela 7. Características dos *beads* de celulose (BC) e *beads* de celulose oxidados (BCO). m_{bm} , V_{bm} e ρ_{bm} referem-se a massa média, volume médio e densidade dos *beads* molhados (V_{bm} foi estimado a partir do ϕ_{bm} e ρ_{bm})

Tabela 8. Valores de densidade (ρ) e módulo de Young (E) estimados para os *beads* liofilizados em água e em *terc*-BuOH. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação

Tabela 9. Composição elementar determinada para BC07%, BC07%/QPVP-C5-5 e BC07%/QPVP-C5-12,5

Tabela 10. Diminuição relativa da turbidez ($\Delta\tau$) medida para dispersões de *M. luteus* após 24h de contato com BC07%, BC07%/QPVP-C5-5 e BC07%/QPVP-C5-12,5, e análise elementar de P das amostras de *beads* após o ensaio biocida. Os dados são valores médios obtidos para três diferentes conjuntos do mesmo sistema com os respectivos desvio padrão

LISTA DE ABREVIACES

ΔH_{mix} - variao de entalpia de mistura

$\Delta \tau$ - diminuio relativa da turbidez de disperses de *Micrococcus luteus*

ϵ_r - permissividade relativa, constante dieltrica

$\varnothing$ - dimetro

$\Gamma_{\text{QPVP-C5}}$ - quantidade de QPVP-C5 adsorvido

$[\eta]$ - viscosidade intrnseca

η_{inh} - viscosidade inerente

η_{rel} - viscosidade relativa

θ - gulo de contato

σ - tenso na ruptura

A - constante de Hamaker

AE - acetato de etila

AFM - microscopia de fora atmica

AGU - unidade de anidro glucose

BC - *beads* de celulose

BCO - *beads* de celulose oxidada

BC5%, 6% ou 7% - *beads* de celulose obtidos de solues de celulose 5, 6 ou 7 % (m/m)

BCO5%, 6% ou 7% - *beads* de celulose oxidada obtidos a partir de BC

CA - acetato de celulose

CAB - acetato butirato de celulose

CAP - acetato propionato de celulose

CAPh - acetato ftalato de celulose

CMC - carboximetil celulose

CMCAB - carboximetil acetato butirato de celulose

CNC - nanocristais de celulose

CNCa - nanocristais de celulose funcionalizados com grupos acetato

CNCm - nanocristais de celulose funcionalizados com grupos metiladipla

CNCs - nanocristais de celulose funcionalizados com grupos sulfato

CUEN - cuproetilenodiamina

CTA - triacetato de celulose

d_{AFM} - espessura dos filmes poliméricos determinada por AFM

d_{ELLI} - espessura dos filmes poliméricos determinada por elipsometria

DMA - análises dinâmico-mecânica

DMAc - *N,N*-dimetilacetamida

DMF - *N,N*-dimetilformamida

DP - grau de polimerização

DS - grau de substituição

DSC - calorimetria exploratória diferencial

E - módulo de Young

EC - ésteres de celulose

ICP-OES - espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente

$\bar{M}_n$ - massa molar numérica média

M. luteus - *Micrococcus luteus*

MEV - microscopia eletrônica de varredura

NMMO - *N*-óxido de *N*-metilmorfolina

QAS - sal de amônio quaternário

QPVP-C5 - poli(brometo de 4-vinil-*N*-alquilpiridínio)

RMS – *root mean square* (usado como medida de rugosidade)

TEMPO - *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina

t – tempo de escoamento da solução no viscosímetro

t₀ – tempo de escoamento do solvente puro no viscosímetro

T_g - temperatura de transição vítrea

THF - tetrahidrofurano

Tween 20 - poli(oxietileno) monolaurato de sorbitano

Tween 40 - poli(oxietileno) monopalmitato de sorbitano

Tween 60 - poli(oxietileno) monoestearato de sorbitano

UR - umidade relativa

x - fração em massa

XPS - espectroscopia de fotoelétrons emitidos por raios-X

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E ESTRUTURA DA TESE	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1. Celulose.....	20
2.2. Ésteres de celulose (EC).....	21
2.3. Nanocristais de celulose (CNC).....	25
2.4. Beads de celulose.....	26
3. DETALHAMENTO DAS SEÇÕES DA TESE	28
3.1. Efeito da umidade relativa e do vapor do solvente nos filmes de ésteres de celulose	28
3.2. Efeito de surfactantes a base de sorbitano na temperatura de transição vítrea de ésteres de celulose.....	30
3.3. Influência da estabilidade coloidal de nanocristais de celulose e sua dispersibilidade na matriz de acetato butirato de celulose (CAB)	32
3.4. Beads de celulose multifuncionais e sua interação com bactérias Gram-positivas	34
4. MATERIAIS	37
5. MÉTODOS.....	41
5.1. Preparo dos materiais	41
5.1.1. Filmes de ésteres de celulose puros.....	41
5.1.2. Filmes de ésteres de celulose puros ou contendo tensoativos.....	42
5.1.3. Dispersões e filmes de nanocompósitos de CAB/CNC.....	43
5.1.4. <i>Beads</i> de celulose.....	44
5.2. Caracterização.....	49
5.2.1. Viscosimetria capilar	49
5.2.2. Estabilidade coloidal das dispersões de CNC	50
5.2.3. Elipsometria	50
5.2.4. Ângulo de contato	51
5.2.5. Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	51
5.2.6. Microscopia de força atômica (AFM)	52
5.2.7. Ensaio mecânicos.....	53
5.2.8. Determinação de massa, tamanho e forma dos <i>beads</i>	54
5.2.9. Titulação potenciométrica	54
5.2.10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	55
5.2.11. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	55
5.2.12. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)	55

5.2.13. Análise elementar CHN e espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES).....	56
5.2.14. Espectroscopia de fotoelétrons emitidos por raios-X (XPS)	56
6. RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES PARCIAIS.....	58
6.1. Efeito da umidade relativa e do vapor do solvente nos filmes de ésteres de celulose	58
6.1.1. Efeito da umidade relativa na morfologia dos filmes.....	58
6.1.2. O efeito do vapor de tetrahydrofurano na morfologia dos filmes	65
6.1.3. Conclusões	73
6.2. Efeito de surfactantes a base de sorbitano na temperatura de transição vítrea de ésteres de celulose.....	74
6.2.1. Temperatura de transição vítrea dos ésteres de celulose e surfactantes.....	74
6.2.2. Comportamento térmico e miscibilidade dos filmes de EC/surfactantes	76
6.2.3. Conclusões	82
6.3. Influência da estabilidade coloidal de nanocristais de celulose e sua dispersibilidade na matriz de CAB.....	83
6.3.1. Preparo das suspensões de nanocristais de celulose.....	83
6.3.2. Estabilidade coloidal das dispersões de nanocristais de celulose.....	84
6.3.3. Morfologia dos filmes de CAB/CNC obtidos por <i>spin-coating</i>	89
6.3.4. Propriedades mecânicas dos filmes de CAB/nanocristais de celulose.....	96
6.3.5. Conclusões	99
6.4. Beads de celulose multifuncionais e sua interação com bactérias Gram-positivas	100
6.4.1. Ensaios preliminares	100
6.4.2. Formação e caracterização de <i>beads</i> de celulose.....	102
6.4.3. Adsorção de QPVP-C5 nos <i>beads</i>	110
6.4.4. Ensaios de bioatividade.....	113
6.4.5. Conclusões	119
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	120
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123
SÚMULA CURRICULAR	131

1. INTRODUÇÃO E ESTRUTURA DA TESE

O desenvolvimento de novos materiais com propriedades múltiplas tem despertado grande interesse tanto na indústria quanto no meio acadêmico [GUO, *et al.*, 2010]. A demanda por novas aplicações e busca pela solução de problemas exige materiais com propriedades específicas. Por questões práticas e financeiras, desenvolver novos materiais a partir dos já existentes tende a ser uma melhor opção em contrapartida à criação de novas moléculas. A nível industrial, por exemplo, a classe de materiais mais utilizada e de maior gama de aplicações é a de polímeros, os quais têm sido extensivamente explorados nos segmentos de plásticos, tintas, embalagens, vestuário, componentes de eletroeletrônicos, automóveis, aeronaves, etc. [HAGE JR., 1998]. A fim de melhorar as suas propriedades sem a necessidade de modificações químicas complexas, as seguintes estratégias tem sido aplicadas: (i) adição de plastificantes, proporcionando maior processabilidade e flexibilidade; (ii) preparo de blendas poliméricas, que são misturas físicas de dois ou mais polímeros ou copolímeros com propriedades distintas, de modo a promover melhoras nas propriedades mecânicas, desempenho em altas temperaturas e/ou biodegradabilidade do produto final; e (iii) formulação de compósitos, nos quais cargas de reforço com dimensões que variam de microns a nanômetros são adicionadas a matrizes poliméricas principalmente para o aumento das propriedades mecânicas e redução de massa [EDGAR, *et al.*, 2001]. Por outro lado, existem fatores que dificultam ou impossibilitam que as propriedades desejadas sejam alcançadas, tal como incompatibilidade química, imiscibilidade, migração e baixa aderência. Como exemplo prático pode-se citar o desafio encontrado na produção industrial de compósitos reforçados com fibras de celulose. Se a matriz

polimérica tiver baixa energia superficial, como é o caso dos polímeros a base de petróleo, a adesão com fibras naturais será muito baixa visto que estas apresentam alta energia superficial devido ao grande número de hidroxilas na superfície [SEYMOUR, 1990; FROLLINI, *et al.*, 2000]. Materiais celulósicos, sejam eles na forma de fibras, nanocristais ou derivados de celulose tem sido constantemente associados ao desenvolvimento de novos produtos onde há um forte apelo pela redução do impacto ambiental, sobretudo por serem provenientes de fontes renováveis, apresentarem propriedades mecânicas apreciáveis, grande potencial biodegradável e de biocompatibilidade [HABIBI, *et al.*, 2010; EICHHORN, 2011; KALIA, *et al.*, 2011].

O desenvolvimento desses materiais requer o conhecimento aprofundado das propriedades dos componentes a serem utilizados, de modo que as condições ideais de processamento sejam alcançadas. Nesse contexto, os modelos de superfícies lisas têm sido relevantes para elucidar características e propriedades de materiais celulósicos isolados ou em sistemas com um ou mais componentes. Estes modelos consistem em filmes finos, lisos e homogêneos que permitem isolar ou minimizar os efeitos da rugosidade da superfície e/ou das propriedades do interior do material, como por exemplo para determinar a energia superficial de um polímero ou as interações entre duas fibras de celulose durante a fabricação de papel [KONTTURI, *et al.*, 2006; ROMAN, 2009; EICHHORN, 2011]. Tais filmes são preparados com o auxílio de métodos específicos, como o revestimento rotacional (ou “*spin-coating*”), por adsorção, deposição ou evaporação de solvente, sendo importante ressaltar que o controle sobre as condições de preparo desses filmes desempenha um papel fundamental nas suas características finais [ROMAN, 2009]. Apesar dos avanços constantes, os modelos de

superfície para materiais celulósicos ainda foram pouco explorados, mostrando-se ser uma área muito promissora para pesquisa científica [KONTTURI, *et al.*, 2006; EDGAR, *et al.*, 2001].

Dentro desse contexto, a presente tese apresenta a formação e caracterização de filmes finos (micro e nanométricos) de ésteres de celulose (EC) em função de suas características estruturais (tipos e tamanho dos grupos substituintes) e dos efeitos causados pela incorporação de agentes plastificantes (surfactantes a base de sorbitano) ou cargas de reforço (nanocristais de celulose – CNC). Os resultados apresentados buscam elucidar questionamentos acadêmico-científicos bem como oferecer suporte para aplicações e aprimoramentos industriais. Visto que temas complementares foram explorados, optou-se por estruturar os resultados em quatro seções. A primeira delas trata de modelos de superfície através dos quais foram investigados os efeitos da umidade relativa do ar e do vapor do solvente na morfologia superficial dos filmes finos de ésteres de celulose feitos por *spin-coating* usando tetrahidrofurano (THF) como solvente. Na segunda seção são explorados os efeitos causados pelos grupos substituintes dos EC na sua miscibilidade com agentes plastificantes relativamente novos variando sua composição, e por conseguinte, no comportamento térmico apresentado por filmes preparados por evaporação de solvente. As conclusões obtidas destes dois estudos serviram de base para delinear a terceira seção, na qual escolheu-se um dos EC como matriz para o preparo de nanocompósitos reforçados com nanocristais de celulose, com ou sem a utilização de um tensoativo como agente dispersante. Foram investigadas as relações entre as propriedades mecânicas dos nanocompósitos em função da dispersibilidade dos CNC na matriz de EC e da estabilidade coloidal de suas

suspensões. E por fim, na quarta e última seção, abordou-se uma aplicação prática para materiais celulósicos modelados na forma de esferas ou *beads*. Foi avaliada a utilização de derivados de celulose (éster e éter de celulose) em combinação com fibras naturais e um polícatión com propriedade bactericida buscando sua aplicação em meios aquosos. Os estudos que compõem as três primeiras seções foram executados no Laboratório de Filmes Finos e Macromoléculas no Instituto de Química da USP, enquanto que as pesquisas referentes a quarta seção ocorreram, parcialmente, no laboratório *Fibre and Cellulose Technology* na *Åbo Akademi* (Finlândia) e foram finalizadas no Brasil.

Objetivo geral: explorar as características da celulose e de ésteres de celulose para a criação de novos materiais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Celulose

A celulose é o principal componente estrutural da parede celular das plantas, sendo obtida no processo de fotossíntese pela polimerização da glucose via condensação. As unidades de glucose são unidas por ligações glicosídicas do tipo β -1,4, de modo que cada glucose encontra-se orientada a 180° uma da outra (dímero denominado celobiose), formando cadeias lineares [STAUDINGER, 1926; HAWORTH, 1928; MEYER & MARK, 1928]. Esse tipo de conformação permite que as hidroxilas da glucose (C2, C3 e C6) interejam, por meio de ligações de hidrogênio com as hidroxilas da mesma ou de cadeias adjacentes devido ao alto grau de empacotamento das cadeias celulósicas. Essas interações intra e inter moleculares conferem alta cristalinidade à celulose, o que também a torna praticamente insolúvel em solventes comuns e com ponto de fusão acima da sua temperatura de degradação [NISHIKAWA & ONO, 1913; MEYER & MARK, 1928; BLACKWELL & MARCHESSAULT, 1971; EDGAR, *et al.*, 2001].

No entanto, a celulose independentemente de sua fonte, não é completamente cristalina, tampouco ocorre como uma molécula individual isolada. Nos sistemas biológicos a base de celulose existe uma hierarquia de organização entre suas cadeias. Durante sua biossíntese, um conjunto de ações permite que sejam formados grupos dessas cadeias em pequenos feixes chamadas de fibrilas elementares, nanofibrilas ou simplesmente fibrilas. Porém, há a ocorrência de falhas no empacotamento das cadeias, dando origem a unidades cristalinas descontínuas, denominadas de regiões amorfas. As fibrilas organizam-se em unidades maiores, as microfibrilas, que por sua vez compõem as fibras celulósicas [MEYER & MISCH, 1937; FRENCH, 1985; KONDO, 2005].

As condições de processamento da celulose, como a escolha do solvente e o tipo de fonte irão influenciar fortemente nos tipos de aplicações. Por exemplo, solventes derivatizantes ($\text{H}_3\text{CCOOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$; $\text{N}_2\text{O}_4/\text{DMF}$; etc.) são utilizados para a obtenção de éteres e ésteres de celulose com as mais diversas propriedades [HEINZE, 2005]. Por outro lado, os solventes não-derivatizantes são mais ecologicamente corretos e baratos ($\text{NaOH}/\text{ureia}/\text{água}$; DMAc/LiCl ; NMMO , etc.), além de também serem utilizados na obtenção de derivados através de processos homogêneos, são empregados no preparo de soluções de celulose, uma vez que dissolvem o polímero diretamente sem reações químicas via rompimento das redes intramoleculares de ligações de hidrogênio [SWATLOSKI, *et al.*, 2002; GERICKE, *et al.*, 2012]. E, por fim, as fibras celulósicas podem sofrer tratamentos específicos para o isolamento das nanofibrilas (processos químico/mecânico ou puramente químicos) [TURBAK, *et al.*, 1983; SAITO, *et al.*, 2006] ou dos domínios cristalinos através da remoção das regiões amorfas das nanofibrilas por meio de hidrólise ácida ou enzimática, dando origem aos chamados nanocristais de celulose (CNC), também conhecidos como *nanowhiskers* ou simplesmente *whiskers* [RÅNBY, 1949; MUKHERJEE & SIKORSKI, 1952; HABIBI, *et al.*, 2010].

2.2. Ésteres de celulose (EC)

Ésteres de celulose (EC) são polímeros versáteis obtidos da derivatização da celulose e apresentam alta temperatura de transição vítrea (T_g), resistência a raios UV, biocompatibilidade, solubilidade em solventes comuns e, portanto, ampla aplicabilidade em distintos segmentos da indústria sendo produzidos em larga escala [EDGAR, *et al.*, 2001; HEINZE, *et al.*, 2007]. A síntese dos EC pode ser feita através de dois processos, o heterogêneo e o homogêneo, sendo o primeiro adotado pela indústria. No primeiro caso são empregados certos ácidos como acético, nítrico, sulfúrico juntamente com anidrido

acético, e as fibras de celulose são parcialmente solubilizadas no solvente à medida que a derivatização ocorre, levando a obtenção majoritária do triacetato de celulose (CTA) [HEINZE, *et al.*, 2006; KAMEL, *et al.*, 2008]. Outros EC como o propionato acetato de celulose (CAP), butirato acetato de celulose (CAB) e acetato ftalato de celulose (C-A-P ou CAPH) são obtidos a partir do CTA via hidrólise parcial dos grupos acetato seguido da reação com os respectivos anidridos (propiónico, butírico, ftálico, etc.) [EDGAR, *et al.*, 2001; EDGAR, 2007].

No processo homogêneo há o emprego de um solvente para celulose (comumente DMAc/LiCl ou líquidos iônicos) o que garante a exposição das porções mais cristalinas das fibras de celulose e consequente difusão dos reagentes rendendo ésteres de celulose homogêneos e com o grau de substituição (GS ou DS – *degree of substitution*) desejado. Outra vantagem desse método, em comparação com o processo heterogêneo, é o de minimizar o impedimento estérico e a diferença de polaridade durante a esterificação, possibilitando o emprego de substituintes com cadeias longas (até 20 carbonos) [SEALEY, *et al.*, 1996; EDGAR, 2001; EL SEOUD & HEINZE, 2005].

A aplicação específica de cada um desses polímeros depende principalmente do tipo de substituinte e do grau de substituição. O acetato de celulose (CA), um dos mais antigos polímeros semi-sintéticos e o segundo éster de celulose a ser produzido (meados do século XIX), inicialmente era obtido como CTA ($DS_{Ac} \sim 2,9$), porém possuía aplicações bastante restritas tendo em vista sua baixa solubilidade em solventes da época [WELLS, 2014]. Posteriormente, com sua hidrólise parcial, tornou-se solúvel em diversos solventes como acetona, tetrahidrofurano e acetato de etila ($2 < DS < 2,8$), piridina ($1 < DS < 2,5$) e água ($0,5 < DS < 1,1$) [HEINZE & LIEBERT, 2004], passando a ser utilizado em filmes de revestimento para aviões, filamentos para indústria têxtil e, devido suas propriedades ópticas, em filmes fotográficos. Atualmente, mais da metade

da sua produção destina-se à fabricação de filtros para cigarros, tendo em vista sua capacidade de remoção de produtos tóxicos presentes na fumaça do cigarro, seguido por telas de cristal líquido (LCD) e filamentos para indústria têxtil [EDGAR, *et al.*, 2001, ROMAN, 2009; VIDAL, 2013]. Com os avanços tecnológicos a diversidade de aplicações para este polímero tem sido ampliada progressivamente, passando a ser empregado na formulação de cosméticos e fármacos [EDGAR, *et al.*, 2001], na produção de membranas de ultracentrifugação [ARTHANAREESWARAN & THANIKAIVELAN, 2010], osmose reversa [DUARTE, *et al.*, 2007], purificação de bio-combustíveis por pervaporação [BILLY, *et al.*, 2010], e combinado com biomoléculas imobilizadas, assim como sistemas de enzimas e bactérias, para biosensores [KOSAKA, *et al.*, 2007b; ATYIA, *et al.*, 2007]. Recentemente, Lee e colaboradores desenvolveram um supercapacitor a base de CA (reciclado de filtros de cigarro) cuja capacitância específica supera em 18% a de materiais convencionais [LEE, *et al.*, 2014].

Já o acetato butirato de celulose (CAB) é um EC mais versátil por ser mais facilmente moldável e apresentar propriedades mecânicas adequadas para fabricação de objetos plásticos com vasta variedade de cores, que vão desde tonalidades translúcidas até opacas [HAWK, 2014]. É bastante apreciado pela indústria de revestimentos por ser bastante hidrofóbico, repelindo umidade e, além de melhorar a estabilidade a raios UV, proporciona outras propriedades como a de reduzir o tempo de secagem e a migração de plastificantes; melhora o fluxo e o espalhamento; controla a viscosidade e age como um carreador estável de pigmentos metálicos [EDGAR, *et al.*, 2001]. Por outro lado, pode ser empregado na produção de membranas de ultracentrifugação para aplicações de tratamento de água e efluentes [SABDE, *et al.*, 1997] e, assim como o CA, para o melhoramento do desempenho mecânico de materiais. Kosaka e colaboradores relataram que a adição de 15% (m/m) de CA ou CAB ao polietileno ou polietileno

maleato pode aumentar, em comparação com as olefinas puras, em ~25% o módulo de Young desses materiais [KOSAKA, *et al.*, 2007c].

O acetato ftalato de celulose (CAPH), um pó branco e insolúvel em água, é bastante apreciado na indústria farmacêutica, sendo considerado um dos melhores materiais para uso no revestimento de comprimidos de aplicação entérica, pois fornece a proteção necessária para cápsulas ou comprimidos contra fluidos gástricos. O CAPH é impermeável em sistemas com pH baixo (meio ácido e enzimático do estômago), mas quando atinge o intestino, onde o pH é básico, libera o princípio ativo do fármaco, [HARRIS & GHEBRE-SELLASSIE, 1997; EDGAR, *et al.*, 2001; EDGAR, 2007].

Estudos também mostraram sua aplicação como substrato para adsorção, sendo utilizado na imobilização de bactérias probióticas [RODRIGUES, *et al.*, 2011], inibição da infecção e inativação do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), assim como vários vírus da herpes (HSV) e de patógenos de outras doenças sexualmente transmissíveis (STD) [NEURATH, *et al.*, 2001 e 2003], além de ter provado ser um ótimo absorvente para remediação de efluentes de indústrias de bebidas [RAVI, *et al.*, 2006].

Assim como o CAPH, o carboximetil acetato butirato de celulose (CMCAB) também é frequentemente usado para formulações farmacêuticas, por ser, na forma de pó, facilmente misturado e comprimido com diversos fármacos [POSEY-DOWTY, *et al.*, 2007]. Ao contrário dos demais ésteres de celulose, o CMCAB é um derivado misto éter/éster e que apresenta natureza anfifílica em decorrência do equilíbrio de hidrofiliidade dos grupos CM e lipofiliidade dos seus grupos éster, característica a qual o torna compatível e miscível com uma gama enorme de compostos [PARIS, 2010; POSEY-DOWTY, *et al.*, 2002].

O CMCAB apresenta a vantagem de ser utilizado em formulações tanto a base de água quanto de solventes orgânicos, sem a necessidade de modificação química de sua

estrutura. O polímero é insolúvel em água quando seus grupos de ácido carboxílico estão protonados, mas dispersa em água quando esses grupos são parcialmente neutralizados (usando aminas ou amônia) ou dissolve completamente quando na forma de sal [PARIS, 2010]. Tintas contendo dispersões de CMCAB além de melhorarem o fluxo e nivelamento durante sua aplicação, previnem o revestimento da flacidez [PARIS, 2010; POSEY-DOWTY, *et al.*, 2002]. Filmes de CMCAB mostraram ser interessantes suportes para a imobilização de albumina de soro bovino e lisozima [AMIM JR., *et al.*, 2010] e para concanavalina A e a jacalina [AMIM JR., *et al.*, 2012].

2.3. Nanocristais de celulose (CNC)

Os nanocristais de celulose (CNC) podem ser obtidos após a exposição da celulose sob condições controladas de temperatura, tempo de extração e agitação constante em um meio ácido (HCl, H₂SO₄ ou H₃PO₄) ou através de complexos enzimáticos, promovendo a liberação das nanofibrilas e remoção dos componentes amorfos destas resultando em nanoestruturas de formas alongadas que são monocristais de alta cristalinidade [RÅNBY, 1949; BATTISTA, 1950]. Quando ácido sulfúrico ou fosfórico são utilizados para a hidrólise, estes podem reagir com as hidroxilas presentes na superfície da celulose, especialmente as da posição C6, formando grupos ésteres de sulfato ou de fosfato, gerando carga superficial negativa, a qual garante, por repulsão eletrostática, a estabilidade da suspensão em meios polares, como é o caso da água [RÅNBY, 1949; MARCHESSAULT, *et al.*, 1959]. O mesmo não ocorre quando utilizado o HCl no processo de isolamento, resultando em suspensões menos estáveis, havendo a necessidade de um tratamento posterior.

A manutenção dos domínios cristalinos da celulose na forma de bastões ou cilindros (*rod-like*) confere a este material valores altos de razão/aspecto dependendo

da fonte celulósica. Essa característica desempenha um papel importante no fenômeno de auto-organização do cristal-líquido de CNC em fase quiral nemática ou no limite da percolação que é um parâmetro fundamental que governa as propriedades mecânicas [EICHHORN, *et al.*, 2010; BRITO, *et al.*, 2012].

O módulo de Young dos CNC pode variar de 50 a 130 GPa, ou até mais conforme a técnica utilizada na caracterização, valores estes comparáveis aos de outros materiais de engenharia como o alumínio ou vidro (ambos 69 GPa) [SAKURADA, *et al.*, 1962; RUSLI & EICHHORN, 2008; EICHHORN, *et al.*, 2010]. Por esta razão, a preparação e caracterização de nanocompósitos reforçados com CNC tem ganhado grande relevância [DUFRESNE, 2008; HABIBI, *et al.*, 2010].

2.4. Beads de celulose

Esferas ou *beads* de celulose são materiais celulósicos versáteis obtidos através da dissolução da celulose (ou um derivado que é posteriormente convertido em celulose), em um solvente apropriado e posterior regeneração da mesma adquirindo formas esféricas de diâmetros variando de 10 µm até escala milimétrica [GERICKE, *et al.*, 2012]. Suas aplicações incluem fase estacionária para colunas cromatográficas de exclusão de tamanho, liberação controlada de fármacos, suporte para enzimas, adsorventes seletivos de polímeros, metais pesados e substâncias biológicas, tais como: proteínas, endotoxinas, vírus ou patógenos, podendo ser utilizados no tratamento de água [DE OLIVEIRA & GLASSER, 1996; HIROTA, *et al.*, 2009a; TRYGG, *et al.*, 2013].

Para o preparo dos *beads*, geralmente, são utilizados solventes não-derivatizantes, uma vez que a derivatização seguida pela conversão da solução em celulose novamente, resulta em grandes quantidades de resíduos químicos [GERICKE, *et al.*, 2012]. Industrialmente, o solvente mais utilizado para a dissolução da celulose é o *N*-

óxido de *N*-metilmorfolina (NMMO), bastante utilizado na produção da viscose e embora seja um solvente caro é facilmente reciclável (~99%). O *N,N*-dimetilacetamida (DMAc) contendo LiCl e os líquidos iônicos também são considerado bons solventes, porém com desvantagens como alto custo, contaminação com lítio e, no último caso soluções com viscosidade relativamente altas. Uma boa opção que vem sendo utilizada nos últimos anos é a dissolução de fibras celulósicas em soluções aquosas de NaOH 7%-ureia ou tioureia 12% (m/m) a -10 °C que, além de ser um solvente barato, é ecologicamente correto e não tóxico [GERICKE, *et al.*, 2012, ROMAN, 2009].

A etapa seguinte após a dissolução do polímero é a da moldagem dos *beads*. Esta se dá por gotejamento em um solvente no qual seja imiscível, como por exemplo solução concentrada de um ácido, conhecido como “banho de coagulação” (termo traduzido diretamente da língua inglesa), ou por dispersão de uma solução de celulose em um solvente imiscível sob forte agitação [KARBSTEIN & SCHUBERT, 1995], métodos os quais são empregados conforme as características requeridas nos *beads*, tais como o tamanho, forma, distribuição de tamanho e porosidade. Por fim, tem-se a regeneração da celulose com a neutralização das cargas, onde são reestabelecidas as redes de ligações de hidrogênio [GERICKE, *et al.*, 2012].

Dependendo da especificidade da aplicação almejada para os *beads* a manipulação de suas propriedades se torna imprescindível. A inserção de grupos químicos através de reações químicas (eterificação, estereificação, oxidação, graftização, etc.) ou através da mistura da celulose com compostos orgânicos, inorgânicos e partículas magnéticas, por exemplo, conferem aos mesmos um alto potencial de aplicações [HIROTA, *et al.*, 2009a; GERICKE, *et al.*, 2012].

3. DETALHAMENTO DAS SEÇÕES DA TESE

3.1. Efeito da umidade relativa e do vapor do solvente nos filmes de ésteres de celulose

A estrutura de filmes poliméricos preparados a partir de soluções depende, primeiramente, do método a ser utilizado na sua produção. Filmes nanométricos, por exemplo, são preparados principalmente por adsorção ou por *spin-coating*. Esse último consiste em gotejar um pequeno volume de uma solução polimérica em um suporte que rotaciona a uma dada velocidade angular por um período pré-determinado de tempo. Essas condições permitem que a solução se espalhe pelo substrato devido à força centrípeta e o solvente evapore rapidamente formando o filme. A morfologia desses filmes poliméricos foi demonstrada ser dependente do solvente utilizado para a preparação das respectivas soluções [MÜLLER-BUSCHBAUM, *et al.*, 2001; STRAWHECKER, *et al.*, 2001; PETRI, 2002], do equilíbrio entre as interações substrato-polímero e substrato-solvente, os quais desempenham um papel muito importante na morfologia da superfície resultante desses filmes [SILBERBERG, 1968; LIN, *et al.*, 2004; AMIM JR., *et al.*, 2008] e também da umidade relativa (UR) da atmosfera [WIDAWSKI, *et al.*, 1994; BOLOGNESI, *et al.*, 2005; PARK, *et al.*, 2006] que mostrou ser um importante parâmetro porque controla a formação de poros ou cavidades na superfície dos filmes. Um melhor entendimento dessas condições permite controlar características dos filmes a fim de direcioná-los para aplicações específicas.

Por exemplo, Kosaka e colaboradores estudaram filmes ultrafinos de ésteres de celulose preparados por adsorção e obtiveram os respectivos valores de energia superficial e da constante de Hamaker [KOSAKA, *et al.*, 2007a]. Avaliaram também o efeito do recozimento (*annealing*), em função da temperatura, na morfologia dos filmes,

evidenciando a reorientação molecular na interface sólido-ar, resultando na alteração da polaridade da superfície dos filmes e exploraram essas propriedades para sua utilização como substratos seletivos para albumina de soro bovino e lipase [KOSAKA, *et al.*, 2005]. Em um trabalho subsequente, os autores provaram que a lipase imobilizada em filmes hidrofóbicos exibiram atividade mais elevada do que a da lipase livre, podendo essa ser reciclada três vezes, além de manter sua atividade em bons níveis mesmo após um mês de armazenamento [KOSAKA, *et al.*, 2007b].

Amim Jr. *et al.* [2008] também estudaram modelos de superfície lisa porém feitos por *spin-coating* a partir de soluções de CA, CAP, CAB e CMCAB em acetona e acetato de etila, utilizando lâminas de Si/SiO₂ como suporte. Com base na taxa de evaporação dos solventes e energia de interação entre o substrato e o solvente, os resultados indicaram estratégias experimentais para obtenção de filmes lisos e com a espessura desejada. Em outro trabalho Amim Jr. e colaboradores demonstraram os efeitos dos solventes nos parâmetros de superfície do CAP e CAB mostrando que esses desempenham um papel fundamental nas propriedades de interface e estabilidade do filme polimérico [AMIM JR., *et al.*, 2009a]. Em outro trabalho, foi demonstrado o potencial de utilização destes filmes como suporte para proteínas como jacalina e concanavalina A [AMIM JR. & PETRI, 2012].

Park, *et al.* [2006] e Kasai & Kondo [2004] estudaram separadamente modelos de superfície mais complexos chamados de *breath figures* ou *honeycomb*, que são estruturas porosas resultantes da condensação de gotículas de água na solução polimérica hidrofóbica durante a formação do filme. Os autores obtiveram esses filmes por evaporação de solvente a partir de emulsões de água em uma solução de CA em clorofórmio [KASAI & KONDO, 2004] e por *spin-coating* de soluções de CAB em misturas de tetrahidrofurano e clorofórmio [PARK, *et al.*, 2006], mostrando que a manipulação das condições de umidade do sistema pode ser utilizada como uma importante

ferramenta para a criação controlada de micro e nano-estruturas em filmes de ésteres de celulose, sendo úteis para aplicações tecnológicas, tais como revestimentos anti-reflexo ou modelos litográficos.

Objetivos específicos: estudar o efeito da umidade relativa nas características estruturais dos filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB durante o processo de *spin-coating*, e também o efeito do vapor do solvente nas estruturas prontas através de microscopia de força atômica (AFM), elipsometria e medidas de ângulo de contato.

3.2. Efeito de surfactantes a base de sorbitano na temperatura de transição vítrea de ésteres de celulose

Ésteres de celulose com elevado grau de substituição tendem a ser quebradiços pois apresentam temperatura de transição vítrea (T_g) elevada. Essa característica é bastante utilizada para compensar a fragilidade de outros polímeros através da formulação de blendas, no entanto, muitas de suas aplicações requerem a introdução de plastificantes de baixa massa molar de modo a melhorar seu processamento pelo abaixamento da T_g , aumentando assim o volume livre e facilitando a mobilidade das macromoléculas [SKORNYAKOV & KOMAR, 1998; EDGAR, 2001; PARIS, 2010].

Geralmente, acetato de trietila, sebacato de dibutila, sorbitol, PEG e glicerina são a classe de compostos mais utilizados para preparar formulações com materiais celulósicos [YANG, *et al.*, 2010a; SHANBHAG, *et al.*, 2007; JANG & LEE, 2003]. Não obstante, alguns desses plastificantes estão sofrendo restrições de uso por apresentarem algum nível de toxicidade, solubilidade em água moderada e/ou temperatura de ebulição baixa. Por outro lado, surfactantes á base de açúcares e líquidos iônicos são

compostos que têm sido estudados como possíveis plastificantes para amostras de polímeros [ZHANG, *et al.*, 2008; GHEBREMESKEL, *et al.* 2006].

Os polissorbatos são uma classe de surfactantes não iônicos a base de sorbitano que, por não apresentarem toxicidade, têm sido bastante utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos e na preparação de alimentos. Outras aplicações vem sendo investigadas recentemente, como sua utilização em processos enzimáticos. Qi *et al.* [2010] mostraram que o poli(oxietileno) monolaurato de sorbitano (Tween 20) desempenhou um papel importante no pré-tratamento da palha de trigo na hidrólise enzimática para produção de etanol, extraíndo os produtos hidrofóbicos de degradação para fase aquosa e modificando a superfície da lignina. Rodríguez e colaboradores verificaram que a presença do Tween 20 além de melhorar a plasticidade dos filmes de amido, aumentou sua permeabilidade ao vapor de água [RODRÍGUEZ, *et al.*, 2006].

Outros polissorbatos, como o monopalmitato de sorbitano (Span 40) e o poli(oxietileno) monopalmitato de sorbitano (Tween 40), foram utilizados como plastificantes para filmes de CMCAB, levando a redução drástica da temperatura de transição vítrea do polímero de $\Delta T_g = -158\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $\Delta T_g = -179\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente [AMIM JR., *et al.*, 2009b]. Os autores também evidenciaram por análises de AFM que a superfície dos filmes de CMCAB/Tween 40 eram mais homogêneas que as de CMCAB/Span 40, indicando assim que as interações entre os componentes do primeiro sistema são favorecidas.

Objetivos específicos: avaliar (i) as propriedades de três tipos de surfactantes à base de sorbitano, Tween 20, Tween 40 e Tween 60, como plastificante para os ésteres de celulose CA, CAB, CMCAB e CAPH e (ii) os efeitos do tamanho da cauda hidrofóbica dos

tensoativos neutros e do tipo de substituinte do éster de celulose no comportamento térmico das misturas por meio de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

3.3. Influência da estabilidade coloidal de nanocristais de celulose e sua dispersibilidade na matriz de acetato butirato de celulose (CAB)

Com os avanços na nanotecnologia a categoria de materiais que vem ganhando mais atenção na última década é a dos compósitos, os quais consistem em uma carga de reforço dispersa em uma matriz polimérica visando melhorar suas propriedades (principalmente as mecânicas – módulo de Young, resistência à tração, resistência ao impacto) com relação aos polímeros puros [SEYMOUR, 1990]. As cargas de reforço podem ser fibras de vidro, fibras de carbono, fibras naturais ou nanopartículas, como é o caso dos nanocristais de celulose (CNC). No caso dos materiais a base de celulose, estes oferecem a vantagem de serem ~50% mais leves do que o vidro, além de mais baratos [KALIA, *et al.*, 2011]. Além disso os CNC juntamente com termoplásticos de fontes naturais, como os ésteres de celulose, tem sido recentemente empregados na fabricação de compósitos biodegradáveis ou compostáveis [EDGAR, 2001; CARRILLO, *et al.*, 2010].

Na literatura são encontrados compósitos de CAB reforçados com diversos tipos de cargas a base de celulose. Carrillo e colaboradores fabricaram materiais de CAB com fibras liocel e de linho (34,8%, m/m), verificando aumento nos valores do módulo de Young 2 e 2,5 vezes maiores do que dos filmes de CAB puro, porém com uma diminuição do alongamento na ruptura. A presença das fibras nesses compósitos levou também a um aumento na absorção de água. Testes de biodegradação mostraram a perda de 10% e 25% de massa dos compósitos CAB/liocel e CAB/linho, respectivamente, após 60 dias enterrados no solo [CARRILLO, *et al.*, 2010]. Utilizando outro tipo de reforço, Jonoobi *et*

al. [2014] estudaram nanocompósitos de CAB contendo 60% (m/m) de nanofibras de celulose. Os ensaios de tração destes materiais mostraram um aumento de 364% e 145% para a rigidez e resistência, respectivamente. Petersson reportou em trabalhos distintos, nanocompósitos de CAB reforçados com 5% (m/m) de celulose microcristalina [PETERSSON & OKSMAN, 2006] e nanocristais de celulose [PETERSSON, *et al.*, 2009], e observou que a resistência dos materiais apresentou uma melhora de 30% e 76%, respectivamente. Foi destacado também pelos autores que, em contraste com compósitos de CAB com fibras de celulose ou celulose microcristalina, a transparência dos filmes de CAB foi pouco afetada pela adição de CNC, evidenciando a aplicação de nanocristais de celulose em nanocompósitos transparentes.

Entretanto, a obtenção desses materiais merece alguns cuidados referentes a fácil agregação dos CNC, principalmente quando são liofilizados após seu isolamento, tornando-se difícil redispersá-los em solventes não polares [EICHHORN, 2011]. Outro obstáculo deve-se a alta energia interfacial e, portanto, baixa adesão existente entre os componentes quando são utilizadas matrizes hidrofóbicas e cargas de reforço a base de celulose. Polímeros como os ésteres de celulose, em geral, possuem baixa energia superficial, resultante de forças dispersivas, ao contrário dos materiais celulósicos que, devido ao grande número de hidroxilas na superfície, apresentam energia superficial alta [KALIA, *et al.*, 2011; FROLLINI, *et al.*, 2000]. Sendo assim, algumas estratégias tem sido empregadas como o uso de surfactantes para recobrir os CNC e a inserção de grupos silanos, alquílicos, ésteres e agentes de acoplamento, através de reações químicas que modificam apenas a superfície das porções cristalinas da celulose [KALIA, *et al.*, 2011, EICHHORN, 2011, HABIBI, *et al.*, 2010].

Objetivos específicos: estudar o preparo de nanocompósitos de acetato butirato de celulose (CAB) reforçados com três tipos de nanocristais de celulose (CNC), inicialmente liofilizados, contendo grupos sulfato (abreviados como CNCs), metiladipóila (CNCm), e acetato (CNCa). Investigar através de um analisador de separação de fases a estabilidade coloidal dos CNC em diferentes sistemas: (i) solventes puros (acetato de etila, tetrahidrofurano e *N,N*-dimetilformamida), ou (ii) em soluções de CAB preparados nestes solventes. Determinar as propriedades mecânicas e características morfológicas resultantes dos filmes de nanocompósitos por análises dinâmico-mecânicas (DMA), microscopia óptica e microscopia de força atômica (AFM), respectivamente. Correlacionar a estabilidade coloidal dos nanocristais de celulose com propriedades mecânicas dos filmes de nanocompósitos resultantes.

3.4. Beads de celulose multifuncionais e sua interação com bactérias Gram-positivas

O desenvolvimento de novos materiais visa não somente a obtenção de produtos com desempenho mecânico superior, leveza, propriedades ópticas e elétricas melhoradas, mas também atividade antimicrobiana. De um modo geral, uma estratégia comum para obtenção de superfícies poliméricas com atividade biocida se dá pela incorporação de agentes bactericidas tais como íons ou nanopartículas de prata [BALOGH, *et al.*, 2001; WANG, *et al.*, 2013], antibióticos [CHUANG, *et al.*, 2008], quitosana [GOY, *et al.*, 2009] compostos de amônio quaternário [MELO, *et al.*, 2011] ou através da imobilização de lisozima, conforme obtido em filmes de CMCAB [AMIM JR., *et al.*, 2010]. Um tipo de sal de amônio quaternário (QAS) que vem sendo bastante estudado é o poli(brometo de 4-vinil-*N*-alquilpiridínio) (QPVP), que com cadeias de

alquila de até seis átomos de carbono provou ser eficiente contra as bactérias *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *M. luteus* [TILLER, *et al.*, 2001; SILVA, *et al.*, 2009]. Uma das vantagens de se utilizar QAS para essa finalidade é que ao serem incorporados em uma matriz polimérica podem promover atividade biocida permanente, ou seja, sem perda da sua atividade, tendo em vista que sua ação ocorre basicamente pelo contato das cargas positivas do nitrogênio quaternário com a membrana negativamente carregada dos microorganismos [KÜGLER, *et al.*, 2005]. Além disso, a fixação dos polímeros em um substrato é particularmente importante, por exemplo, em aplicações relacionadas com a esterilização da água potável, na qual a liberação de componentes solúveis pode afetar a saúde humana [AHMED, *et al.*, 2008].

Além da utilização de filmes como suporte para QAS, esferas poliméricas podem se tornar uma ótima opção, principalmente, por apresentarem área superficial maior que os filmes, podendo assim potencializar a ação dos agentes biocidas. Esferas a base de celulose, mais conhecidas como *beads* de celulose, são preparadas com dimensões micro e nanométricas e possuem um grande potencial de aplicações que vão desde cromatografia, suporte sólido para imobilização de enzimas e proteínas, até liberação controlada de fármacos [XIONG, *et al.*, 2005; YU, *et al.*, 2007; KENNEDY, *et al.*, 1973; TRYGG, *et al.*, 2014].

Para aplicações específicas as características dos *beads* são ajustadas através da introdução de grupos funcionais ou pelo preparo de blendas de celulose com compostos orgânicos ou inorgânicos, onde a celulose é componente majoritário, tendo em vista que a rede de ligações de hidrogênio é responsável pela estabilidade mecânica das esferas [GERICKE, *et al.*, 2012]. Ésteres de celulose, por exemplo, podem ser utilizados na produção de nanoesferas [WONDRACZEK, *et al.*, 2013], mas quando preparados com dimensões milimétricas se tornam frágeis mesmo que misturados com celulose. De

Oliveira e Glasser [1996] reportaram o fortalecimento das propriedades de *beads* de celulose/ésteres de celulose somente quando os grupos substituintes possuíam 12 carbonos ou mais. Outro exemplo de *beads* obtidos de blendas foi relatado por Wang e colaboradores. Através da mistura da celulose com colágeno os autores obtiveram *beads* com cargas negativas (grupos carboxilato) eficientes na remoção de íons Cu (II) de sistemas aquosos [WANG, *et al.*, 2012]. Hirota, *et al.* [2009a] também preparam *beads* negativamente carregados através da oxidação de *beads* de celulose mediada pelo catalisador TEMPO, que resultou no aumento consistente das cargas negativas. Os autores evidenciaram o uso desses materiais para adsorção de íons de metal pesado Cu, Ag e Pb, além de polímeros catiônicos de alta massa molar, como é o caso do poli cloreto de amônio dimetil dialil (PDADMAC), amplamente utilizado no tratamento de água. Essas evidências mostram esse material com grande potencial para ser utilizado como suporte para outros polímeros como o QPVP.

Objetivos específicos: criar e caracterizar materiais celulósicos com propriedade bactericida. Avaliar a utilização de *beads* de celulose sem modificação e oxidada; *beads* da blenda celulose/carboximetil celulose; e esferas de CAB e CMCAB como suporte para a incorporação do agente biocida poli(brometo de 4-vinil-*N*-pentil piridínio) (QPVP-C5). Avaliar a propriedade biocida desses materiais frente a bactéria Gram-positiva *M. luteus*.

4. MATERIAIS

Acetato de celulose (CA-398-3), acetato ftalato de celulose (CAPH), acetato butirato de celulose (CAB-381-0,5 e CAB-551-0,2) e carboximetil acetato butirato de celulose (CMCAB-641-0,2) na forma de pó e livre de plastificantes foram gentilmente cedidos pela Eastman Chemical Co. (Brasil). As massas molares médias numéricas ($\overline{M}_n$) e graus de substituição (DS) são apresentados na Tabela 1. Os surfactantes poli(oxietileno) monolaurato de sorbitato (Tween 20), poli(oxietileno) monopalmitato de sorbitato (Tween 40) e poli(oxietileno) monoestearato de sorbitato (Tween 60) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Brasil). As estruturas químicas dos ésteres de celulose e dos surfactantes estão esquematicamente representadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Os polímeros e surfactantes foram usados tal como recebidos.

Tabela 1. Características dos ésteres de celulose: $\overline{M}_n$, T_g e T_f , representam a massa molar numérica média, temperatura de transição vítrea e ponto de fusão, respectivamente. Como segue, é indicado o grau de esterificação do acetato (DS_{Ac}), butirato (DS_{Bu}), carboximetilcelulose (DS_{CM}), ftalato (DS_{Ph}) e hidroxila (OH); e n é o índice de refração nominal. Dados fornecidos pelo fabricante

Polímero	$\overline{M}_n$ (g mol ⁻¹)	$n^{632,8}$	T_g (°C)	T_f (°C)	DS_{Ac}	DS_{Ph}	DS_{Bu}	DS_{CM}	OH
CA-398-3	100.000	1,475	180	240	2,4	-	-	-	0,6
CAPH	40.000	1,49	170	-	2,1	0,9	-	-	-
CAB-381-0,5	30.000	1,48	130	160	1,0	-	1,8	-	0,2
CAB-551-0,2	30.000	1,48	101	135	0,2	-	2,5	-	0,3
CMCAB-641-0,2	20.000	1,48	135	150	0,4	-	1,6	0,3	0,7

Figura 1. Representação esquemática das estruturas químicas dos ésteres de celulose, em que R refere-se a (a) $-\text{COCH}_3$ no caso do CA; (b) $-\text{COCH}_3$ e $-\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})(\text{CO})$, para o CAPH; (c) $-\text{COCH}_3$ e $-\text{COC}_3\text{H}_7$, para CAB; e (d) $-\text{COCH}_3$, $-\text{COC}_3\text{H}_7$ e $-\text{CH}_2\text{COOH}$, para CMCAB

Figura 2. Representação das estruturas químicas dos plastificantes. Onde $w + x + y + z = 20$ e $m = 12$ para Tween 20, $m = 16$ para Tween 40 e $m = 18$ para Tween 60

Nanocristais de celulose (CNC) foram gentilmente cedidos pelo grupo de pesquisa liderado pelo Prof. Dr. Fabiano Vargas Pereira no departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais. Nanocristais com dimensões típicas da ordem de 160 nm de comprimento e 5 nm de largura foram obtidos por meio da hidrólise com ácido sulfúrico da polpa de eucalipto, conforme descrito pelos autores [DE MESQUITA, *et al.*, 2012; DE PAULA, *et al.*, 2011; VILLANOVA, *et al.*, 2011; DE RODRIGUEZ, *et al.*, 2006]. Os CNC obtidos contêm aproximadamente 1% de grupos sulfato ligados a sua superfície, aqui denominados CNCs, o que resulta em valores de potencial zeta ~ -50 mV [BRITO, *et al.*, 2012]. Outros dois tipos de CNC resultaram da modificação dos CNCs com cloreto de metiladipoíla [DE MESQUITA, *et al.*, 2012] ou com uma mistura de ácido sulfúrico com

ácido acético [BRAUN & DORGAN, 2009], obtendo-se respectivamente CNC com grupos metiladipóila (CNCm) e acetato (CNCA) (Figura 3). A funcionalização de CNCs com grupos ésteres foi evidenciada pela detecção de ligações carbonilas em espectro de infravermelho vibracional e por análise elementar realizada para CNCm e CNCA, que indica grau de substituição para CNCm e CNCA como 0,25 e 0,46, respectivamente [DE MESQUITA, *et al.*, 2012]. As dimensões de CNCA e CNCm foram muito similares a dos CNCs [DE MESQUITA, *et al.*, 2012] como demonstrado na Figura 3.

Figura 3. Representação de grupos funcionais ligados à superfície de CNCs, CNCA e CNCm provenientes das reações correspondentes e micrografias de TEM obtidas dos nanocristais [DE MESQUITA, *et al.*, 2012]

Celulose de polpa de eucalipto ECF (branqueada sem cloro elementar) e *Micrococcus luteus* (ATCC 4698), uma bactéria Gram-positiva, foram adquiridos da UPM Kymmene (Uruguai) e Instituto Adolf Lutz (Brasil), respectivamente. O polímero poli(4-vinilpiridina), (PVP, $M_w \sim 60.000 \text{ g mol}^{-1}$, DP ~ 600), e os reagentes 1-bromopentano (99% de pureza) foram adquiridos da Aldrich (Brasil); Celulose carboximetil de sódio, CMC, ($M_w 250.000 \text{ g mol}^{-1}$) foi adquirido da Sigma-Aldrich (Finlândia) com $DS_{CMC} = 1,12$; TEMPO (*N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina), NaClO_2 (80%), NaClO , da Sigma-Aldrich (Finlândia); NaOH (pastilhas) e ureia, da Merck (Finlândia); HCl (37%), soluções padrão de HCl e NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ da Merck-Millipore (Finlândia); e os solventes grau analítico tetrahidrofurano (THF), acetato de etila (AE), isopropanol, etanol, éter dietílico e *N,N*-dimetilformamida (DMF), assim como etanol anidro (98%) da Synth (Brasil). As propriedades dos solventes estão exibidas na Tabela 2. Todos os reagentes e solventes foram usados assim como recebidos.

Lâminas de silício (100) foram adquiridas da Silicon Quest (EUA) com camada nativa de óxido de silício de aproximadamente 2 nm de espessura.

Tabela 2. Propriedades físico-químicas dos solventes orgânicos e da água, onde dD, dP e dH referem-se aos parâmetros de dispersão, polar e de ligação de hidrogênio, respectivamente

Solvente	Densidade ¹ (kg m^{-3})	Pressão de vapor ^{1,2} (mmHg)	Constante dielétrica ¹ , ϵ	Parâmetros de solubilidade de Hansen ² (J cm^{-3}) ^{1/2}		
				dD	dP	dH
Água	1000	23,6	77,75	15,6	16,0	42,3
<i>N,N</i> -dimetilformamida	949	2,9	38,28	17,4	13,7	11,3
Etanol	789	59,3	24,55	15,8	8,8	19,4
Isopropanol	785	40	19,92	15,8	6,1	16,4
Tetrahidrofurano	889	100	7,52	16,8	5,7	8,0
Acetato de etila	900	160	6,08	15,8	5,3	7,2

Dados retirados de ¹ LIDE, 2004 e ² SMITH, 2014

5. MÉTODOS

5.1. *Preparo dos materiais*

5.1.1. Filmes de ésteres de celulose puros

Para investigar os efeitos da umidade relativa (UR) do ambiente no qual filmes de ésteres de celulose são preparados foram selecionadas quatro ésteres de celulose, CA-398-3, CMCAB-641-0,2, CAPH e CAB-381-0,5 ($DS_{Bu} = 1,8$). As soluções de polímeros puros foram preparadas em tetrahidrofurano (THF), na concentração de 10 mg mL⁻¹.

Filmes finos desses polímeros foram preparados através da técnica de *spin-coating*, através da qual gotas com o volume de 10 µL foram depositadas em lâminas de Si/SiO₂ e então, o sistema submetido a rotação de 3000 rpm, durante 30 segundos, utilizando o rotor Headway Research, Inc. Model PWM32 (EUA). As lâminas foram previamente cortadas em pedaços com uma área típica de (1,0 x 1,0) cm², lavadas com solução oxidativa (água destilada, peróxido de hidrogênio e hidróxido de amônio, 3:1:1, v/v), por 20 min e a 50 °C, conforme descrito por Petri, *et al.* [1999], secas com jato de N₂ e caracterizadas por elipsometria. Durante o processo de *spin-coating* as condições de temperatura e umidade relativa foram mantidas em (24±1) °C e (35±5)%, (55±5)% ou (75±5)%, respectivamente. Um aparato construído no laboratório, consituído de uma cuba de polipropileno que recobria todo o sistema do *spin-coater*, permitiu o controle da UR. Através de um orifício, nitrogênio seco ou previamente borbulhado em água milliQ aquecida a 50 °C foi injetado na cuba para baixar ou aumentar a UR, respectivamente, que era medida *in situ*, antes e durante a obtenção dos filmes, com o uso do higrômetro Technoline WS9120 montado dentro da cuba.

A fim de investigar o efeito do vapor de THF na morfologia dos filmes poliméricos, um conjunto de filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos por *spin-coating* a $(55\pm 5)\%$ e $(75\pm 5)\%$ de UR foram submetidos à atmosfera saturada de THF durante 3, 6 e 720 minutos. Para o experimento, as lâminas de silício contendo filmes de ésteres de celulose foram suspensas em placas de Petri contendo 3 mL de solvente, tampadas e deixadas pelo tempo pré-estabelecido.

5.1.2. Filmes de ésteres de celulose puros ou contendo tensoativos

Quatro ésteres de celulose, CA-398-3, CAB-551-0,2, CMCAB-641-0,2 e CAPH, foram selecionados para a avaliação dos efeitos que a adição de surfactantes a base de sorbitano (Tween 20, Tween 40 e Tween 60) causa em suas propriedades, especificamente na temperatura de transição vítrea (T_g). Os solventes foram escolhidos com base na solubilidade dos polímeros. Para o CA, CAB, CMCAB utilizou-se acetato de etila (AE), enquanto que para o CAPH, a mistura de AE e isopropanol (1:1, v/v).

O preparo dos filmes se deu pelo método da evaporação do solvente, ou *casting*, no qual foram obtidos filmes de espessura da ordem de algumas dezenas de microns. Para isso, a concentração das soluções poliméricas foi fixada em 10 mg mL^{-1} , enquanto que para as misturas dos ésteres de celulose com os surfactantes Tween 20, Tween 40 e Tween 60, manteve-se a concentração polimérica e variou-se o teor dos tensoativos. A quantidade de Tween, expressa como fração em massa, x , variou de 0,05 a 0,55.

Os polímeros puros ou juntamente com tensoativos foram pesados, misturados com o solvente e mantidos em frascos de vidro hermeticamente fechados e sob agitação magnética por, pelo menos, 4 h. O volume de 10 mL de cada amostra foi transferido para uma placa de Petri de vidro ($\varnothing = 5 \text{ cm}$), previamente lavada com solução oxidativa

(descrito na seção 5.1.1.). Os sistemas foram deixados *overnight* em uma estufa a 60 °C para a evaporação do solvente. O resfriamento se deu gradualmente até 25 °C, onde a massa constante foi atingida. Os filmes foram cuidadosamente retirados das placas de Petri com o auxílio de uma pinça e mantidos em um dessecador até serem utilizados.

5.1.3. Dispersões e filmes de nanocompósitos de CAB/CNC

Nanocompósitos de CAB-381-0,5 e nanocristais de celulose (CNC) foram preparados na forma de filmes micrométricos (por *casting*) e nanométricos (por *spin-coating*), para o estudo da dispersibilidade dos CNC na matriz polimérica e seu efeito nas propriedades mecânicas dos mesmos. Três tipos de nanocristais de celulose foram selecionados para o estudo, cada um contendo grupos substituintes distintos em sua superfície, sendo esses, sulfato (CNCs), metiladipoíla (CNCm) e acetato (CNCA).

Os CNC liofilizados foram dispersos em solventes puros (AE, THF e DMF) na concentração de 1 mg mL⁻¹, conforme descrito a seguir. Os sistemas foram submetidos à agitação magnética *overnight*, a (24±1) °C. Em seguida os frascos de vidro contendo as dispersões foram mantidos por 20 minutos em banho de ultrassom, a (24±1) °C, utilizando um equipamento UP100H Hielscher Ultrasonics (Alemanha), equipado com sonotrodo de (130 W cm⁻²). Na sequência, o polímero CAB-381-0,5 foi adicionado às suspensões de CNC até atingir a concentração de 9,0 mg mL⁻¹, ou seja, uma solução de CAB com a incorporação de 10% (m/m) de CNC. O sistema foi novamente submetido à agitação magnética *overnight*, a (24±1) °C. Particularmente, para o solvente DMF, foram também preparados sistemas CAB/CNC com 5 e 15% (m/m) de CNCs em relação ao CAB. Como branco foram preparadas soluções de CAB puro. As massas de CAB e CNC foram pesadas em balança analítica com ± 0,0001 g de precisão. Tabela 3 exhibe todos os

sistemas preparados com seus respectivos códigos. As dispersões foram então usadas para os ensaios de estabilidade coloidal e para o preparo de filmes via *casting* e também *spin-coating* (UR $65 \pm 5\%$).

Tabela 3. Códigos das amostras e as respectivas composições. AE, THF e DMF foram usados para a preparação das dispersões

Código da amostra	CNC % (m/m)	CAB % (m/m)
CNCs	10	-
CNCa	10	-
CNCm	10	-
CAB/5CNCs*	5	95
CAB/15CNCs*	15	85
CAB/CNCs	10	90
CAB/CNCa	10	90
CAB/CNCm	10	90

* preparados apenas em DMF

5.1.4. *Beads* de celulose

5.1.4.1. *Pré-tratamento da polpa de celulose*

Polpa de eucalipto foi escolhida como fonte de celulose para a obtenção de *beads*. Porém, a fim de assegurar uma boa dissolução das fibras de celulose em um solvente não derivativo, NaOH-ureia-água, a polpa foi submetida a um pré-tratamento em HCl-etanol, a fim de reduzir o grau de polimerização das cadeias de celulose. 150 g de polpa foram adicionados em um Béquer contendo 4 L de HCl (37%):etanol (1:25, v/v) e o sistema foi mantido sob agitação mecânica moderada durante 3 h, a 70 °C [TRYGG & FARDIM, 2011]. Em seguida, as fibras foram filtradas, lavadas várias vezes em água destilada e, em seguida, liofilizadas.

5.1.4.2. Coagulação dos beads de celulose (BC)

Polpa de celulose de eucalipto pré-tratada e liofilizada foi adicionada ao meio de dissolução NaOH-ureia-água (solução aquosa de NaOH a 7%, m/m, e ureia 12%, m/m) de modo que as concentrações foram de 5, 6 e 7%, m/m; (posteriormente, os *beads* preparados dessas soluções foram designados como BC5%, BC6% e BC7%, respectivamente). As dispersões foram homogeneizadas através de agitação vigorosa durante 10 minutos à 24 °C. Em seguida, cada Béquer contendo suspensão de fibras de celulose foi transferido diretamente para um banho termostático contendo solução de etilenoglicol à -10 °C e mantido durante 30 minutos sob agitação moderada. Logo após, as dispersões se tornaram transparentes devido a solubilização das fibras. A fim de se evitar a geleificação, todas as soluções foram mantidas a -5 °C até sua utilização.

Utilizando uma seringa de 10 mL da Eppendorf, os BC foram preparados por gotejamento (10 µL) da solução de celulose num Béquer contendo HCl 2 mol L⁻¹ como banho de coagulação. Parâmetros como a temperatura do banho (24 °C), o tamanho do Béquer (1 L), o volume de solução de ácido (0,5 L) e velocidade de gotejamento (2 mL min⁻¹) foram mantidos constantes, ao passo que a distância entre a ponta da seringa e a superfície do banho foi variada de 2 a 5 cm, visando obter *beads* esféricos. Os *beads* coagulados foram mantidos por 12 h nos respectivos banhos de coagulação para que fosse assegurada a regeneração completa das cadeias de celulose. Depois, as esferas de celulose foram lavadas continuamente com água corrente durante 20 minutos ou até que o pH neutro fosse alcançado e, então, armazenadas em água destilada.

5.1.4.3. Oxidação dos beads de celulose mediada por TEMPO

A modificação dos *beads* de celulose foi feita objetivando-se a inserção de cargas negativas através da oxidação das hidroxilas primárias da celulose a grupos carboxila,

mediada pelo catalisador TEMPO. Com base em trabalhos da literatura [DE NOOY, *et al.*, 1994; SAITO & ISOGAI, 2004; HIROTA, *et al.*, 2009a-b; TRYGG, *et al.*, 2014] o procedimento foi feito utilizando o sistema TEMPO/NaClO/NaClO₂. O esquema da reação é mostrado na Figura 4 [DE NOOY, *et al.*, 1994-1995; HIROTA, *et al.*, 2009b].

Figura 4. Representação esquemática da reação de oxidação dos grupos hidroxilas primárias da celulose utilizando o sistema TEMPO/NaClO/NaClO₂ (ilustração retirada da publicação de HIROTA, *et al.* 2009b)

A massa de *beads* de celulose molhados equivalente a 1 g de celulose seca (6,2 mmol de unidade de anidro glucose - AGU) foi colocada em um Erlenmeyer com tampa de rosca contendo 100 mL de NaH₂PO₄ a 50 mmol L⁻¹ (utilizada para manter o pH ~6 durante a reação, de modo a evitar a perda de massa molar da celulose por β-eliminação), deixando-se repousar durante 1h. Em paralelo, NaClO₂ (7,4 mmol) e N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO; 0,19 mmol) foram adicionados a 50 mL de solução de NaH₂PO₄, dissolvidos e adicionados ao balão. Solução de hipoclorito de sódio (20%; 0,74 mmol) foi, em seguida, adicionada ao sistema pré-aquecido a 60 °C em banho de silicone, (temperatura escolhida após testes de otimização). O balão foi tampado e a reação foi mantida durante 5, 6 ou 7 h. Ocasionalmente o sistema foi agitado

manualmente para assegurar a homogeneização do meio reacional. Transcorrido o tempo de reação pré-determinado, os *beads* de celulose oxidada (BCO) foram filtrados, lavados várias vezes e mantidos em água destilada.

5.1.4.4. Síntese do poli(brometo de 4-vinil-N-pentil piridínio) (QPVP-C5)

A obtenção do polycation com propriedade biocida, QPVP-C5, se deu pela quaternização do poli(vinilpiridina). O procedimento seguido (Figura 5) foi baseado no trabalho dos autores Urzúa e Ríos [2003]. O PVP (0,019 mol) foi dissolvido em um balão de fundo redondo com um condensador de refluxo contendo etanol anidro (10%, m/m) e então pré-aquecido em banho de silicone a 60 °C. Na sequência foi adicionado 1-bromopentano (0,095 mol) ao sistema, o qual foi mantido em refluxo, sob agitação magnética moderada e sob atmosfera de nitrogênio durante 24 h a 60 °C. O isolamento do produto foi realizado por precipitação em éter dietílico e re-dissolução do sólido em etanol por pelo menos 5 vezes, antes de ser seco a vácuo a 25 °C.

Figura 5. Representação esquemática da reação de quaternização do PVP com bromopentano

5.1.4.5. Adsorção do polication QPVP-C5 nos beads

Beads de celulose, oxidados ou não, foram usados como substrato para adsorção do polímero QPVP-C5. A quantidade de *beads* molhados, BC e BCO, equivalente a 30 mg de celulose seca foi colocada em frascos de vidro contendo 4 mL de solução aquosa de QPVP-C5 nas concentrações 0,5; 2,5; 5,0; 12,5 ou 17,5 mg mL⁻¹. Os frascos foram hermeticamente selados e deixados sob suave agitação magnética a 55 °C durante 15 h, pH ~6. Estas condições foram estabelecidas com base em ensaios preliminares.

Para os ensaios de dessorção, após terem sido resfriados até 24 °C, os *beads* foram lavados e filtrados de modo a remover o QPVP-C5 não adsorvido. As amostras tiveram o excesso de água retirado com o auxílio de papel absorvente e então colocadas em frascos de vidro contendo 4 mL de água destilada, selados e mantidos durante 24 h sob agitação orbital (essa medida foi tomada tendo em vista a quantificação do QPVP-C5 dessorvido). Os *beads* BC/QPVP-C5 e BCO/QPVP-C5 foram então imediatamente utilizados ou liofilizados. A liofilização se deu de duas maneiras: a primeira usando água como solvente e na segunda foi previamente realizada a troca de solvente. Para isso, os *beads* foram transferidos para um recipiente contendo terc-butanol, a 35 °C, onde foram mantidos por 15 min. Esse processo foi repetido por 5 vezes.

5.1.4.6. Ensaios de bioatividade dos beads contendo QPVP-C5

O efeito bactericida dos *beads* de celulose oxidada (BCO e BCO/QPVP-C5) foi avaliado frente a bactéria Gram-positiva *Micrococcus luteus*, seguindo um protocolo descrito na literatura [WEISNER, 1984]. Em torno de 35 mg de cada amostra de *beads* (equivalente a massa dos *beads* secos) foram mergulhados em uma placa de Petri contendo 3 mL de dispersão aquosa de bactéria a 2,75 mg mL⁻¹ (pH ~6) e deixados interagir por 24 h. Após esse período os *beads* foram lavados e liofilizados em água para análise utilizando MEV.

5.2. Caracterização

5.2.1. Viscosimetria capilar

Medidas de viscosidade capilar foram realizadas em dois casos, o primeiro, para a determinação da viscosidade dos solventes puros AE, THF e DMF e das soluções de CAB-381-0,5 preparadas nos mesmos solventes; e no segundo caso, para a determinação do grau de polimerização (DP) da celulose tratada e não tratada, seguindo a norma ASTM D1795 [2001].

Foi utilizado o viscosímetro calibrado Ubbelohde acoplado a um equipamento automático da Schott (AVS350). As amostras foram mantidas imersas no banho termostaticado por 10 minutos antes das medidas para que a temperatura do sistema atingisse o equilíbrio. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

O tempo de escoamento no viscosímetro foi determinado para os solventes puros (t_0) e soluções (t) de CAB, preparadas nos mesmos solventes a 9 mg mL^{-1} a $(30,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$, e celulose, a $(25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. As amostras de celulose foram dissolvidas durante 24 h em soluções de cuproetilenodiamina, CUEN, (CUEN: água 1:1, v/v) em cinco concentrações.

Os valores de viscosidade relativa (η_{rel}) foram então obtidos através razão t/t_0 e utilizados no cálculo da viscosidade inerente (η_{inh}) a partir da equação (1), onde C é a concentração do polímero (g dL^{-1}). A viscosidade intrínseca $[\eta]$ foi obtida do coeficiente linear do gráfico de η_{inh} em função da concentração das soluções de celulose. Os valores de DP foram então calculados substituindo os valores de $[\eta]$ na equação modificada de Mark-Houwink-Sakurada [ASTM D1795-94, 2001; OGEDA, 2011]:

$$\eta_{\text{inh}} = \ln (\eta_{\text{rel}}) / C \quad (1)$$

$$\text{DP}^{0,905} = 0,75 \times [\eta] \quad (2)$$

5.2.2. Estabilidade coloidal das dispersões de CNC

A estabilidade coloidal dos CNCs, CNCm e CNCa dispersos em solventes puros (AE, DMF e THF), ou em soluções de CAB-381-0,5 nos mesmos solventes, foi avaliada usando o analisador de separação de fases LUMiReader 416-1 GmbH (Alemanha), utilizando fonte de emissão de luz de infravermelho próximo (NIR). Para isso, uma cubeta cilíndrica de vidro ($\varnothing = 10$ mm) foi preenchida com 4 mL de dispersão e selada. O comportamento coloidal foi monitorado a (30 ± 2) °C utilizando o *software* SEP View 4.01, o qual registrou a integral normalizada da luz transmitida em função do tempo. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

5.2.3. Elipsometria

Medidas elipsométricas foram feitas para determinar a espessura de filmes finos de ésteres de celulose. Utilizou-se o elipsômetro vertical controlado por computador DRE-EL02 (Alemanha). O ângulo de incidência foi mantido em $70,0^\circ$ e o comprimento de onda, λ , do laser He-Ne em 632,8 nm. Para a interpretação dos dados, o modelo multicamadas composto por substrato, camada desconhecida e meio circundante teve de ser utilizado. Então, a espessura (d_x) e índice de refração (n_x) da camada desconhecida pode ser calculada pelos ângulos elipsométricos, Δ e Ψ , usando a equação elipsométrica fundamental e cálculos iterativos com matrizes de Jones [AZZAM & BASHARA, 1987]:

$$e^{i\Delta} \tan \Psi = R_p/R_s = f(n_k, d_k, \lambda, \phi) \quad (3)$$

onde R_p e R_s são os coeficientes de reflexão geral para as ondas paralelas e perpendiculares. Elas são a função do ângulo de incidência ϕ , comprimento de onda λ da radiação, do índice de reflexão e da espessura de cada camada do modelo, n_k , d_k .

Primeiramente, a espessura da camada nativa de SiO₂ das lâminas de silício foi determinada em ar, utilizando o índice de refração para Si como sendo $\tilde{n} = 3,88 - i0,018$ [PALIK, 1985] e a espessura como sendo infinita. Para o meio circundante (ar) o índice de refração foi considerado como 1,00. Por causa da camada de SiO₂ ser muito fina, seu índice de refração foi ajustado para 1,462 [PALIK, 1985] e assim a espessura foi calculada. A espessura principal da camada nativa de SiO₂ chega a (2,2±0,2) nm. Desta forma, a espessura dos filmes de polímeros (d_{ELLI}) foi determinada em ar, considerando o índice de refração nominal indicado na Tabela 1.

5.2.4. Ângulo de contato

O grau de molhabilidade dos filmes de ésteres de celulose feitos por *spin-coating* foi avaliado por medidas de ângulo de contato (θ). O método escolhido foi o da gota sésil (estático), que consiste em depositar um dado líquido em uma superfície homogênea e medir o ângulo de interface formado entre o sólido, líquido e o vapor do líquido depositado. As medidas foram feitas a (25±1) °C em um aparato montado conforme Adamson [1990] e medidas em gotas de 8 µL de água destilada. As medidas foram feitas em triplicata.

5.2.5. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Curvas de DSC de filmes de ésteres de celulose puros ou contendo diferentes teores de surfactantes Tween, obtidos por *casting*, foram obtidas num equipamento TA-DSC Q10V9.0. Os recipientes de Al foram preenchidos com ~3 mg de cada amostra, fechados e prensados. Sob atmosfera dinâmica de N₂ (50 mL min⁻¹) as amostras foram aquecidas e resfriadas à taxa de 10 °C min⁻¹, na faixa de temperatura de -80 a 200 °C. Recipientes vazios foram usados como referência. O segundo aquecimento foi utilizado

para a determinação da temperatura de transição vítrea (T_g) das amostras. A célula de DSC foi calibrada com Índio (In) ($T_f = 157\text{ }^\circ\text{C}$; $\Delta H_{fus} = 28,54\text{ J g}^{-1}$) e Zinco (Zn) ($T_f = 420\text{ }^\circ\text{C}$). Observou-se que o desvio padrão para as triplicatas foi de $1\text{ }^\circ\text{C}$.

5.2.6. Microscopia de força atômica (AFM)

Medidas de AFM foram realizadas utilizando o equipamento PICO SPM-LE – Molecular Imaging (EUA) no modo contato intermitente, no ar e em temperatura ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$), utilizando *cantilever* de silício com frequência de ressonância aproximada de 320 kHz. As áreas varridas foram de $(5 \times 5)\text{ }\mu\text{m}^2$ e $(2 \times 2)\text{ }\mu\text{m}^2$, obtidas com uma resolução de 512x512 pixels. O processamento das imagens e a determinação da rugosidade (RMS – *root mean square*) foram feitos utilizando o *software* Pico Scan. Para cada amostra foram analisados no mínimo dois filmes obtidos por *spin-coating*, em diferentes áreas. Para a determinação da espessura dos filmes (d_{AFM}), os mesmos foram riscados com uma lâmina afiada e o material polimérico remanescente foi retirado com jato seco de N_2 . Em seguida as distâncias pico-vale nas micrografias foram medidas pelos *softwares* Pico Scan e Origin, como demonstrado na Figura 6.

Figura 6. Ilustração da determinação da espessura dos filmes por AFM através da medição da distância pico-vale em uma micrografia $(2 \times 2)\text{ }\mu\text{m}^2$ obtida de um filme de éster de celulose

5.2.7. Ensaios mecânicos

As propriedades mecânicas de filmes de ésteres de celulose reforçados com nanocristais de celulose, assim como de *beads* de celulose foram avaliadas através de ensaios de tração e de tensão, respectivamente.

No primeiro caso, os filmes de EC obtidos por evaporação de solvente foram avaliados usando o instrumento DMA Q800 da TA Instruments (EUA), operando no modo DMA de força controlada para ensaio de tração. Os parâmetros de análises foram configurados com uma isoterma de 5 min a $(30,0 \pm 0,7)$ °C, rampa de força a taxa de 2,0 N min⁻¹ e carga máxima de 18,0 N. Amostras retangulares de 6,3 mm de largura por 18 mm de comprimento por $0,10 \pm 0,02$ mm de espessura foram obtidas cortando os filmes de nanocompósitos com uma lâmina afiada. A espessura foi determinada por um micrômetro digital Swiss Pro-Max Fowler NSK, mod. S225. Ao menos três amostras de cada composição foram testadas. Os valores de módulo de Young e resistência à tração foram obtidos de curvas tensão *versus* deformação, usando o *software* Universal Analysis 2000, fornecido pela TA Instruments.

Os testes de compressão dos *beads* de celulose molhados foram realizados utilizando um Digital Dynamometer IP-90DI, Impac com uma célula de carga de 10 N e à 25 °C. A força de compressão necessária para provocar a deformação de 5% do tamanho original de um único *bead* foi medido com taxa de deformação de 0,01 s⁻¹, e, após o intervalo de 30 s, foi feita a próxima compressão até que foi observada alguma falha na esfera de celulose. Os cálculos de pressão e de resistência à compressão final foram realizados utilizando os valores de raio obtidos como descrito na próxima seção.

5.2.8. Determinação de massa, tamanho e forma dos *beads*

A massa dos *beads* molhados e liofilizados foi obtida da média de pelo menos 25 *beads*. As esferas de celulose foram retiradas do recipiente de armazenamento preenchido com água destilada, levemente secos utilizando papel absorvente, a fim de remover o menisco de água, e depois pesados em uma balança de 5 dígitos.

Tamanho e forma dos *beads* foram obtidos como descrito a seguir. Pelo menos 250 *beads* molhados foram colocados em uma placa de Petri ($\varnothing = 15$ cm) e em seguida digitalizados com o auxílio de um digitalizador convencional. Essas imagens foram então convertidas em imagens binárias e processadas utilizando o *software* ImageJ. Os parâmetros circularidade e diâmetro ($\varnothing$) foram obtidos diretamente dessas análises.

5.2.9. Titulação potenciométrica

A quantificação das cargas negativas dos BC e BCO foi feita por titulação potenciométrica [DE NOOY, *et al.*, 1994-1995; HIROTA, *et al.*, 2009a; ARAKI, *et al.*, 2001]. Primeiro, a massa de *beads* equivalente a ~ 1 g de celulose seca foi adicionada a um Béquer contendo 100 mL de NaCl 1 mmol L^{-1} e, posteriormente, trituradas com o auxílio de um processador manual até que uma suspensão homogênea fosse obtida. Em seguida, o pH da mistura foi ajustado para 2,75 pela adição de um volume conhecido de solução padrão de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando um dosador automático. O sistema de titulação automático Metrohm 718 STAT Titrino foi utilizado para titular as dispersões de celulose com uma solução padrão de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, a uma taxa de $0,1 \text{ mL min}^{-1}$ até atingir pH 11. A dispersão resultante foi colocada em uma estufa a 100°C *overnight* e, em seguida, o material foi pesado. A massa obtida foi utilizada nos cálculos de densidade de carga dos *beads*.

5.2.10. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Morfologias internas e externas de BC e BCO liofilizados (em água e em terc-butanol) foram analisados por MEV usando microscópio de emissão de campo JEOL 7401 (FE-SEM). Os *beads* foram cuidadosamente cortados ao meio com uma lâmina afiada após serem liofilizados e então revestidos com uma fina camada de ouro (~2 nm).

5.2.11. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O rendimento da conversão de PVP em QPVP-C5 foi avaliado por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier vibracional (FTIR) no equipamento Bohmen MB100, no modo transmissão, resolução de 4 cm⁻¹. A banda de absorção típica da piridina, 1600 cm⁻¹, que é atribuída a vibrações de estiramento C=N ($\nu_{C=N}$), foi utilizada na caracterização (Figura 30). À medida que o N da piridina reage com o 1-bromopentano, a banda se desloca para uma região de energia mais elevada, ou seja, 1640 cm⁻¹, que é característica da piridina quaternária formada na cadeia lateral de PVP.

Essa técnica também foi utilizada no modo de reflexão total atenuada (FTIR-ATR) para confirmar a presença do QPVP-C5 nas amostras liofilizadas de BC e BCO antes e após a adsorção do polícatión (Figura 30). Os espectros de IV foram registrados em um iS50 Nicolet acoplado a um cristal de diamante com resolução espectral de 4 cm⁻¹, de onde obtiveram-se 32 varreduras por amostra. *Background* foi feito do ar. Pelo menos três amostras foram medidas em triplicata.

5.2.12. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

A quantificação do QPVP-C5 adsorvido e dessorvido das amostras de BC e BCO foi feita utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV 2600 UV-Vis e cubetas de quartzo. Para tal, a concentração inicial e final do polícatión nas soluções foi medida pela

intensidade de absorção em 256,5 nm, que corresponde à absorção máxima dos grupos piridínio do polycation devido a transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$. A quantidade de QPVP-C5 adsorvido ($\Gamma_{\text{QPVP-C5}}$) foi então determinada através de uma curva de calibração obtida a partir de cinco concentrações da amostra, 0,005; 0,01; 0,025; 0,05 e 0,075 mg mL⁻¹.

A ação antimicrobiana de amostras de *beads* também foi avaliada utilizando esta técnica. A turbidez das dispersões de bactéria foi monitorada antes (τ_i) e depois (τ_f) do contato com os *beads* no comprimento de onda em 650 nm, a 25 °C, usando o equipamento Coulter Beckmann DU-600. A diminuição relativa da turbidez ($\Delta\tau$) pode ser correlacionada com o decréscimo da concentração de bactérias na dispersão:

$$\Delta\tau = (\tau_f - \tau_i) / (\tau_i) \times 100 \% \quad (4)$$

5.2.13. Análise elementar CHN e espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

A análise da composição elementar dos *beads* liofilizados antes e após o contato com as bactérias foi executada utilizando um equipamento Perkin Elmer - 2400 CHN Elemental Analyzer para determinação C/H/N e um espectrômetro Spectro-Arcos ICP-OES Ciros CCD para o teor de fósforo.

5.2.14. Espectroscopia de fotoelétrons emitidos por raios-X (XPS)

A caracterização superficial dos *beads* de celulose foi feita por XPS. As análises foram realizadas para os *beads* liofilizados, contendo ou não QPVP-C5, em um instrumento Physical Electronics PHI Quantum 2000 XPS equipado com fonte de raios-X Al $K\alpha$ monocromático, (as análises foram feitas pela equipe do Professor Dr. Pedro Fardim, Åbo Akademi, Finlândia). Três pontos diferentes foram analisados em cada amostra. Fotoelétrons foram coletados por meio de um detector de elétrons com a

passagem de energia 187 eV – *step size* 1,6 eV, no modo *survey* de baixa resolução (Figura 7a), e 46,95 eV – *step size* 0,4 eV, em alta resolução no modo C 1s (Figura 7b). As razões O/C e N/C foram determinadas a partir dos espectros XPS de baixa resolução. Os espectros C 1s de alta resolução foram deconvoluídos em curvas parciais C1, C2, C3 e C4 usando o *software* fornecido pelo fabricante do instrumento, conforme demonstrado na Figura 7b. As seguintes energias de ligação relativas à posição C-C foram utilizados para os respectivos grupos: C1 a 284,8 eV, +1,7±0,2 eV para C-O (C2), +3,1±0,3 eV para C=O ou O-C-O (C3), e +4,6±0,3 eV para grupos O=C-O (C4).

Figura 7. Espectros de XPS obtidos (a) no modo *survey* de baixa resolução (187 eV) e (b) em alta resolução no modo C 1s, de amostras de beads de celulose oxidada (BCO7%)

6. RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES PARCIAIS

6.1. Efeito da umidade relativa e do vapor do solvente nos filmes de ésteres de celulose

6.1.1. Efeito da umidade relativa na morfologia dos filmes

Durante o processo de *spin-coating* o solvente orgânico volátil evapora, arrefecendo a região perto da superfície e favorecendo a condensação do vapor de água na forma de gotículas na superfície da solução. Assim, como a maior parte dos polímeros sintéticos são insolúveis em água, as cadeias poliméricas são segregadas a partir de gotas de água (Figura 8). No final do processo de *spin-coating*, o que leva tipicamente 30 segundos, as gotas de água evaporam-se, deixando o volume ocupado livre. Este processo gera padrões de filmes com poros ou cavidades na superfície. Assim, os valores mais elevados de UR favorecem a formação de cavidades maiores na superfície, enquanto que os valores baixos de UR devem produzir cavidades muito pequenas ou superfícies lisas sem nenhuma cavidade.

Figura 8. Representação esquemática de formação dos *breath figures* a partir do processo de *spin-coating*

A Figura 9 mostra imagens topográficas de AFM com as respectivas seções transversais obtidas para filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos por *spin-coating* em

UR de $(35 \pm 5)\%$. Os filmes de CAPH, CAB e CMCAB são homogêneos e lisos (Figura 9b, c e d), com valores de RMS que variam de $(0,3 \pm 0,1)$ nm a $(0,5 \pm 0,1)$ nm, como mostrado na Tabela 5. Para comparação, lâminas de Si/SiO₂ apresentam valor de RMS de $(0,10 \pm 0,02)$ nm [PETRI, *et al.*, 1999]. Por outro lado, os filmes de CA apresentaram pequenas cavidades distribuídas na superfície, o que aumentou os valores de RMS para $(8,0 \pm 0,5)$ nm. Isso acontece porque, com base nas componentes polares da energia superficial, entre todos os ésteres de celulose utilizados neste estudo o CA é o que tem a maior afinidade com a água [KOSAKA, *et al.*, 2009], e a mais alta massa molar numérica média (Tabela 4).

Tabela 5. Valores médios de espessura obtidos por elipsometria (d_{ELLI}) e AFM (d_{AFM}), e de rugosidade (RMS) determinados por AFM para filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos por *spin-coating*, em UR de $(35 \pm 5)\%$ $(55 \pm 5)\%$ e $(75 \pm 5)\%$. Os valores de desvio-padrão derivam de medições realizadas em diferentes áreas do filme usando pelo menos dois filmes para a mesma amostra de éster de celulose

Amostra	UR (%)	RMS (nm)	d_{ELLI} (nm)	d_{AFM} (nm)
CA	35	$8,0 \pm 0,5$	86 ± 1	88 ± 1
	55	$18,5 \pm 0,8$	116 ± 3	117 ± 2
	75	32 ± 1	131 ± 2	133 ± 2
CAPH	35	$0,5 \pm 0,1$	$56,8 \pm 0,6$	54 ± 2
	55	$9,5 \pm 0,3$	72 ± 2	$67,0 \pm 0,9$
	75	$14,6 \pm 0,6$	82 ± 1	90 ± 3
CAB	35	$0,3 \pm 0,1$	71 ± 1	68 ± 2
	55	$6,5 \pm 0,3$	86 ± 2	85 ± 2
	75	26 ± 1	96 ± 1	112 ± 1
CMCAB	35	$0,4 \pm 0,1$	50 ± 1	53 ± 1
	55	$22,2 \pm 0,9$	70 ± 2	75 ± 2
	75	$40,7 \pm 0,5$	86 ± 1	102 ± 3

Quanto mais hidrofílico e viscoso o meio, maior é o contato com as gotas de água. A formação de cavidades ocorre por condensação do vapor na superfície do fluido considerado frio [LIMAYE, *et al.*, 1996], porém a afinidade do polímero pela água (hidrofilicidade) também parece desempenhar um papel importante nas características resultantes. Os valores de ângulo de contato (θ) determinados para gotas de água sobre filmes de CA e CAPH foram semelhantes $(59\pm1)^\circ$ e $(58\pm1)^\circ$, respectivamente, mas menores do que os medidos para CAB e CMCAB, $(69\pm1)^\circ$ e $(68\pm1)^\circ$, respectivamente. Esses resultados corroboram com os componentes polares da energia superficial do CA, CAPH, CAB e CMCAB reportados como $6,7 \text{ mJ m}^{-2}$, $5,3 \text{ mJ m}^{-2}$, $2,6 \text{ mJ m}^{-2}$ e $2,6 \text{ mJ m}^{-2}$, respectivamente [KOSAKA, *et al.*, 2009].

A Tabela 4 e Figura 10 mostram os valores médios de espessura obtidos por elipsometria (d_{ELLI}) e AFM (d_{AFM}) para filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos por *spin-coating*, em UR de $(35\pm5)\%$, $(55\pm5)\%$ e $(75\pm5)\%$. Algumas tendências gerais podem ser deduzidas a partir destes dados:

- (i) Os valores médios de espessura d_{ELLI} e d_{AFM} obtidos a partir de ambas as técnicas são consistentes. O maior desvio entre eles, $\sim 20\%$, foi observado para os filmes de CMCAB produzidos em UR de $(75\pm5)\%$;
- (ii) Valores de UR mais elevados para um mesmo éster de celulose levam a filmes mais espessos, porque mais gotículas de água são condensadas, criando mais espaços vazios sobre a superfície que deslocam material polimérico e causam um aumento de espessura;
- (iii) As cavidades mais profundas e com valores de diâmetro maiores foram observadas para CAB e CMCAB, que apresentam $DS_{\text{Bu}} = 1,8$ e $1,6$, respectivamente, e, portanto, caráter mais hidrofóbico, conforme indicado pelos valores de ângulo de contato.

Figura 9. Imagens topográficas de AFM com as correspondentes seções transversais obtidas para os filmes de (a) CA, (b) CAPH, (c) CAB e (d) CMCAB obtidos por *spin-coating* a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, com UR de $(35 \pm 5)\%$

As cavidades observadas em filmes de CA preparados em UR de $(35\pm5)\%$ (Figura 9a) apresentaram ~ 25 nm de profundidade e, considerando que os filmes possuíam (87 ± 1) nm de espessura, não alcançaram as lâminas de silício.

O aumento da UR de $(35\pm5)\%$ para $(55\pm5)\%$ durante o processo de *spin-coating* levou à formação e/ou aumento no número de cavidades nas superfícies dos filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB, como apresentado nas Figuras 7a, b, c e d, respectivamente. Ao se comparar a profundidade das cavidades com os valores médios de espessura, verificou-se que as cavidades atingiram as lâminas de Si apenas nos filmes CMCAB, que eram os filmes mais rugosos entre eles. Com o aumento da UR, poros ou cavidades apareceram com mais frequência e se tornaram maiores, aumentando os valores de RMS, como reportado por Park, *et al.* [2006], Gliemann, *et al.* [2007] e Liu, *et al.* [2009]. Este efeito é mais pronunciado para os filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos em UR de $(75\pm5)\%$, como mostrados nas Figuras 8a, b, c e d, respectivamente. Em todos os filmes as cavidades atingiram a superfície do substrato, aumentando significativamente os valores de RMS (Tabela 5). Uma consequência disso é a geração de filmes anti-reflexo. Por exemplo, para os filmes preparados em UR de 75%, a perda de luz refletida medida por meio de elipsometria utilizando lâminas de Si como referência equivaleram a $(40\pm5)\%$, no caso dos filmes de CA e CMCAB, e $(16\pm7)\%$ para filmes de CAB e CAPH.

Figura 10. Gráficos dos valores médios de espessura determinados por (a) elipsometria (d_{ELLI}) e (b) AFM (d_{AFM}) para CA, CAPH, CAB e CMCAB filmes obtidos por *spin-coating* com UR de $(35\pm5)\%$ $(55\pm5)\%$ e $(75\pm5)\%$

Figura 11. Imagens topográficas de AFM com as correspondentes seções transversais obtidas para os filmes de (a) CA, (b) CAPH, (c) CAB e (d) CMCAB obtidos por *spin-coating* a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, com UR de $(55 \pm 5)\%$

Figura 12. Imagens topográficas de AFM com as correspondentes seções transversais obtidas para os filmes de (a) CA, (b) CAPH, (c) CAB e (d) CMCAB obtidos por *spin-coating* a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, com UR de $(75 \pm 5)\%$

Estudos encontrados na literatura mostraram que o equilíbrio entre as energias superficiais da água (γ_{H_2O}), solvente (γ_S) e energia interfacial entre a água e o solvente ($\gamma_{H_2O/S}$), expressado como z_0 , determina a profundidade em que as gotas de água penetram na solução do polímero durante a formação de "*breath figures*" [BOLOGNESI, *et al.*, 2005]:

$$z_0 = (\gamma_{H_2O} - \gamma_{H_2O/S}) / \gamma_S \quad (5)$$

quando $z_0 > 1$, as gotas de água penetram na solução de polímero, dando origem a cavidades multicamadas no filme resultante. Por outro lado, se $z_0 < 1$, é esperado que as gotas de água flutuem na solução de polímero, dando origem a cavidades rasas. Para o presente estudo, z_0 foi calculada como $\sim 2,8$, considerando $\gamma_{H_2O} = 72,8 \text{ mJ m}^{-2}$, $\gamma_{THF} = 26,4 \text{ mJ m}^{-2}$ e $\gamma_{H_2O/THF} = 0$. Assim, cavidades multicamadas esperadas em alta UR foram confirmadas pelas análises de seção transversal realizadas para os filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos em UR de 75% da Figura 12.

6.1.2. O efeito do vapor de tetrahidrofurano na morfologia dos filmes

A fim de se investigar a obtenção de filmes lisos e homogêneos a partir de filmes nanoestruturados, foi avaliado o efeito plastificante do vapor do solvente (THF - utilizado para o preparo das soluções de EC), nos filmes de EC obtidos por *spin-coating* preparados em UR de $(55 \pm 5)\%$. Esses filmes foram expostos ao vapor de THF durante 3, 6 ou 720 minutos à 25 °C. A UR de $(55 \pm 5)\%$ foi escolhida porque representa a condição mais comum encontrada em laboratório.

Figuras 9a, b e c mostram as imagens topográficas de AFM obtidas de filmes de CA expostos ao vapor de THF durante 3 min, 6 min e 720 min, respectivamente. Em comparação com os filmes de CA observados logo após sua preparação (Figura 11a) e

depois de 3 minutos, a morfologia (Figura 9a), a espessura e RMS foram similares (Tabela 5). Depois de 6 min de exposição, os valores de RMS dos filmes de CA diminuíram de (22 ± 1) nm para $(0,6\pm0,2)$ nm (Tabela 5) e as cavidades deixaram de atingir as lâminas de silício, porém, seu diâmetro foi aumentado.

Figura 13. Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CA preparados em UR de $(55\pm5)\%$ a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

Tabela 6. Valores médios de espessura obtidos por elipsometria (d_{ELLI}) e AFM (d_{AFM}) e de rugosidade (RMS) determinados por AFM para filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB preparados por *spin-coating* a UR de $(55 \pm 5)\%$ a partir de soluções em THF, depois da exposição ao vapor de THF durante 3 min, 6 min ou 720 min. Os valores de desvio-padrão derivam de medições realizadas em diferentes áreas dos filmes e usando pelo menos dois filmes para a mesma amostra de éster de celulose

Amostra	Tempo (min)	RMS (nm)	d_{ELLI} (nm)	d_{AFM} (nm)
CA	0	$18,5 \pm 0,8$	116 ± 3	117 ± 2
	3	22 ± 1	115 ± 2	116 ± 2
	6	$0,6 \pm 0,1$	$114,0 \pm 1,0$	116 ± 1
	720	$0,8 \pm 0,2$	$114,0 \pm 1,0$	$116,0 \pm 0,9$
CAPH	0	$9,5 \pm 0,3$	72 ± 2	$67,6 \pm 0,9$
	3	$0,8 \pm 0,1$	71 ± 2	$65,5 \pm 0,8$
	6	$0,5 \pm 0,1$	70 ± 2	$65,5 \pm 0,9$
	720	$0,4 \pm 0,1$	$70,0 \pm 1,0$	65 ± 1
CAB	0	$6,5 \pm 0,3$	86 ± 2	85 ± 2
	3	$0,4 \pm 0,1$	85 ± 2	85 ± 1
	6	$0,4 \pm 0,1$	84 ± 1	85 ± 1
	720	$1,0 \pm 0,1$	84 ± 2	$84,0 \pm 0,9$
CMCAB	0	$22,2 \pm 0,9$	75 ± 2	70 ± 2
	3	$0,5 \pm 0,1$	74 ± 1	69 ± 1
	6	$1,0 \pm 0,1$	73 ± 1	$69,5 \pm 0,7$
	720	$0,3 \pm 0,1$	73 ± 1	69 ± 1

Após 720 minutos de exposição, a rugosidade e os valores médios de espessura determinados para filmes de CA mantiveram-se praticamente os mesmos dos com 6 min de exposição. Por outro lado, foi observado o aparecimento de regiões descontínuas nos filmes as quais são resultantes do fenômeno conhecido como retração ou *dewetting*. Isso ocorre porque durante o processo de *spin-coating* as cadeias poliméricas não têm tempo hábil para se rearranjarem e atingirem a sua conformação mais estável devido à evaporação abrupta do solvente. Quando filmes ultrafinos (<100 nm) são submetidos a

processos que permitem a relaxação das cadeias do polímero, essas por sua vez podem fluir ou se deformarem de modo a se tornarem termodinamicamente mais estáveis e, quando o trabalho de coesão é maior que o de adesão, ocorre a formação de ilhas ou buracos [KOSAKA, *et al.*, 2009; RAMANATHAN & DARLING, 2011; PAENG, *et al.*, 2011].

Kosaka e colaboradores [2009], mostraram ser possível prever a ocorrência de *dewetting* em filmes de EC ao se relacionar os valores da constante de Hamaker (A) determinados para os polímeros e para o substrato. Essa constante é inferida com base nos valores de energia superficial dos componentes e correlaciona as interações do tipo Van der Waals entre duas moléculas e a densidade do material. Quando as interações polímero/polímero ($A_{\text{poli/poli}}$) são inferiores às polímero/substrato ($A_{\text{poli/substrato}}$), é esperado o fenômeno de retração.

Ao utilizar os valores de ($A_{\text{poli/poli}}$) determinados pelos autores para os EC, $8,44 \cdot 10^{-20}$, $8,55 \cdot 10^{-20}$, $7,16 \cdot 10^{-20}$ e $6,80 \cdot 10^{-20}$ J para CA, CAPH, CAB e CMCAB, respectivamente, e para $A_{\text{poli/substrato}} = 7,20 \cdot 10^{-20}$ J [KOSAKA, *et al.*, 2009], verificou-se que essas projeções corroboram com os dados experimentais, exceto para CAPH. Os polímeros CAB e CMCAB possuem valores de $A_{\text{poli/poli}}$ inferiores que $A_{\text{poli/substrato}}$, e, portanto, não foi observado *dewetting*. Para o CA, as forças de coesão prevalecem resultando no efeito da retração ($A_{\text{poli/poli}} > A_{\text{poli/substrato}}$). Embora CAPH também apresente $A_{\text{poli/poli}}$ maior do que $A_{\text{poli/substrato}}$, não foi observado retração do filme. Este efeito é provavelmente devido à baixa mobilidade das cadeias CAPH causada pelos grupos laterais rígidos (grupos ftalato). Filmes de copolímeros à base de metacrilato apresentaram efeito de retração similar após 60 min, 120 min ou 240 min de exposição ao vapor de clorofórmio [SORDI, *et al.*, 2010].

Figura 14. Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CAPH preparados em UR de $(55 \pm 5)\%$ a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

Figura 15. Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CAB preparados em UR de $(55 \pm 5)\%$ a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

Figura 16. Imagens topográficas de AFM com suas respectivas seções transversais obtidas de filmes de CMCAB preparados em UR de $(55\pm5)\%$ a partir de soluções 10 mg mL^{-1} em THF, e posteriormente expostas ao vapor de THF durante (a) 3 min, (b) 6 min e (c) 720 min

A Figura 14a mostra que as cavidades se mantiveram nos filmes de CAPH após exposição ao vapor de THF durante 3 min. No entanto, depois de 6 minutos as cavidades praticamente desapareceram (Figura 14b), resultando em valores de RMS muito baixos, $(0,5\pm0,1)$, como mostrado na Tabela 5. Após exposição mais prolongada (720 min) nenhuma alteração nas propriedades dos filmes de CAPH foram observadas,

apresentando-se planos e homogêneos (Figura 14c). Já nos casos do CAB e CMCAB, Figura 15a e Figura 16a, respectivamente, as cavidades desapareceram e as superfícies tornaram-se planas, $RMS \sim (0,5 \pm 0,1)$, logo após de 3 minutos de exposição.

As superfícies dos filmes de CAB e CMCAB assemelharam-se aos preparados em UR de $(35 \pm 5)\%$, os quais são mostrados nas Figuras 5c e d, respectivamente. Este efeito pode ser explicado com base na elevada mobilidade das cadeias de polímero na camada superior do filme [PAENG, *et al.*, 2011]. Da mesma forma que as gotas de água condensam na superfície do polímero criando “*breath figures*”, o vapor de THF condensa sobre a superfície, dissolvendo a camada superficial do filme polimérico, proporcionando mobilidade para elas, de uma forma semelhante como um plastificante faz. Além disso, a presença inicial de espaços vazios permite as moléculas de THF fluírem para dentro do filme, levando ao nivelamento da superfície.

Assim, o tempo de exposição necessário para a superfície se tornar lisa parece ser diretamente proporcional a massa molar numérica média do polímero. Para os filmes de CAB e CMCAB, que apresentam os menores valores de $\overline{M}_n$ (Tabela 1), a exposição de 3 minutos em vapor de THF foi suficiente para se obter um filme plano. Por outro lado, para os filmes de CAPH foi necessário pelo menos 6 minutos para o alisamento da superfície. Expondo CAB (Figura 15b) e CMCAB (Figura 16b) ao vapor de THF por 6 minutos ou mais não causaram quaisquer alterações morfológicas significativas após terem se tornado muito lisos ($RMS < 1,0$ nm) e homogêneos.

A Tabela 5 mostra a média dos valores das espessuras d_{ELLI} e d_{AFM} determinados para os filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos por *spin-coating* em UR de $(55 \pm 5)\%$ logo após o preparo e após 3, 6 ou 720 minutos de exposição ao vapor de THF. O maior desvio entre os valores d_{ELLI} e d_{AFM} foi inferior a 10%. O decréscimo dos valores de d_{ELLI} e d_{AFM} pela exposição ao vapor de THF corresponderam no máximo a 2 nm, indicando que

principalmente as cadeias localizadas nas camadas superiores dos filmes ganharam mobilidade e sofreram rearranjos morfológicos.

6.1.3. Conclusões

A morfologia dos filmes de CA, CAPH, CAB e CMCAB obtidos por *spin-coating* de soluções em THF foi controlada pela variação da UR. Em valores baixos de UR ($35\pm 5\%$), a formação de cavidades, causada pela condensação do vapor de água, dependeu das características moleculares dos polímeros. Nanoestruturação foi observada apenas em filmes de CA, o qual é o mais hidrofílico e tem a maior massa molar entre todas as amostras estudadas. Em valores intermediários de ($55\pm 5\%$), as cavidades foram observadas em todas as superfícies. Aumentando a UR ($75\pm 5\%$), as gotículas de água condensada penetraram nas soluções poliméricas durante a formação dos filmes, gerando cavidades mais profundas (*breath figures*) em todos os filmes de ésteres de celulose, e que foram controladas principalmente pelo balanço entre a energia superficial da água, THF e energia interfacial entre água e THF, não tendo nenhuma influência nas características moleculares de polímeros. A mobilidade das cadeias de ésteres de celulose nas camadas superiores dos filmes foi favorecida pela exposição ao vapor de THF. Essa mobilidade causou mudanças significativas na morfologia do filme. No caso de filmes de CA, que são termodinamicamente instáveis, foi observado *dewetting* após 6 minutos de exposição ao vapor de THF. Por outro lado, as estruturas porosas observados para CAPH, CAB e CMCAB tornaram-se lisas e homogêneas depois de apenas 3 min de exposição ao vapor de THF. Neste estudo foi demonstrado que as características morfológicas de filmes de ésteres de celulose, que têm um grande campo de aplicação como materiais de revestimento, podem ser facilmente adaptadas pelas condições do ambiente onde os filmes são formados ou por rápida exposição ao vapor do solvente.

6.2. Efeito de surfactantes a base de sorbitano na temperatura de transição vítrea de ésteres de celulose

6.2.1. Temperatura de transição vítrea dos ésteres de celulose e surfactantes

A fim de ter uma visão sobre a miscibilidade entre ésteres de celulose e surfactantes à base de sorbitano, análises de DSC foram realizadas para ésteres puros e para misturas EC/Tween. As curvas de DSC registradas para os ésteres de celulose puros são mostrados na Figura 17a. Os valores de T_g para CAB, CMCAB, CAPH e CA foram determinados como sendo 113 °C, 141 °C, 155 °C e 185 °C, respectivamente. Esses valores são ligeiramente diferentes daqueles fornecidos pelo fabricante (Tabela 1), o que possivelmente deve-se a diferença nas condições empregadas e/ou técnica usada na determinação da T_g . O maior valor de T_g que foi encontrado para o CA, seguido pelo CAPH, pode ser explicado pelo tamanho dos grupos substituintes e pelas interações intermoleculares entre as cadeias de polímero. O CA possui grupos funcionais menores e uniformes possibilitando maior proximidade entre as cadeias e, consequentemente, um empacotamento mais denso, conferindo ao material alta rigidez e T_g elevada. Por outro lado, embora o CAPH possua grupos laterais volumosos, estão presentes fortes interações intra e intermoleculares entre suas cadeias devido à transferência de elétrons π da nuvem eletrônica do anel aromático para o vizinho mais próximo, o que causa relativamente baixa flexibilidade das mesmas. No que diz respeito aos valores de T_g determinados para CAB e CMCAB, percebe-se que a presença de um grupo carboximetil na estrutura de polímero aumentou a T_g em 30 °C. Este achado é bastante interessante porque mostra que, mesmo no caso de baixo grau de substituição ($DS_{CM} = 0,33$), a inserção de grupos polares, como os ácidos carboxílicos ao longo da cadeia diminui a mobilidade molecular devido as interações intermoleculares do tipo ligação de H e, por

consequente, aumenta a temperatura de transição vítrea do polímero. Os valores de T_g determinados para CAB, CMCAB, CAPH e CA podem ser correlacionados com os seus valores de energia superficial, que equivalem a $46,6 \pm 0,3 \text{ mJ m}^{-2}$, $51,9 \pm 0,3 \text{ mJ m}^{-2}$, $64,1 \pm 0,6 \text{ mJ m}^{-2}$ e $65,4 \pm 0,6 \text{ mJ m}^{-2}$ respectivamente [KOSAKA, *et al.*, 2009]. Interações intermoleculares fortes resultam em altos valores de energia superficial e de T_g , levando à seguinte sequência: CAB < CMCAB < CAPH < CA. Eventos relacionados com a cristalização ou a fusão não puderam ser observados para estes ésteres de celulose dentro da faixa de temperatura utilizada.

Figura 17. Termogramas obtidos por DSC de (a) ésteres de celulose puros e (b) surfactantes Tween 20, Tween 40 e Tween 60 puros

As curvas de DSC obtidos para Tween 20, Tween 40 e Tween 60 (Figura 17b) evidenciam que todas as três amostras apresentaram $T_g -61 \text{ °C}$. A estrutura ramificada da cabeça polar do Tween aumenta o volume livre e, por conseguinte, diminui a T_g para um valor baixo. Isso também explica a natureza líquida de surfactantes sob condição ambiente. No entanto, Tween 20, Tween 40 e Tween 60 fundiram em diferentes valores de T_f : Tween 20 a -15 °C (pico) e $\Delta H_f = 33,2 \text{ J g}^{-1}$; Tween 40 a 18 °C (pico) e $\Delta H_f = 22,7 \text{ J g}^{-1}$ e Tween 60 a $22,6 \text{ °C}$ (pico) e $\Delta H_f = 50,26 \text{ J g}^{-1}$. Esta discrepância entre os valores de T_f pode ser devido à presença de cristais de diferentes tamanhos e/ou orientação, tendo

em vista que as caudas hidrofóbicas possuem 12, 16 e 18 carbonos para Tween 20, Tween 40 e Tween 60, respectivamente. Além disso, todas as três amostras são comerciais e podem trazer alguma contaminação remanescente da sua produção. Nenhum pico de decomposição pode ser observado dentro da faixa de temperatura utilizada.

6.2.2. Comportamento térmico e miscibilidade dos filmes de EC/surfactantes

Quando misturados com CA, nenhum dos três surfactantes (Tween 20, Tween 40 e Tween 60), apresentou um considerável efeito plastificante independentemente das proporções estudadas. O alto empacotamento das cadeias de CA, conforme abordado anteriormente seria a razão pela qual as moléculas de polissorbato não se infiltrarem entre as cadeias do polímero. O grande volume dos surfactantes dificultaria sua alocação no volume livre relativamente pequeno das cadeias de acetato. Além disso, estudos sobre a adição de plastificantes com estruturas menores que a dos Tweens (citrato de trietila, por exemplo) no CA indicaram a perda rápida de plastificante do produto durante seu uso devido, talvez, à sua taxa de difusão para superfície [FORDYCE & MEYER, 1940].

Todas as misturas de CAB, CMCAB e CAPH com Tween 20, 40 ou 60 apresentaram apenas um evento de T_g nas curvas de DSC (não mostrados), com exceção de misturas preparadas com CAPH e Tween 60, que apresentaram dois valores de T_g correspondentes aos componentes puros. Os valores experimentais de T_g determinados para misturas de CAB, CMCAB ou CAPH e surfactantes são apresentados na Figura 18a, b e c, respectivamente, juntamente com os valores de T_g correspondentes previstos pela equação de Fox (Equação 6). A equação de Fox é muitas vezes aplicada para estimar o

efeito da composição de misturas que envolvem um polímero e um plastificante ou de um segundo polímero sobre os valores de T_g [BONARDELLI & MOGGI, 1986]:

$$\frac{1}{T_g} \equiv \frac{x_a}{T_{g(a)}} + \frac{x_b}{T_{g(b)}} \quad (6)$$

onde $T_{g(a)}$, e $T_{g(b)}$ indicam a temperatura de transição vítrea do plastificante (surfactante, neste caso) e do polímero, respectivamente, x_a e x_b correspondem a fração em massa do plastificante e do polímero presentes na mistura. Tal comportamento é esperado quando a mistura apresenta comportamento ideal e $\Delta H_{\text{mix}} \sim 0$.

Comparando-se os valores de T_g de ésteres de celulose puros com os determinados para as misturas, observou-se que os valores de T_g diminuíram drasticamente com o aumento do teor de surfactante (Tweens 20, 40 ou 60), conforme demonstrado na Figura 18. Este efeito pode ser devido ao aumento na mobilidade e flexibilidade das cadeias do polímero quando os agentes tensoativos foram incorporados no volume livre do polímero. Comportamento semelhante foi observado para misturas de Tween 80 e polímeros hidrofílicos, comumente usados como componentes farmacêuticos ativos [GRUETZMANN & WAGNER, 2005; GHEBREMESKEL, *et al.*, 2007]. Neste caso, os autores atribuem a redução da T_g à semelhança entre os parâmetros de solubilidade de Hansen do Tween 80 e dos polímeros hidrofílicos [GHEBREMESKEL, *et al.*, 2007].

A equação de Fox descreve bem a variação da T_g para as misturas de CAB e Tween 20 ou Tween 40 a $x \sim 0,30$ de plastificante (Figura 18a). Para $x > 0,30$ desvios negativos são observados. No entanto, no caso das misturas de CAB e de Tween 60, a equação de Fox se adequa apenas aos dados experimentais obtidos com até $x \sim 0,10$ de plastificante e para valores maiores de x os dados experimentais de T_g foram menores do que os dados teóricos. A queda acentuada nos valores de temperatura de transição

vítrea indica a existência de um teor crítico de plastificante na mistura, o que depende do seu tamanho e das interações entre as moléculas do polímero e do plastificante. Até este valor crítico a diminuição da T_g resulta principalmente do aumento da flexibilidade, já que o volume livre foi ocupado pelo plastificante e $\Delta H_{\text{mix}} \sim 0$. Em outras palavras, as cadeias de Tween encrustram-se entre os grupos laterais dos EC de modo que o material se torna flexível. Com o aumento do teor dos plastificantes, as interações intermoleculares polímero-polímero são enfraquecidas proporcionando mobilidade a essas cadeias. Assim, quanto menor for o agente plastificante, maior é o valor crítico de x porque mais moléculas de plastificante podem se organizar no volume livre do polímero. Por esse motivo, no caso de misturas de CAB com Tween 20, Tween 40 ou Tween 60, o menor valor x crítico foi observado para a o surfactante que apresenta a maior molécula (Tween 60). Os desvios negativos observados para os valores de x maiores do que o valor crítico são devido à interação favorável específica ($\Delta H_{\text{mix}} < 0$) entre surfactantes e ésteres de celulose. Os resíduos de óxido de etileno na cabeça polar do Tween podem formar ligações de H com os grupos carbonila e hidroxila do éster de celulose. Feldstein e colaboradores observaram comportamento semelhante para o poli(*N*-vinil pirrolidona) e plastificantes ricos em grupos hidroxila [FELDSTEIN, *et al.*, 2001]. Nesse caso, as ligações de H foram também responsáveis pelos desvios negativos entre os valores experimentais de T_g e os previstos com a equação de Fox.

No caso das misturas de CMCAB e Tween 20, Tween 40 ou Tween 60 (Figura 18b), os valores de x críticos equivalem a $\sim 0,15$ de Tween 20 e $\sim 0,10$ de Tween 40 e Tween 60. Para as misturas de CMCAB com Tween 20 e Tween 40 os valores críticos de x foram menores do que os das misturas com CAB. Uma possível explicação para isto é a redução do volume livre de polímero, devido à presença de grupos de ácido carboxílico no CMCAB. Para $x > 0,30$ todas as misturas contendo CMCAB apresentaram desvios

negativos devido à ligação de H entre os componentes. Em geral, a tendência observada para as misturas de CMCAB com surfactantes foi semelhante à encontrada para as de CAB.

Figura 18. Temperaturas de transição vítrea (T_g) de (a) CAB, (b) CMCAB e (c) CAPH determinadas pela equação de Fox (---) e DSC experimentais em função da fração em massa (x) de surfactantes nas misturas de EC/surfactante

A variação dos valores de T_g determinados para misturas de CAPH e surfactantes em função do teor de Tween 20 ou Tween 40 não pode ser montada com a equação de Fox. Em ambos os casos, os valores de T_g encontrados para as misturas com x variando de 0 a $\sim 0,15$ eram praticamente os mesmos que os determinados para o CAPH puro. No entanto, a $x \sim 0,3$ de Tween 20 e $x \sim 0,2$ de Tween 40 valores de T_g diminuíram abruptamente para $\sim -43^\circ\text{C}$ e $\sim -33^\circ\text{C}$, respectivamente. Estes valores são ligeiramente acima do valor de T_g dos tensoativos puros (-61°C).

Considerando-se que dentro de toda a faixa de composição utilizada um único valor de T_g foi observado, indicando a miscibilidade entre CAPH e Tween 20 ou Tween 40, a explicação mais plausível para este comportamento é a rigidez das cadeias de CAPH. A presença de um grupo ftalato ao longo da cadeia certamente aumenta a duração da persistência e, por conseguinte, em $x < 0,15$ o efeito plastificante na mobilidade da cadeia (diminuição da T_g) é limitado. A queda brusca nos valores de T_g pode resultar do grande volume livre do CAPH causado pelos grupos ftalato volumosos. Assim, a medida que as cadeias se tornam mais flexíveis, moléculas de Tween 20 ou Tween 40 ocupam o grande volume livre e agem como lubrificantes moleculares reduzindo substancialmente o atrito intermolecular.

A quantidade de plastificante adicionados aos polímeros depende, basicamente dos resultados empíricos e aplicações finais [BILLMEYER JR., 1984]. A fim de compreender o efeito do comprimento da cadeia alquílica dos surfactantes sobre os valores de T_g , duas composições foram escolhidas, $x = 0,10$ e $x = 0,30$, Figura 19a e b, respectivamente. No primeiro caso, os valores experimentais de T_g se ajustaram a equação de Fox ($\Delta H_{\text{mix}} \sim 0$), enquanto que no último, desvios negativos foram observados ($\Delta H_{\text{mix}} < 0$). O número de átomos de carbono nas cadeias alquílicas foi 12, 16 e 18, para o Tween 20, Tween 40 e Tween 60, respectivamente.

Figura 19. Efeito do tamanho da cadeia hidrofóbica do surfactante na T_g de ésteres de celulose em misturas de polímero/tensoativo. O gráfico corresponde a temperatura de transição vítrea (T_g) de CAB, CMCAB e CAPH obtido com $x_{\text{surfactante}} = (a) 0,10 (b) 0,30$

Na Figura 19a observa-se que o comprimento da cadeia alquílica dos surfactantes não tem praticamente nenhum efeito sobre os valores de T_g , e em comparação com a T_g dos ésteres de celulose puros, a diminuição dos valores de T_g foi reduzida devido ao pequeno conteúdo de surfactante na mistura, como previsto pela equação de Fox. No entanto, no caso de misturas com desvios negativos (Figura 19b) nenhuma tendência geral pode ser observada, pelo contrário, cada sistema apresentou uma tendência particular. Para as misturas de compostos de CAB e surfactantes, os valores de T_g tenderam a diminuir com o aumento do comprimento da cadeia apolar do surfactante. A mesma tendência foi observada para as misturas de CMCAB ou CAPH e Tween 20 ou Tween 40 e corrobora com o que foi reportado na literatura [DE GROOTE, *et al.*, 2002]. No entanto, na presença de Tween 60, com a cadeia alquílica mais longa de todos os três surfactantes, as misturas com CMCAB apresentaram valores de T_g semelhantes a aqueles na presença de Tween 20 e com o CAPH foi completamente imiscível. Tal comportamento anômalo deve-se possivelmente ao tamanho da cauda hidrofóbica do Tween, impossibilitando sua alocação no volume livre do polímero.

6.2.3. Conclusões

Surfactantes a base de sorbitano (Tween 20, Tween 40 e Tween 60) causaram a plastificação do CAB, CM CAB e CAPH, enquanto que as misturas de CA e os Tweens foram imiscíveis em toda faixa de composição investigada, assim como CAPH e Tween 60. O nível de plastificação nos três primeiros casos variou com a fração em massa (x) do surfactante na mistura. Para $0 < x < 0,10$ as misturas apresentaram comportamento "ideal" e os valores de T_g experimentais conferiram com aqueles previstos com a equação de Fox. Para $x > 0,30$ os valores experimentais de T_g apresentaram desvios negativos, devido à ligações de H entre a cabeça polar do surfactante e os grupos polares dos éster de celulose (grupos de ácidos carboxílicos e carbonila). Esses resultados mostram a aplicação de surfactantes biocompatíveis à base de sorbitano, a fim de plastificar os ésteres de celulose, de uma forma controlada, de modo que as características moleculares do plastificante e o seu teor na mistura possa ser escolhida de acordo com a aplicação final.

6.3. Influência da estabilidade coloidal de nanocristais de celulose e sua dispersibilidade na matriz de CAB

6.3.1. Preparo das suspensões de nanocristais de celulose

Com base nos estudos da seção anterior, o surfactante Tween 20 foi escolhido para ser utilizado como agente dispersante dos nanocristais e o CAB como matriz polimérica, por se tratar de um dos ésteres de celulose mais empregados para essa finalidade. No entanto, em nenhuma das etapas de caracterização utilizadas foi observado ação dispersiva expressiva do Tween 20, independente da composição utilizada. Os mecanismos destes efeitos necessitariam ser investigados mais a fundo e, por não se tratarem do foco do estudo esses resultados não foram considerados nesse trabalho.

Primeiramente foram selecionados solventes nos quais fosse possível obter uma boa dispersão dos CNC na matriz polimérica, o que requer que o solvente seja apropriado tanto para o preparo das suspensões de CNC quanto para as soluções poliméricas [HABIBI, *et al.*, 2010]. Solventes como o acetato de etila (AE) e o tetrahidrofurano (THF) são considerados bons solventes para o CAB [PARK, *et al.*, 2006]. Entretanto, os CNC sem modificação apresentam dificuldade em se dispersar em sistemas não aquosos, principalmente quando se trata de CNC liofilizados [EICHHORN, 2011]. Porém, estudos reportam o uso de solventes mais polares, como a *N,N*-dimetilformamida (DMF), juntamente com a utilização de banho de ultrassom para redispersar CNC sem agregação [VAN DEN BERG, *et al.*, 2007; SAMIR, *et al.*, 2004].

6.3.2. Estabilidade coloidal das dispersões de nanocristais de celulose

A estabilidade coloidal de CNCs, CNCm e CNCa dispersos em acetato de etila (AE), tetrahidrofurano (THF) ou *N,N*-dimetilformamida (DMF) a 0,1% m/v, ou em soluções de CAB-381-0,5 correspondentes a 0,9% em massa, foi analisada a (30 ± 2) °C, como a mudança de luz transmitida ao longo da cubeta como uma função do tempo e é mostrada na Figura 20. Os dados foram normalizados considerando 100% de transmitância para a luz transmitida medida para o branco (solvente puro ou solução de CAB). No início a luz transmitida foi definida como zero, porque corresponde à dispersão inicial. À medida que o tempo passa, os nanocristais se agregam formando partículas grandes, que decantam quando se tornam suficientemente grandes e se acumulam no fundo da cubeta, aumentando a luz transmitida. Portanto, quanto maior é o aumento da transmitância em função do tempo, menos estável é a dispersão coloidal.

Figura 20 mostra tendências relacionadas aos meios dispersantes. A primeira delas é que CNCs, CNCm e CNCa apresentaram comportamento semelhante em DMF (Figura 20a); a transmitância aumentou lenta e linearmente com o passar do tempo, indicando a ausência de grandes agregados, e após 60 minutos o aumento de transmitância foi pequeno (20 ± 4 %), independentemente do tipo de nanocristais. A boa dispersibilidade em DMF também foi observada em sistemas com maior teor de nanocristais. Por exemplo, dispersões de CNCs a 0,15% m/v apresentaram após 60 minutos o aumento de transmitância de apenas 16% (não mostrado). Da mesma forma que os comportamentos coloidais observados em DMF puro, perfis lineares de transmitância foram observados para dispersões de CNCs, CNCm e CNCa em soluções de CAB preparadas em DMF (Figura 20b).

Figura 20. Perfis de transmitância obtidos a $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ para CNCs, CNCa e CNCm dispersos a 0,1% m/v em (a) DMF, (c) THF, (e) AE puros, ou em soluções de CAB a 0,9% m/v em (b) DMF, (d) THF e (f) AE

Porém, as dispersões de nanocristais ficaram mais estáveis na solução do polímero do que no solvente puro, tendo em vista que os valores de transmitância

medidos foram cerca da metade daqueles em DMF puro. Esse efeito deve-se (i) ao aumento da viscosidade do solvente puro de $(0,6685 \pm 0,0004)$ cP para $(1,258 \pm 0,002)$ cP da solução de CAB/DMF, 0,9% m/v; e (ii) a compatibilidade entre CAB e CNCs, CNCm ou CNCa.

Os perfis de transmitância determinados para CNCs, CNCm e CNCa em THF são apresentados na Figura 20c. Durante os primeiros 10 minutos, o aumento da transmitância foi rápido e linear, obtendo-se $(22 \pm 3)\%$ ou $(60 \pm 4)\%$ de transmitância para CNCs e CNCm ou CNCa, respectivamente, indicando a formação de agregados. Consequentemente, a concentração de nanocristais de celulose na dispersão diminui. Entre 10 min e 40 min, o aumento da transmitância foi mais lento uma vez que a concentração mais baixa dos nanocristais retardou a formação de agregados e um *plateau* foi alcançado nos casos das dispersões de CNCs e CNCa, com níveis de transmitância de $(45 \pm 3)\%$ e $(87 \pm 5)\%$, respectivamente. Por outro lado, nenhum *plateau* foi observado para as dispersões de CNCm e após 60 minutos o nível de transmitância foi $(60 \pm 5)\%$. O aumento de transmitância medida para as dispersões em CAB/THF foi mais lento do que em THF puro (Figura 20d). No entanto, após 60 minutos o nível de transmitância para CNCs dispersos em THF puro $(46 \pm 3)\%$ foi semelhante ao em CAB/THF $(48 \pm 4)\%$.

Embora as viscosidades determinadas para THF puro e CAB/THF equivaleram a $(0,4297 \pm 0,0003)$ cP e $(0,7329 \pm 0,0003)$ cP, respectivamente, a presença do CAB desempenhou um papel limitante na estabilidade coloidal dos CNCs em THF. Por outro lado, depois de 60 minutos, ao se comparar as transmitâncias de CNCa e CNCm em THF e CAB/THF, verificou-se que estas diminuíram de $(87 \pm 5)\%$ para $(13 \pm 2)\%$ e de $(60 \pm 5)\%$ para $(23 \pm 3)\%$, respectivamente. Este efeito substancial na estabilidade coloidal pode ser devido a interações favoráveis entre CAB e os grupos acetato ou metiladipóila.

Os perfis de transmitância observados para CNCs, CNCm e CNCa em AE (Figura 20e) mostraram um aumento contínuo e após 60 minutos os níveis de transmitância foram $(43\pm3)\%$, $(45\pm2)\%$ e $(20\pm3)\%$, respectivamente. Já nos sistemas nos quais utilizou-se CAB/AE como meio de dispersão, a transmitância também teve um aumento contínuo até 60 min (Figura 20f), quando os níveis de transmitância para CNCs, CNCm e CNCa foram de $(34\pm2)\%$, $(19\pm3)\%$ e $(23\pm4)\%$, respectivamente.

A estabilidade coloidal de CNCs e CNCm foi maior nas soluções de CAB/AE do que em AE puro, provavelmente porque a viscosidade média aumentou de $(0,3892\pm0,0001)$ cP, do AE puro, para $(0,675\pm0,003)$ cP, da solução de polímero. No entanto, o aumento da viscosidade do meio não teve nenhum efeito sobre a estabilidade coloidal dos CNCa. Estes resultados indicam que a estabilidade das interações entre cadeias de CAB e CNCs ou CNCm podem ser mais favoráveis do que aquelas entre CAB e CNCa.

Em relação ao comportamento coloidal dos nanocristais de celulose em solventes puros, as propriedades dos solventes como a densidade, permissividade relativa (ϵ_r) e viscosidade podem afetar a estabilidade coloidal das dispersões. Comparando-se os sistemas estudados aqui (Figura 20a, c e e), a mais alta estabilidade coloidal dos CNCs, CNCm e CNCa foi observada em DMF. Considerando-se que o AE, THF e DMF têm valores de densidade semelhantes 900 , 889 e 949 kg m^{-3} (Tabela 2), respectivamente, pode-se afirmar que a densidade não teve nenhum efeito significativo sobre o comportamento coloidal. No entanto, os valores de ϵ_r podem desempenhar um papel importante na estabilidade coloidal dos CNCs, CNCm e CNCa porque estes possuem cargas negativas na superfície. AE e THF apresentam valores baixos de ϵ_r , $6,08$ e $7,52$, respectivamente, em comparação com DMF ($38,28$) e água ($77,75$) (Tabela 2). Assim, espera-se que AE e THF solvatem os grupos hidroxila, sulfato ou os ésteres da superfície dos CNC de forma pouco efetiva, favorecendo a agregação dos nanocristais. Por outro lado, as moléculas de

DMF são capazes de solvatar os grupos funcionais da superfície dos nanocristais, mantendo-os afastados uns dos outros. Da mesma maneira, com base nos parâmetros de solubilidade de Hansen (Tabela 2), verifica-se que o DMF apresenta o valor de dH ($11,3 \text{ (J cm}^{-3})^{1/2}$) superior ao THF e AE ($8,0$ e $7,2 \text{ (J cm}^{-3})^{1/2}$), respectivamente, o que proporciona uma estabilidade maior devido a formação de mais ligações de H entre o solvente e as hidroxilas dos CNC.

CNCs e CNCm comportaram-se de forma semelhante em THF e AE, porque o grau de substituição para CNCm é baixo ($DS_{MA} = 0,25$), e, por conseguinte, o número de grupos hidroxila na sua superfície não deve variar muito. Além disso, CNCa, que tem o grau de substituição $DS_{Ac} = 0,46$, e, consequentemente, menos grupos hidroxila na superfície, foi mais estável em AE do que em THF, provavelmente porque as interações entre os grupos acetato são mais favoráveis em AE do que em THF, e também devido ao seu dH mais baixo, quando comparado com os demais solventes. Análises qualitativas da estabilidade coloidal dos CNCs e CNCm dispersos em AE, THF ou DMF a $0,01\%$ (m/v) indicaram um comportamento similar. No entanto, em comparação com CNCs, a modificação com grupos metiladipóila pareceu melhorar a dispersibilidade dos nanocristais nestes solventes [DE MESQUITA, *et al.*, 2012]. Tal efeito não pode ser observado em dispersões mais concentradas ($0,1\%$ ou $0,15\%$ m/v).

A viscosidade do solvente também é um parâmetro importante, pois está relacionada com o atrito intermolecular, quanto maior é a viscosidade do meio, mais lenta é a difusão de partículas neste meio, diminuindo a probabilidade de agregação e retardando o processo de sedimentação. As viscosidades de DMF, THF e AE a $(30,0 \pm 0,01)^\circ\text{C}$ foram determinadas por viscosimetria capilar como $(0,6685 \pm 0,0004)$ cP, $(0,4297 \pm 0,0003)$ e cP $(0,3892 \pm 0,0001)$ cP, respectivamente. Assim, os valores

relativamente altos de ε_r e de viscosidade do DMF favoreceram a estabilidade coloidal das dispersões de CNCs, CNCm e CNCa.

As alterações na estabilidade coloidal dos CNCs, CNCm e CNCa em soluções de CAB em comparação com os sistemas nos solventes puros foram dependentes dos solventes. Em DMF, o solvente mais polar, as interações específicas entre as cadeias de CAB e os grupos funcionais dos nanocristais foram favorecidas pela alta solvatação e o aumento de viscosidade média (~88%). A estabilidade coloidal de nanocristais de celulose bacteriana (BCN) foi investigada em soluções aquosas de carboximetilcelulose (CMC) ou xiloglucana (XG) por turbidimetria [WINTER, *et al.*, 2010]. Da mesma forma que os sistemas estudados neste trabalho, o aumento da viscosidade do meio e interações específicas entre BCN e CMC ou XG contribuiu para a melhora da estabilidade coloidal. Em THF e AE o aumento da viscosidade (~70%), devido à dissolução do CAB certamente melhorou a estabilidade coloidal de CNCs, CNCm e CNCa. No entanto, as interações específicas foram mais evidentes entre CAB e CNCm ou CNCa, que podem ser interações dispersivas entre grupos alquílicos do CAB e dos CNCm ou CNCa.

6.3.3. Morfologia dos filmes de CAB/CNC obtidos por *spin-coating*

A morfologia dos filmes poliméricos obtidos por *spin-coating* é controlada pela escolha do solvente utilizado para a preparação da solução polimérica [LIN, *et al.*; 2004; PETRI, 2002], pela massa molar do polímero [DARIO, *et al.*, 2012], da concentração da solução [AMIM JR., *et al.*, 2008] e da velocidade de rotação. Além disso, o equilíbrio entre as interações substrato-polímero e substrato-solvente desempenha um papel muito importante na morfologia resultante de filmes obtidos através deste método [CHEUNG, *et al.*, 2005; LIN, *et al.*, 2004; PETRI, 2002]. Na presença de materiais ou cargas de

reforço, tais como nanocristais de celulose, as interações reforço-reforço, reforço-polímero, reforço-solvente e reforço-substrato devem ser incluídas no balanço das forças. Se as interações de reforço-polímero superarem as interações reforço-reforço, são esperados nanocompósitos com alta dispersibilidade e homogeneidade [KIM, *et al.*, 2009; WINTER, *et al.*, 2010].

Figura 21. Micrografias ópticas obtidas de filmes de (a) CAB puro, (b) CAB/CNCs, (c) CAB/CNCa e (d) CAB/CNCm obtidos por *spin-coating* a partir de suspensões preparadas de AE, THF ou DMF

A Figura 21 mostra micrografias ópticas obtidas de filmes preparados de sistemas de CNCs, CNCm e CNCa (0,1% m/v) dispersos em soluções de CAB em AE, THF ou DMF (0,9% m/v). A fim de comparação, também foram preparados filmes de CAB

sem a adição de agentes de reforço. Esses filmes apresentaram-se homogêneos, independentemente do solvente utilizado (Figura 21a₁, a₂ e a₃). Em contrapartida, filmes de CAB/CNCs obtidos de dispersões em AE (Figura 21b₁), THF (Figura 21b₂) e DMF (Figura 21b₃) apresentaram agregados (manchas escuras) distribuídos na superfície. O tamanho e frequência destes agregados foi maior em AE e THF do que em DMF, corroborando com a estabilidade coloidal discutida anteriormente.

Semelhante dependência do solvente foi observada para os filmes de CAB/CNCa e CAB/CNCm. No entanto, os agregados da Figura 21c₁ (CAB/CNCa) e Figura 21d₁ (CAB/CNCm) são menores do que os observados na Figura 21b₁ (CAB/CNCs). A principal razão para isso é, provavelmente, que com a modificação dos CNCs, o número de grupos hidroxila disponíveis para ligações de H diminuiu, reduzindo as interações reforço-reforço. Outra observação é que em filmes preparados a partir de dispersões em AE a agregação de nanocristais foi mais evidente do que naqueles em THF ou DMF. Durante o processo de *spin-coating* o solvente flui e deixa a superfície do filme que está sendo formado a partir das bordas da lâmina de Si e então evapora. A transição entre o afinamento do fluxo e a evaporação é abrupta. Quanto maior é a pressão de vapor do solvente, mais rápido o sistema entra na fase por evaporação controlada, empurrando nanocristais em conjunto, levando a formação de grandes agregados. Os valores de pressão de vapor de AE, THF e DMF, a 25,0 °C equivalem a 160, 100 e 2,9 mmHg, respectivamente [LIDE, 2004]. Assim, o tamanho e frequência de agregados de nanocristais de celulose observados em filmes preparados a partir de AE é maior que para os outros sistemas, THF e DMF, o que deve-se principalmente à evaporação mais rápida do AE.

A fim de ter uma visão em nanoescala sobre a dispersibilidade dos nanocristais de celulose no CAB, imagens topográficas de AFM foram obtidas de filmes preparados

por *spin-coating* a partir de dispersões de CNCs (0,1% m/v) em CAB dissolvido em AE, THF ou DMF (0,9% m/v), respectivamente, conforme são apresentadas na Figura 23. A Figura 22 mostra os filmes de CAB puros preparados na mesma concentração e mesmos solventes.

Figura 22. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de soluções de CAB em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a_2 - c_2) representam imagens topográficas ($5 \times 5 \mu\text{m}^2$), (a_1 - c_1) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a_3 - c_3) imagens de zoom ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$)

Figura 23. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de dispersões de CAB/CNCs em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a₂-c₂) representam imagens topográficas (5x5 μm²), (a₁-c₁) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a₃-c₃) imagens de zoom (2x2 μm²)

Figura 24. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de dispersões de CAB/CNCa em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a_2 - c_2) representam imagens topográficas ($5 \times 5 \mu\text{m}^2$), (a_1 - c_1) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a_3 - c_3) imagens de zoom ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$)

Figura 25. Imagens topográficas de AFM obtidas de filmes preparados de dispersões de CAB/CNCm em (a) AE, (b) THF e (c) DMF, onde (a_2 - c_2) representam imagens topográficas ($5 \times 5 \mu\text{m}^2$), (a_1 - c_1) seções transversais correspondentes às linhas verdes e (a_3 - c_3) imagens de zoom ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$)

Quando o AE foi utilizado como meio dispersante, os filmes resultantes (Figura 23a₁-a₃), apresentaram agregados distribuídos sobre a superfície lisa de CAB (imagem típica de AFM obtida para CAB puro é apresentado na Figura 22a₁-a₃). CNCs isolados dificilmente foram observados na superfície. Filmes preparados a partir de THF (Figura 23b₁-b₃) apresentaram cavidades e CNCs aglomeradas com polímero, os CNCs pareceram estar embutidos no CAB. As cavidades (*breath figures*), também apareceram

em filmes puros de CAB (Figura 22b₁-b₃), os que se devem à condensação de gotículas de água na superfície do polímero durante o processo de *spin-coating*, conforme já discutido no Capítulo I. Os filmes de nanocompósitos preparados a partir de DMF (Figura 23c₁-c₃) apresentaram as mesmas protuberâncias que os filmes puros de CAB (Figura 22c₁-c₃), porém os CNCs apareceram bem distribuídos sobre a superfície. Estas imagens indicam que, quando o DMF foi utilizado como solvente, a dispersibilidade do material de reforço na matriz CAB foi favorecida, o que está de acordo com o comportamento coloidal discutido na primeira parte deste Capítulo. Imagens de AFM obtidas para os nanocompósitos CAB/CNCa (Figura 24) ou CAB/CNCm (Figura 25) apresentaram características semelhantes às observadas para os nanocompósitos CAB/CNCs preparados com CNCs. Nanocristais isolados ou pequenos agregados apareceram mais frequentemente em filmes preparados de sistemas em DMF (Figura 24c₁-c₃ e Figura 25c₁-c₃).

6.3.4. Propriedades mecânicas dos filmes de CAB/nanocristais de celulose

Os testes de estabilidade coloidal e a morfologia das superfícies analisadas por microscopia óptica e AFM indicaram claramente que o solvente DMF quando utilizado como meio dispersante para os CNCs, CNCm e CNCa é melhor do que AE ou THF. O efeito do solvente usado para a produção de filmes de CAB e CAB reforçados com nanocristais de celulose nas suas propriedades mecânicas foi avaliado por análises mecânico-dinâmicas (DMA). A Tabela 6 mostra os valores de módulo de Young (E) e de resistência à tração (σ) determinados para filmes de CAB e CAB/CNCs obtidos por evaporação de solvente para as dispersões preparadas em DMF, THF e AE. Comparativamente ao CAB

puro os valores de E dos filmes de CAB reforçados com 10% (m/m) de CNCs obtidos de diferentes suspensões, AE, THF e DMF, aumentou 2,4%, 32% e 60%, respectivamente.

Tabela 7. Valores de módulo de Young (E) e tensão de ruptura (σ) determinados para filmes de CAB puro e CAB reforçado com CNCs preparados por evaporação do solvente a partir de dispersões preparadas em DMF, AE e THF. ΔE e $\Delta \sigma$ referem-se ao aumento relativo dos valores de módulo de Young e de resistência à tração em comparação aos filmes de CAB puro

Solventes	Amostra	E (MPa)	ΔE (%)	σ (MPa)	$\Delta \sigma$ (%)
DMF	CAB	1563 ± 51	-	12 ± 2	-
	CAB/CNCa	1658 ± 95	6	12 ± 2	0
	CAB/CNCm	1876 ± 100	20	16 ± 2	33
	CAB/CNCs	2514 ± 163	60	17 ± 3	42
	CAB/CNCs-5	1948 ± 200	25	14 ± 3	17
	CAB/CNCs-15	2058 ± 90	32	17 ± 1	42
AE	CAB/CNCs	1601 ± 67	2,4	16 ± 3	33
THF	CAB/CNCs	2060 ± 169	32	18 ± 4	50

Estes resultados mostram que o uso de DMF para a preparação dos nanocompósitos favoreceu a capacidade de dispersão na matriz de CAB e a percolação dos CNCs, produzindo materiais mais resistentes. O fraco desempenho de compósitos preparados a partir de AE e THF pode ser correlacionada com a presença de agregados, tal como evidenciado por micrografias ópticas na Figura 21. O efeito do solvente sobre os valores de σ não foi tão distinto, com $\Delta \sigma$ variando de 33% a 50%. Os valores de ΔE determinados para nanocompósitos preparados de sistemas CAB/DMF contendo 5%, 10% e 15% (m/v) de CNCs indicaram que a melhor dispersão e percolação obtida foi com 10% (m/v) de reforço, pois o excesso de carga de reforço na matriz tende à formação de pequenos agregados que reduzem a resistência mecânica do nanocompósito.

Comparando-se os valores de E medidos para CAB/CNCs, CAB/CNCa e CAB/CNCm, o desempenho dos materiais em comparação com filmes de CAB puro foi CAB/CNCs > CAB/CNCm > CAB/CNCa. Estes resultados indicam que a grande concentração de grupos OH na superfície de nanocristais, como no caso de CNCs, favorece a percolação mediada por ligações de H, enquanto que no caso dos nanocristais modificados (CNCa e CNCm) a superfície de cada tipo de CNC possui uma quantidade menor de grupos OH disponíveis para percolação [KALIA, *et al.*, 2011].

O número de grupos OH na superfície dos CNCm deve ser em média maior do que na superfície dos CNCa uma vez que o grau de substituição é $DS_{MA} = 0,25$ e $DS_{Ac} = 0,46$, respectivamente. Deste modo, a percolação deve ser mais pronunciada em CAB/CNCm do que em CAB/CNCa, como indicado pelos valores de E e σ , mostrados na Tabela 6. Similarmente, nanocompósitos de CAB preparados com nanocristais de celulose bacteriana não modificados (BCN) apresentaram melhores propriedades mecânicas do que aqueles preparado com BCN silanizados [GRUNERT & WINTER, 2002].

Nanocristais de celulose isolados de Rami foram modificados por graftização usando cloreto de ácidos orgânicos que apresentam cadeias alifáticas com 6, 12 e 18 átomos de carbono. Compósitos contendo polietileno e nanocristais modificados com cadeias de 18 carbonos renderam materiais com muito maior alongamento na ruptura do que aqueles preparados com C6 ou C12 [DE MENEZES, *et al.*, 2009]. Este efeito foi atribuído à co-cristalização da matriz polimérica e nanocristais e também dispersibilidade melhorada. Dessa forma, para uma melhoria nos materiais de reforço, incorporar grupos funcionais de cadeias relativamente curtas na superfície dos nanocristais não parece desempenhar um papel crucial. Por outro lado, se as cadeias incorporadas são suficientemente longas, emaranhamentos entre estas cadeias e a matriz polimérica pode melhorar o desempenho mecânico [ZOPPE, *et al.*, 2011].

6.3.5. Conclusões

Independentemente do solvente ou do tipo de nanocrystal de celulose usado, a estabilidade coloidal foi melhor na solução de polímero do que no solvente correspondente, devido ao aumento relativo da viscosidade. O surfactante Tween 20 não foi eficiente como agente dispersante para os CNC em nenhum dos sistemas testados. Entre todos os meios dispersantes, CAB/DMF foi no qual os nanocristais de celulose apresentaram melhor estabilidade coloidal, independentemente do grupo funcional ligado à superfície, devido à elevada polaridade do meio. CNCs e CNCm comportaram-se de forma semelhante em THF e AE, porque possuem quase o mesmo número de grupos hidroxila na superfície. Por outro lado, CNCA, que tem menos grupos hidroxila na superfície, foi mais estável em AE do que em THF, provavelmente porque as interações entre os grupos acetato são mais favoráveis com AE do que com THF. Quando utilizado soluções de CAB em AE ou THF como meio dispersante, a estabilidade coloidal de ambos os nanocristais de celulose modificados foi superior à de CNCs, evidenciando as interações entre CAB e os grupos funcionais. Estas tendências corroboram com as características morfológicas observadas por microscopia óptica e AFM, que mostraram que a homogeneidade dos filmes de compósitos e dispersabilidade dos nanocristais foram melhores em DMF do que em AE ou THF. A ordem de desempenho mecânico determinada para os compósitos e CAB puro foi CAB/CNCs > CAB/CNCM > CAB/CNCA > CAB. Esta sequência indica que as superfícies enriquecidas por grupos OH favorecem a percolação mediada por ligações de H. Compósitos preparados a partir de dispersões em AE ou THF foram inferiores àqueles preparados a partir de DMF, o que está de acordo com as heterogeneidades observados nos filmes. Assim, os resultados aqui apresentados demonstram que as propriedades mecânicas dos nanocompósitos resultantes da dispersibilidade dos nanocristais em uma dada matriz de polímero podem ser previstas pela sua estabilidade coloidal.

6.4. Beads de celulose multifuncionais e sua interação com bactérias Gram-positivas

6.4.1. Ensaios preliminares

Visando a obtenção de *beads* contendo o agente bactericida QPVP-C5, foram idealizados sistemas de *beads* com diversas composições. Para tal foram utilizados três métodos de incorporação do polícatión aos *beads*: (i) preparo de uma blenda de QPVP-C5 com celulose (BC:QPVP-C5; 99:1, 95:5 e 90:10, m/m), celulose:carboximetil celulose (CMC) (BC:CMC:QPVP-C5, 80:10, m/m, acrescido de 10%, m/m de QPVP-C5) ou ésteres de celulose (CAB:QPVP-C5 ou CMCAB:QPVP-C5, 95:5, m/m), e posterior obtenção dos *beads* por gotejamento, conforme descrito na literatura [SESCOUSSE, *et al.*, 2011; GERICKE, *et al.*, 2012; BAI & LI, 2006]; (ii) utilização de uma solução de QPVP-C5 como meio de coagulação para as soluções de polímeros (celulose ou ésteres de celulose) ou blendas (celulose:CMC); e (iii) utilizando *beads* como substrato para adsorção do QPVP-C5 [HIROTA, *et al.*, 2009a]. As considerações obtidas destes experimentos estão resumidamente descritas a seguir.

- *Método I*: os polímeros foram dissolvidos em soluções aquosas de 7% NaOH-12% ureia (-10 °C), na concentração total de 5% (m/m), com exceção dos ésteres de celulose para os quais o dimetilsulfóxido foi utilizado como solvente (10%, m/m), à 24 °C. As soluções poliméricas foram gotejadas em soluções de HCl 2 mol L⁻¹ e *beads* foram obtidos em todos os casos. Embora a incorporação do polícatión tenha sido confirmada por análises de FTIR-ATR, foi constatado qualitativamente baixo teor de QPVP-C5 nos *beads*, o que é explicado pela sua lixiviação para os banhos de coagulação durante a regeneração da celulose ou precipitação dos ésteres de celulose, uma vez que o QPVP-C5 é hidrossolúvel. Outra observação pertinente refere-se às baixas propriedades

mecânicas apresentadas pelos *beads* a base de celulose:CMC e principalmente por CAB e CMCAB. Essas considerações estão de acordo com dados da literatura [GERICKE, *et al.*, 2012; DE OLIVEIRA & GLASSER, 1996].

- *Método II*: Estes testes consistiram em utilizar soluções aquosas de QPVP-C5 a $1,3 \text{ mg mL}^{-1}$ (concentração máxima possível para obtenção dos *beads*) como meio de coagulação para *beads* preparados a partir das soluções poliméricas acima descritas, porém sem QPVP-C5. Esse método mostrou-se bastante limitado tendo em vista a alta viscosidade das soluções do polycation, dificultando a modelagem dos *beads* os quais apresentaram teores muito baixo de QPVP-C5.

- *Método III*: *beads* de celulose (BC) e celulose/CMC (80:20, m/m) (BC:CMC) foram utilizados como substrato para adsorção do polímero QPVP-C5. As condições do experimento tais como duração, temperatura, pH do meio e proporção adsorvente/adsorbato foram otimizadas. Constatou-se que quando foram utilizados BC:CMC, a adsorção do polycation foi substancialmente maior e as taxas de dessorção menores do que observado para o substrato BC. Essas observações revelam que as interações eletrostáticas entre as cargas positivas dos grupos piridínio e as negativas do carboximetil foram as responsáveis pela incorporação do polycation nos *beads*. Por outro lado, foi também observado através do turvamento dos sistemas, a perda de material dos *beads* BC:CMC, o que se deve ao fato de o CMC ser solúvel em água.

Em suma, a adsorção mostrou-se ser o melhor método para a obtenção de materiais celulósicos contendo agente biocida, porém indicando necessidade de se utilizar sistemas mais robustos.

6.4.2. Formação e caracterização de *beads* de celulose

Polpa de celulose de eucalipto foi previamente tratada durante 3 h, a 70 °C em solução etanólica de HCl com o intuito de hidrolisar parcialmente as cadeias de celulose levando à diminuição do grau de polimerização do polímero (DP) e a remoção da parede primária das fibras [TRYGG & FARDIM, 2011]. Isto é necessário porque a dissolução da celulose em solventes não-derivatizantes é facilitada quando $DP < 200$ [ARAKI, *et al.*, 2001; TRYGG & FARDIM, 2011]. Os valores de DP da polpa não tratada e tratada calculados a partir de dados de viscosimetria capilar foram 568 e 116, respectivamente. Em seguida, a celulose tratada foi dissolvida em soluções aquosas de 7% NaOH-12% ureia a 5%, 6% e 7% (m/m). *Beads* de celulose, aqui representados como BC5%, BC6% e BC7% foram então preparadas a partir das soluções de celulose pelo método do gotejamento usando soluções de HCl 2 mol L⁻¹ como banho de coagulação.

Figura 26. Fotografias de *beads* molhados (a) BC7% e (b) BC07%, respectivamente. A barra da escala corresponde a 1 cm

A forma final dos *beads* resulta fundamentalmente de fatores como a velocidade de ejeção, a viscosidade da solução de celulose e a distância, d , entre a ponta da agulha e a superfície do banho [GERICKE, *et al.*, 2012]. Durante o processo, unicamente d foi manualmente variado e *beads* de formas distintas foram obtidos, tais como, em formato de gota ou lágrima ($d \leq 2,5$ cm), esférico ($d = 2,5-3,5$ cm), elipsoidal ($d = 3,5-5$ cm) e

achatados ($d > 5$ cm). No entanto, para este estudo apenas *beads* esféricos foram escolhidos (Figura 26).

Tabela 8. Características dos *beads* de celulose (BC) e *beads* de celulose oxidados (BCO). m_{bm} , V_{bm} e ρ_{bm} referem-se a massa média, volume médio e densidade dos *beads* molhados (V_{bm} foi estimado a partir do ϕ_{bm} e ρ_{bm})

Amostra	m_{bm} (mg)	V_{bm} (cm ³)	ρ_{bm} (g cm ⁻³)	Densidade de cargas (mmol g ⁻¹)
BC5%	17,8 ± 0,7	0,018 ± 0,002	0,99	0,0059 ± 0,0006
BC6%	18,7 ± 0,5	0,018 ± 0,002	1,04	0,0059 ± 0,0006
BC7%	19,1 ± 0,7	0,019 ± 0,002	1,01	0,0059 ± 0,0006
BCO5%-6h	23 ± 1	0,023 ± 0,003	1,00	0,77 ± 0,06
BCO6%-5h	26 ± 1	0,024 ± 0,003	1,08	0,50 ± 0,06
BCO6%-6h	26 ± 1	0,026 ± 0,003	1,00	0,75 ± 0,06
BCO6%-7h	-	-	-	1,02 ± 0,06
BCO7%-6h	25 ± 1	0,029 ± 0,003	0,86	0,79 ± 0,06

Beads esféricos de celulose foram oxidados, (representados como BCO5%, BCO6% e BCO7%), utilizando o método mediado pelo composto TEMPO, em que a estequiometria da reação foi mantida constante (AGU:NaClO₂:TEMPO:NaClO; 8:10:0,25:1), ao passo que o tempo da reação foi otimizado. Os rendimentos da oxidação da celulose foram 8%, 12% e 17%, para as reações feitas por 5 h, 6 h e 7 h, respectivamente. A densidade de carga dos *beads* de celulose nativa e oxidada foi determinada pelo método de titulação potenciométrica (Tabela 7). BC mostraram um teor muito baixo de cargas negativas, $6,0 \cdot 10^{-3}$ mmol g⁻¹, o que pode ser referente aos ácidos carboxílicos da glucuronoxilana residual (tipo de hemicelulose presente nas fibras de celulose). Por outro lado, a duração da reação de oxidação exerceu influência notável sobre a conversão da celulose em celulose carboxilada. Por exemplo, BC6% submetidos a 5 h (BCO6%-5h), 6 h (BCO6%-6h) ou 7 h (BCO6%-7h) de oxidação

utilizando TEMPO/NaClO/NaClO₂, apresentaram 0,50 mmol g⁻¹, 0,75 mmol g⁻¹ e 1,02 mmol g⁻¹ de densidade de carga, respectivamente, corroborando com dados da literatura [HIROTA, *et al.*, 2009a-b; SESCOUSSE, *et al.*, 2011]. No entanto, constatou-se que *beads* com densidade de carga >0,8 mmol g⁻¹ se romperam durante o processo de lavagem e nos casos onde esse valor foi superior a 1,02 mmol g⁻¹, as esferas de celulose se desintegraram completamente e se tornaram parcialmente solúveis. Esse fato foi também observado por Hirota, *et al.*, [2009b], os quais reportaram a solubilização da celulose oxidada com teor de carboxilatos acima de 3 mmol g⁻¹. Além do mais, deve-se considerar a possibilidade de depolimerização da celulose durante a reação *via* β-eliminação, o que acarretaria em perda de massa para os *beads* [DE NOOY, *et al.*, 1996].

BC molhados mostraram diâmetro médio (Ø) de 3,2±0,1 mm e volume de 0,018±0,002 cm³ (Tabela 7). A circularidade expressa o quão esférico é um dado material, correlacionando ambos os eixos de uma elipse, onde uma esfera perfeita tem circularidade igual a 1. Para BC e BCO, a circularidade média determinada foi de 0,90±0,01. Vale a pena ressaltar que, mesmo usando uma técnica manual para produção dos *beads*, os BC e BCO apresentaram altos valores de circularidade e com boa reprodutibilidade (Figura 26).

Por outro lado, o aumento da concentração das soluções de celulose de 5% para 7% (m/m) para a produção de BC levou ao aumento de massa de 1,21±0,04 mg para 1,67±0,06 mg por unidade de BC liofilizado. A massa média por bead não foi significativamente influenciada pelo solvente utilizado no processo de liofilização (água ou terc-butanol).

Figura 27. Micrografias de MEV das seções transversais dos *beads* liofilizados em água. (a) BC5%, (b) BCO5%, (c) BC6%, (d) BCO6%, (e) BC7% e (f) BCO7%. A barra da escala corresponde a 1 mm. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação

Figura 28. Micrografias de MEV das seções transversais dos *beads* liofilizados em terc-BuOH. (a) BC5%, (b) BCO5%, (c) BC6%, (d) BCO6%, (e) BC7% e (f) BCO7%. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação

As imagens de MEV obtidas das seções transversais de BC5%, BC6% e BC7% liofilizados em água (Figura 27), mostraram variações na morfologia de acordo com a concentração de celulose. O interior dos *beads* foi constituído por cavidades grandes que

variaram de 200 a 300 μm para BC5% (Figura 27a); 300 a 400 μm para BC6% (Figura 27c); e 500 a 700 μm para BC7% (Figura 27e), separadas por paredes 30 μm (BC5%), 30 μm (BC6%) e 40 μm (BC7%) de espessura. Estas estruturas internas podem ter sido formadas durante o processo de cristalização do gelo e não representam necessariamente as estruturas de poros originais. Por este motivo, a água dos *beads* foi trocada por terc-BuOH, e os *beads* foram então liofilizados normalmente. Como mostrado na Figura 28, os *beads* liofilizados em terc-BuOH apresentaram uma estrutura interna mais compacta, com poros muito menores do que os observados na Figura 27. Os diâmetros médios de BC5%, BC6% e BC7% liofilizados em água eram comparáveis àqueles liofilizados em terc-BuOH, resultando em valores de densidade semelhantes. Por outro lado, BCO liofilizados em água e em terc-BuOH apresentaram diâmetros médios de $(3,0 \pm 0,1)$ mm e $(2,0 \pm 0,1)$ mm, respectivamente. Como consequência, as densidades dos BCO liofilizados em terc-BuOH foram maiores do que as determinadas para aqueles liofilizados em água (Tabela 7).

As curvas de tensão de compressão *versus* deformação determinadas de *beads* molhados, liofilizados em água e em terc-BuOH são apresentados nas Figuras 25a, b e c, respectivamente. No caso dos BC5%, BC6% e BC7% molhados, a deformação aumentou linearmente com a compressão até atingir 35% de deformação (Figura 29a). Sob compressão as moléculas de água podem evaporar a partir da superfície, induzindo um gradiente de concentração de água, além do que sob elevada compressão a água pode ser libertada dos *beads*. O comportamento observado com a compressão dos BCO5%, BCO6% e BCO7% molhados foi inferior ao dos *beads* não modificados (BC) (Figura 29a). Estes resultados podem ser importantes para fins práticos, a escolha entre BC e BCO seria um balanço entre a resistência à compressão (BC são superiores a BCO) e a densidade de cargas negativas (maior nos BCO do que nos BC).

Figura 29. Curvas de tensão de compressão *versus* deformação determinadas para (a) *beads* molhados, (b) liofilizados em água e (c) liofilizados em terc-BuOH. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação. As linhas representam os ajustes lineares para a determinação dos valores de módulos de Young

Tabela 9. Valores de densidade (ρ) e módulo de Young (E) estimados para os *beads* liofilizados em água e em terc-BuOH. Os *beads* oxidados foram obtidos após 6h de reação

Amostras	H ₂ O		terc-BuOH	
	ρ (g cm ⁻³)	E (MPa)	ρ (g cm ⁻³)	E (MPa)
BC5%	0,15 ± 0,04	3,7 ± 0,4	0,15 ± 0,02	2,2 ± 0,3
BC6%	0,18 ± 0,03	4,9 ± 0,5	0,17 ± 0,04	3,7 ± 0,4
BC7%	0,20 ± 0,04	5,2 ± 0,7	0,20 ± 0,03	4,5 ± 0,5
BCO5%	0,09 ± 0,04	0,49 ± 0,05	0,26 ± 0,04	8,7 ± 0,8
BCO6%	0,11 ± 0,03	0,53 ± 0,05	0,36 ± 0,05	11 ± 1
BCO7%	0,13 ± 0,03	0,59 ± 0,07	0,49 ± 0,05	17 ± 2

O comportamento frente a compressão dos BC5%, BC6% e BC7% liofilizados em água (Figura 29b) e em terc-BuOH (Figura 29c) foram semelhantes até 40% de deformação, provavelmente por apresentarem os valores de densidade semelhantes (Tabela 8). O aumento linear da deformação devido a compressão permitiu estimar os valores de módulo de Young (E) correspondentes (Tabela 8), que variou de ~2,5 MPa até ~5 MPa. Para deformações maiores do que 40% os BC liofilizados em água começaram a apresentar falhas e então fraturas puderam ser observadas, enquanto que os BC liofilizados em terc-BuOH tornaram-se mais rígidos. Os BCO5%, BCO6% e BCO7% liofilizados em água apresentaram valores de E uma ordem de grandeza menor do que os correspondentes *beads* não oxidados. Este efeito possivelmente deve-se aos seus valores de densidade inferiores e da complexidade de microestruturas formada durante a cristalização do gelo. Por outro lado, BCO5%, BCO6% e BCO7% liofilizados em terc-BuOH apresentaram os maiores valores de E (Tabela 8). À medida que a carga de compressão aumentou para além da região linear, os *beads* tornaram-se mais rígidos. Seu endurecimento pode ser atribuído ao colapso e fechamento dos poros, também denominado como regime de densificação, até o ponto de ruptura [LASPIDOU &

ARAVAS, 2007]. No caso dos BC e BCO liofilizados em terc-BuOH, os módulos de Young apresentaram uma dependência linear com a densidade, como observado para espumas poliméricas [MILLS, 2007].

6.4.3. Adsorção de QPVP-C5 nos *beads*

Considerando que os BC7% apresentaram as melhores propriedades de compressão entre todas as amostras preparadas (Figura 29a), estes foram juntamente com os *beads* oxidados (BCO7%), selecionados como substratos para a adsorção do polímero QPVP-C5. As Figuras 26a e b mostram que a quantidade de QPVP-C5 adsorvida ($\Gamma_{\text{QPVP-C5}}$) sobre BC7% e BCO7%, respectivamente, com o aumento da concentração de QPVP-C5, foi favorecida pelas interações íon-dipolo e eletrostáticas. A adsorção de QPVP-C5 em BCO7% foi mais acentuada do que em BC7%, devido à densidade de carga ser superior. A formação de pares de íons entre amônio quaternário do QPVP-C5 e os grupos carboxilato dos BCO7% praticamente evitou a dessorção do polímero (menos de 5%). Esse fato é particularmente importante, por exemplo, em aplicações relacionadas com a esterilização de água potável, na qual a liberação de componentes solúveis em água pode afetar a saúde humana [FISCHER, *et al.*, 2003; AHMED, *et al.*, 2008].

A adsorção de QPVP-C5 em BC7% e BCO7% foi confirmada por espectroscopia FTIR-ATR. Todos os espectros obtidos para os *beads* de celulose após os processos de adsorção-dessorção apresentaram banda de absorção típica em 1640 cm^{-1} , atribuída às vibrações de estiramento C=N ($\nu_{\text{C=N}}$) do grupo de piridina quaternária pertencentes ao QPVP-C5 (Figura 30b).

Figura 30. Espectros de FTIR-ATR obtidos para QPVP-C5, BCO e BCO contendo QPVP-C5 adsorvido, (a) 4000-400 cm^{-1} e (b) 1750-1450 cm^{-1}

Figura 31. Quantidade de QPVP-C5 adsorvido ($\Gamma_{\text{QPVP-C5}}$) em (a) BC7% e (b) BCO7% em função da concentração de QPVP-C5 na solução. Colunas verdes e azuis representam as quantidades de polímero adsorvido e dessorvido, respectivamente

Dois sistemas foram escolhidos para serem testados contra bactérias Gram-positivas, QPVP-C5 adsorvidos em BCO7% a partir de soluções de QPVP-C5 a 5 e 12,5 mg mL^{-1} , abreviados como BCO7%/QPVP-C5-5 e BCO7%/QPVP-C5-12,5, respectivamente. Estes sistemas foram escolhidos tendo em vista que em ambos os casos a quantidade de QPVP-C5 adsorvida foi elevada e a dessorção baixa ($1,0 \pm 0,2\%$) (Figura 31). Considerando que o efeito biocida de um dado material depende fundamentalmente da presença de grupos bioativos na sua superfície que porventura irão interagir com a

membrana das bactérias, houve a necessidade da quantificação dos grupos catiônicos, ou seja de amônio quaternário, na composição química das amostras BC07%/QPVP-C5-5, BC07%/QPVP-C5-12,5 e BC07% (controle). Essas foram determinadas por meio de análise elementar (interior dos *beads*) e XPS (superfície).

Como mostrado na Tabela 9, a análise de CHN dos BC07% indicou teores de carbono e de hidrogênio ligeiramente mais baixos do que os esperados a partir da fórmula empírica da celulose nativa. Após a oxidação, a razão O/C naturalmente aumentou, levando a conteúdos de C e H inferiores aos de celulose não oxidada. Porém, H% mostrou-se ligeiramente mais elevada, o que indicou a presença de água adsorvida ou aprisionada nos *beads* [MILLS, 2007]. O teor de N aumentou com a quantidade adsorvida de QPVP-C5, representando um acréscimo de 0,7% (m/m) para o BC07%/QPVP-C5-5 e 1,7% (m/m) para BC07%/QPVP-C5-12,5. Do mesmo modo, o aumento dos teores de C e H foi atribuído às cadeias lineares alquílicas e a cadeia principal do QPVP-C5 adsorvido.

Medidas de XPS mostraram o teor de C, O e N na superfície dos *beads* (~7 nm de profundidade). Na superfície de BC07%/QPVP-C5-5 e BC07%/QPVP-C5 12,5 o teor de N quantificado foi de 2,1% e 4,1% (m/m), respectivamente, demonstrando a presença de cadeias de QPVP-C5 na superfície das esferas de celulose. Apenas traços (<1,5%) de Na, Ca e Br (não mostrados) puderam ser detectados na superfície de BC07%/QPVP-C5-5 ou BC07%/QPVP-C5-12,5, indicando que a maioria dos íons Na^+ foram trocados por íons piridínio.

Tabela 10. Composição elementar determinada para BCO7%, BCO7%/QPVP-C5-5 e BCO7%/QPVP-C5-12,5

Amostra	CHN			XPS		
	C (%)	H (%)	N (%)	C (%)	O (%)	N (%)
BCO7%	37,6 ± 0,1	6,6 ± 0,2	0	53,6	44,6	0
BCO7%/QPVP-C5-5	41,0 ± 0,5	6,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1	66,0	31,5	2,1
BCO7%/QPVP-C5-12,5	44,2 ± 0,6	6,9 ± 0,1	1,7 ± 0,1	72,1	22,4	4,1

6.4.4. Ensaios de bioatividade

A bioatividade de *beads* contendo QPVP-C5 foi avaliada frente a bactéria Gram-positiva *Micrococcus luteus*. As suspensões de microorganismos são turvas quando estes são dispersos em água destilada, devido à dimensão micrométrica das bactérias. No entanto, ao entrar em contato com material biocida pode ocorrer o rompimento da membrana celular, causando a redução de seu tamanho e, consequentemente, a diminuição relativa da turbidez ($\Delta\tau$). Além dos dois sistemas escolhidos BCO7%/QPVP-C5-5 e BCO7%/QPVP-C5-12,5 para o ensaio bactericida, também foram medidos, como controle, a turbidez da dispersão de bactérias (i) mantidas em contato com BCO7% e (ii) na ausência de qualquer bead.

Tabela 10. Diminuição relativa da turbidez ($\Delta\tau$) medida para dispersões de *M. luteus* após 24h de contato com BCO7%, BCO7%/QPVP-C5-5 e BCO7%/QPVP-C5-12,5, e análise elementar de P das amostras de *beads* após o ensaio biocida. Os dados são valores médios obtidos para três diferentes conjuntos do mesmo sistema com os respectivos desvio padrão

Amostra	$\Delta\tau$ (%)	Fósforo (ppm)
<i>M. luteus</i>	23±2	-
BCO7%	65±3	252±17
BCO 7%/QPVP-C5-5	85±1	559±11
BCO 7%/QPVP-C5-12,5	99±1	353±16

A Tabela 10 mostra que a turbidez de todos os sistemas diminuiu após 24h. A dispersão das bactérias por si só tornou-se menos turva, com $\Delta\tau$ igual a 23%. Este efeito pode ser resultante da lise osmótica sofrida pelas bactérias dispersas em água destilada. Como amplamente discutido na literatura, o envelope celular das bactérias é poroso e permite o transporte de íons [TILLER, *et al.*, 2002; FISCHER, *et al.*, 2003; AHMED, *et al.*, 2008]. Um desequilíbrio osmótico entre as bactérias e um meio hipotônico, por exemplo, pode resultar na ruptura de suas membranas se sua capacidade for excedida pelo o excesso de líquido.

O contato das dispersões de bactérias com as amostras BCO7%/QPVP-C5-5 e BCO7%/QPVP-C5-12,5 afetou fortemente a turbidez ($\Delta\tau$), que atingiu valores de 85% e 99%, respectivamente. Estes resultados corroboram com dados da literatura [SILVA, *et al.*, 2009; TILLER, *et al.*, 2002; BOUHDADI, *et al.*, 2011]. Por exemplo, Silva e colaboradores [2009] relataram o uso de filmes finos de QPVP-C5 como superfície bactericida eficaz contra suspensões diluídas de *M. luteus* atingindo níveis de turbidez próximo de zero ($\Delta\tau \sim 100\%$). A ação dos materiais biocidas catiônicos pode ser descrita em duas etapas. Em primeiro lugar, as bactérias Gram-positivas são atraídas para a superfície do material, através de interações eletrostáticas entre os carregados negativamente do envelope bacteriano e os grupos laterais do QPVP-C5 que contêm amônio quaternário [CARMONA-RIBEIRO & CARRASCO, 2013; FORSTER & MARQUIS, 2012; CLEMENTI, *et al.*, 2014]. Em segundo lugar, a compensação das cargas negativas do envelope bacteriano é fornecida pelas cargas positivas do substrato, liberando os contra-íons naturais das bactérias para o meio, causando um ganho entrópico no sistema [KÜGLER, *et al.*, 2005]. Assim, o substrato sólido torna-se bactericida quando o número dos sítios catiônicos é suficiente grande para remover os contra-íons das bactérias, induzindo a ruptura do envelope das bactérias [KÜGLER, *et al.*, 2005; TILLER,

et al., 2002]. A atividade biocida de BC07%/QPVP-C5-5 e BC07%/QPVP-C5-12,5 é consistente com o teor de N na sua superfície (Tabela 10). No entanto, BC07% puro inesperadamente também levou à diminuição da turbidez das suspensões de *M. luteus*, ($\Delta\tau = 65\%$), mesmo na ausência do polímero na superfície (Tabela 10). Este achado indica que pode haver um mecanismo biocida não convencional ou que BC07% age como esponjas. Uma vez que não há nenhuma evidência que faz da celulose um candidato a material antimicrobiano, a última hipótese torna-se a mais provável. A fim de testar esta hipótese, as amostras de *beads* utilizados nos ensaios antimicrobianos foram analisadas por MEV (Figura 32). *Micrococcus luteus*, assim como seu próprio nome propõe, é esférica e possui o diâmetro médio de $\sim 1 \mu\text{m}$, foi encontrada principalmente na superfície de BC07% revestidos com QPVP-C5 (Figura 32b e c) e, em menor quantidade, em BC07% (Figura 32a). Praticamente não foram encontradas bactérias na superfície de BC07%/QPVP-C5-12,5, porém, particularmente no caso desta amostra, algumas bactérias foram encontradas perto da superfície, no entanto, enterrados nos *beads*, como indicado na Figura 32c. Essas características sugerem que as bactérias, que escaparam da ruptura, tentaram difundir para o interior dos *beads*. Considerando-se que as imagens obtidas do interior dos *beads* de um modo geral não evidenciaram a presença de bactérias, na Figura 32d são mostradas estruturas que provavelmente correspondem a de detritos de células bacterianas. Estas características foram observadas na superfície de hidrogéis feitos de cadeias reticuladas de celulose catiônica, as quais apresentaram efeito antibacteriano contra *Escherichia coli*, [YANG, *et al.*, 2010b] e na superfície de nanopartículas polietilenoimina com amônio quaternário após interação com *Streptococcus mutans* [BEYTH, *et al.*, 2006].

Assim, o resultado surpreendente de $\Delta\tau = 65\%$, determinado para BC07% parece ser devido a adsorção das bactérias na superfície das esferas de celulose. BC07%

contêm cargas negativas na superfície, as quais iriam repelir os grupos fosfato das bactérias, no entanto, existem muitos grupos hidroxila das cadeias de celulose que não foram modificados e que por sua vez, podem interagir com os peptidoglicanos na camada mais exterior das bactérias por interações de ligações de H ou íon-dipolo.

Figura 32. Imagens de MEV da superfície de *beads* liofilizados (a) BC07%, (b) BC07%/QPVP-C5-5 e (c) BC07%/QPVP-C5-12,5 e (d) do interior de BC07%/QPVP-C5-12,5, depois de 24h de contato com suspensões de *M. luteus*. As barras de escala correspondem a 1 μm e os círculos realçam a presença de *M. luteus* ou detritos de bactéria

Sabe-se que a membrana das bactérias Gram-positivas possui ácidos teicóicos na sua composição, os quais são basicamente formados por poliglicerol fosfato, poli(fosfato de glucosil), ou poliribitol fosfato, a quantificação do teor de P nos *beads* foi utilizada para confirmar a ocorrência de bactérias incorporadas nos *beads*, [AMIM JR., *et al.*, 2012; BUCKLAND, *et al.*, 2000], como mostrado na Tabela 10. BC07%/QPVP-C5-5 apresentou o maior teor de P (559 ± 11 ppm), seguido por BC07%/QPVP-C5-12,5 (353 ± 16 ppm) e BC07% (252 ± 17 ppm). Como controle, BC07% que não tiveram contato com *M. luteus* apresentaram apenas $4,6 \pm 0,2$ ppm de P. Assim, a presença de bactérias foi mais pronunciada em BC07%/QPVP-C5-5, o que se deve provavelmente às interações eletrostáticas e à densidade de cargas positivas em BC07%/QPVP-C5-5, que não foi suficientemente elevada para causar ruptura das bactérias. Levando-se em conta que o maior valor de $\Delta\tau$ observado para o BC07%/QPVP-C5-12,5 foi devido a ruptura do envelope das bactérias, protoplastos e resíduos de fósforo foram liberados para o meio aquoso, explicando o teor de P inferior e a ação bactericida. No caso de BC07%, o teor de P de 252 ± 17 ppm evidenciou a incorporação das bactérias. Com base nestes resultados é possível concluir que, após 24h: (i) as bactérias interagiram com os *beads*, o que conduziu a redução relativa de turbidez das dispersões e (ii) tendo-se em conta que uma parte das cargas positivas do QPVP-C5 interagiu com as cargas negativas dos BC07%, apenas quando a quantidade de QPVP-C5 adsorvida nos *beads* foi suficientemente elevada, o excesso de cargas positivas pode causar a adesão das bactérias seguido por ruptura das mesmas. Caso contrário, as bactérias podem aderir nos BC07% ou BC07% revestidos com uma pequena quantidade de QPVP-C5 pela interação íon-dipolo, porém, sem rupturas.

Estas tendências estão representadas na Figura 33. Figura 33a representa a aderência parcial de bactérias sobre BC07%, Figura 33b mostra a interação entre as

bactérias e BC07%/QPVP-C5-5 fracamente carregados e sem ruptura das bactérias e Figura 33c propõe a adesão de bactérias em BC07%/QPVP-C5-12,5 altamente carregados, seguido pela ruptura dos microorganismos.

Figura 33. Representação esquemática das interações entre bactérias (círculos sólidos vermelhos) e *beads* após 24h. (a) adesão parcial das bactérias em BC07%, (b) adsorção de bactérias em BC07%/QPVP-C5-5 fracamente carregados, sem a ruptura das bactérias e (c) aderência de bactérias em BC07%/QPVP-C5-12,5 altamente carregados, seguido pela ruptura das bactérias

6.4.5. Conclusões

Beads de celulose foram obtidos usando polpa de celulose de eucalipto pré-tratada. A subsequente reação de oxidação aumentou a densidade de carga negativa nos *beads*, mas reduziu a resistência à compressão dos *beads* molhados em comparação com os *beads* de celulose não oxidada. A densidade e o comportamento à compressão dos *beads* não oxidados liofilizados em água e em terc-BuOH foram equivalentes. Por outro lado, os *beads* oxidados liofilizados em água apresentaram fraco desempenho de compressão e baixa densidade, em comparação com os liofilizados em terc-BuOH, devido à estrutura complexa interna dos poros resultantes da cristalização do gelo. A adsorção do polycation QPVP-C5 com propriedades bioativas nos *beads* oxidados foi conduzida por interações eletrostáticas entre o polycation e grupos carboxilato dos *beads*. A quantidade de QPVP-C5 adsorvido aumentou com o aumento da concentração do polycation e da densidade de carga superficial. Bactérias adsorveram sobre *beads* oxidados e nos *beads* contendo baixa quantidade de polycation adsorvido. Por outro lado, os *beads* com elevada quantidade de QPVP-C5 adsorvido exibiram propriedades biocidas. Neste estudo, foram apresentados materiais celulósicos multifuncionais de baixo custo e de simples preparação para aplicações em meio aquoso, com o propósito de imobilizar ou de também matar bactérias Gram-positivas apenas ajustando as condições de oxidação e adsorção do polycation nos *beads* de celulose.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ésteres de celulose (EC), termoplásticos derivados da celulose, provaram ter uma grande versatilidade para seu processamento. Do vasto campo de aplicação como materiais de revestimento, foi mostrado que as características morfológicas de seus filmes podem ser facilmente desenhadas pelas condições do ambiente onde os filmes são formados, seja pelo controle da umidade relativa, levando à formação de diferentes topografias, seja pela rápida exposição ao vapor de solvente, onde filmes lisos com rugosidade extremamente baixa podem ser obtidos, conforme ilustrado no esquema da Figura 34.

Os EC mostraram-se também compatíveis com surfactantes neutros atóxicos, como os da família Tween®, cuja adição em pequenas quantidades levam ao abaixamento controlado da temperatura de transição vítrea (T_g), tornando-os processáveis até mesmo em temperatura ambiente.

Por outro lado, esses materiais podem se tornar mais resistentes quando nanocristais de celulose (CNC) são incorporadas em sua matriz. O conhecimento do comportamento coloidal dessas cargas em soluções de um éster de celulose como o CAB, pode prevenir falhas na estrutura dos materiais de nanocompósitos resultantes e potencializar suas propriedades mecânicas.

E por fim, embora os ésteres de celulose não tenham sido os materiais mais adequados para produção de *beads*, foram fabricados materiais celulósicos multifuncionais para aplicação bactericida em meio aquoso, utilizando materiais baratos, como fibras de celulose utilizadas na produção de papel e um método de produção bastante simples.

Figura 34. Esquema representativo dos principais resultados obtidos nessa tese

PERSPECTIVAS

Os resultados apresentados nessa tese evidenciam a versatilidade e potencialidade dos materiais celulósicos com perspectivas de aplicação e desenvolvimento de novas linhas de pesquisa em áreas como de tratamento de água envolvendo metais pesados e microorganismos (*beads* de celulose – BC); suporte para imobilização de biomoléculas, enzimas e sistemas catalíticos (BC e filmes de EC lisos e nanoestruturados); produção de filmes (i) para revestimento de superfícies flexíveis (EC + Tween), (ii) resistentes (EC + CNC), (iii) superhidrofóbicas com propriedades autolimpantes; para controle da propagação de luz – anti reflexo e (iv) modelos para microestruturação de metais (filmes de EC nanoestruturados); e devido a biocompatibilidade desses materiais, para o desenvolvimento de suportes para cultura de células, os quais requerem propriedades mecânicas adequadas e alta porosidade (BC e filmes de EC nanoestruturados contendo CNC e/ou Tween).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM D1795-94. Standard Test Method for Intrinsic Viscosity of Cellulose, 2001;
- ADAMSON, A. W. (Ed.) *Physical Chemistry of Surfaces*, 5^a ed., Toronto: Wiley, 1990;
- AHMED, A. EL-S. I.; HAY, J. N.; BUSHELL, M. E.; WARDELL, J. N.; CAVALLI, G. Biocidal polymers (II): Determination of biological activity of novel *N*-halamine biocidal polymers and evaluation for use in water filters. **Reactive and Functional Polymers**, 68, 1448–1458, 2008;
- AMIM JR., J.; KOSAKA, P. M.; PETRI, D. F. S. Characteristics of thin cellulose ester films spin-coated from acetone and ethyl acetate solutions. **Cellulose**, 15, 527–535, 2008;
- AMIM JR., J.; KOSAKA, P. M.; PETRI, D. F. S. MAIA, F. C. B.; MIRANDA, P. B. Stability and interface properties of thin cellulose ester films adsorbed from acetone and ethyl acetate solutions. **Journal of Colloid and Interface Science**, 332, 477–483, 2009a;
- AMIM JR., J.; KAWANO, Y.; PETRI, D. F. S. Thin films of carbohydrate based surfactants and carboxymethylcellulose acetate butyrate mixtures: Morphology and thermal behavior. **Materials Science and Engineering C**, 29, 420–425, 2009b;
- AMIM JR., J.; PETRI, D. F. S. Effect of amino-terminated substrates onto surface properties of cellulose esters and their interaction with lectins. **Materials Science and Engineering C**, 32, 348–355, 2012;
- AMIM JR., J.; PETRI, D. F. S.; MAIA, F. C. B.; MIRANDA, P. B.; Filmes ultrafinos de ésteres de celulose: preparo, caracterização e imobilização de proteínas. **Química Nova**, 33, 2064–2069, 2010;
- ARAKI, J.; WADA, M.; KUGA, S. Steric Stabilization of a Cellulose Microcrystal Suspension by Poly(ethylene glycol) Grafting. **Langmuir**, 17, 21–27, 2001;
- ARTHANAREESWARAN, G.; THANIKAVELAN, P. Fabrication of cellulose acetate–zirconia hybrid membranes for ultrafiltration applications: Performance, structure and fouling analysis. **Separation and Purification Technology**, 74, 230–235, 2010;
- ATIYA, M. C.; VADGAMA, P.; MANDLER, D. Preparation, characterization and applications of ultrathin cellulose acetate Langmuir–Blodgett films. **Soft Matter**, 3, 1053–1063, 2007;
- AZZAM, R. M. A.; BASHARA, N. M. (Eds.) *Ellipsometry and Polarized Light*, Amsterdam: North-Holland P. L., 1987;
- BAI, Y. X.; LI, Y. F. Preparation and characterization of crosslinked porous cellulose beads. **Carbohydrate Polymers**, 64, 402–407, 2006;
- BALOGH, L.; SWANSON, D. R.; TOMALIA, D. A.; HAGNAUER, G. L.; MCMANUS, A. T. Dendrimer-Silver Complexes and Nanocomposites as Antimicrobial Agents. **Nano Letters**, 1, 18–21, 2001;
- BATTISTA, O. A. Hydrolysis and Crystallization of Cellulose. *Industrial and Engineering Chemistry* 42, 502–507, 1950;
- BEYTH, N.; YUDOVIN-FARBER, I.; BAHIR, R.; DOMB, A. J.; WEISS, E. I. **Biomaterials**, 27, 3995–4002, 2006;
- BILLMEYER JR., F. W. (Ed.) *Textbook of Polymer Science*, New York: John Wiley & Sons Inc., 1984;
- BILLY, M.; DA COSTA, A. R.; LOCHON, P.; CLÉMENT, R.; DRESCH, M.; JONQUIÈRES, A. Cellulose acetate graft copolymers with nano-structured architectures: Application to the purification of bio-fuels by pervaporation. **Journal of Membrane Science**, 348, 389–396, 2010;
- BLACKWELL, J.; MARCHESSAULT, R. H. In *Cellulose and Cellulose Derivatives*; Bikales, N., Segal, L., (Eds.), Wiley Interscience: New York, Part IV, Chapter XII, 1–37, 1971;
- BOLOGNESI, A.; MERCOGLIANO, C.; YUNUS, S.; CIVARDI, M.; COMORETTO, D.; TURTURRO, A. Self-Organization of Polystyrenes into Ordered Microstructured Films and Their Replication by Soft Lithography. **Langmuir**, 21, 3480–3485, 2005;
- BONARDELLI, P.; MOGGI, G. Glass transition temperatures of copolymer and terpolymer fluoroelastomers. **Polymer**, 27, 905–909, 1986;
- BOUHDADI, R.; BENHADI, S.; MOLINA, S.; GEORGE, B.; EL MOUSSAOUITI, M.; MERLIN, A. **Maderas. Ciencia y tecnología**, 13, 105–116, 2011;

- BRAUN, B.; DORGAN, J. R. Single-Step Method for the Isolation and Surface Functionalization of Cellulosic Nanowhiskers. **Biomacromolecules**, *10*, 334–341, 2009;
- BRITO, B. S. L.; PEREIRA, F. V.; PUTAUX, J. L.; JEAN, B. Preparation, morphology and structure of cellulose nanocrystals from bamboo fibers. **Cellulose**, *19*, 1527–1536, 2012;
- BUCKLAND, A. G.; HEELEY, E. L.; WILTON, D. C. **Biochimica et Biophysica Acta**, *1484*, 195–206, 2000;
- CARMONA-RIBEIRO, A. M.; CARRASCO, L. D. M. Cationic Antimicrobial Polymers and Their Assemblies. **International Journal of Molecular**, *14*, 9906–9946, 2013;
- CARRILLO, F.; MARTÍN, G.; LÓPEZ-MESAS, M.; COLOM, X.; CAÑAVATE, J. High modulus regenerated cellulose fibre-reinforced cellulose acetate butyrate biocomposites. **Journal of Composite Materials**, *0*, 1–8, 2010;
- CHEUNG, K. P.; GROVER, R.; WANG, Y.; GURKOVICH, C.; WANG, G.; SCHEINBEIM, J. Substrate effect on the thickness of spin-coated ultrathin polymer film. **Applied Physics Letters**, *87*, 214103, 2005;
- CHUANG, H. F.; SMITH, R. C.; HAMMOND, P. T. Polyelectrolyte multilayers for tunable release of antibiotics. **Biomacromolecules**, *9*, 1660–1668, 2008;
- CLEMENTI, E. A.; MARKS, L. R.; ROCHE-HÅKANSSON, H.; HÅKANSSON, A. P. Monitoring Changes in Membrane Polarity, Membrane Integrity, and Intracellular Ion Concentrations in *Streptococcus pneumoniae* Using Fluorescent Dyes. **Journal of Visualized Experiments**, *84*, e51008, 2014;
- DARIO, A. F.; MACIA, H. B.; PETRI, D. F. S. Nanostructures on spin-coated polymer films controlled by solvent composition and polymer molecular weight. **Thin Solid Films**, *524*, 185–190.
- DE GROOTE, P. H.; DEVAUX, J.; GODARD, P.; Effect of Benzenesulfonamide Plasticizers on the Glass-Transition Temperature of Semicrystalline Polydodecamide. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, *40*, 2208–2218, 2002;
- DE MENEZES, A. J.; SIQUEIRA, G.; CURVELO, A. A. S.; DUFRESNE, A. Extrusion and characterization of functionalized cellulose whisker reinforced polyethylene Nanocomposites. **Polymer**, *50*, 4552–4563, 2009;
- DE MESQUITA, J. P.; DONNICI, C. L.; TEIXEIRA, I. F.; PEREIRA, F. V. Bio-based nanocomposites obtained through covalent linkage between chitosan and cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, *90*, 210–217, 2012;
- DE NOOY, A. E. J.; BESEMER, A. C.; BEKKUM, H. V. Highly selective TEMPO mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, *113*, 165–166, 1994;
- DE NOOY, A. E. J.; BESEMER, A. C.; BEKKUM, H. V. Highly selective nitroxyl radical-mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans. **Carbohydrate Research**, *269*, 89–98, 1995;
- DE NOOY, A. E. J.; BESEMER, A. C.; BEKKUM, H. V. DIJK, J. A. P. P. V.; SMIT, J. A. M. Highly selective TEMPO mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides. **Macromolecules**, *29*, 6541–6547, 1996;
- DE OLIVEIRA, W.; GLASSER, W. G. Hydrogels from Polysaccharides. II. Beads with Cellulose Derivatives. **Journal of Applied Polymer Science**, *61*, 81–86, 1996;
- DE PAULA, E. L.; MANO, V.; PEREIRA, F. V. Influence of cellulose nanowhiskers on the hydrolytic degradation behavior of poly(d,l-lactide). **Polymer Degradation and Stability**, *96*, 1631–1638, 2011;
- DE RODRIGUEZ, N. L.; THIELEMANS, W.; DUFRESNE, A. Sisal cellulose whiskers reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. **Cellulose**, *13*, 261–270, 2006;
- DUARTE, A. P.; BORDADO, J. C.; CIDADE, M. T. Cellulose Acetate Reverse Osmosis Membranes: Optimization of Preparation Parameters. **Journal of Applied Polymer Science**, *103*, 134–139, 2007;
- DUFRESNE, A. Polysaccharide nanocrystal reinforced nanocomposites. **Canadian Journal of Chemistry**, *86*, 484–494, 2008;
- EDGAR, K. J. Cellulose esters in drug delivery. **Cellulose**, *14*, 49–64, 2007;

- EDGAR, K. J.; BUCHANAM, C. M.; DEBENHAM, J. S.; RUNDQUIST, P. A.; SEILER, B. D.; SHELTON, M. C.; TINDALL, D. Advances in cellulose ester performance and application. **Progress in Polymer Science**, 26, 1605–1688, 2001;
- EICHHORN, S. J. Cellulose nanowhiskers: promising materials for advanced applications. **Soft Matter**, 7, 303–315, 2011;
- EICHHORN, S. J.; DUFRESNE, A.; ARANGUREN, M.; MARCOVICH, N. E.; CAPADONA, J. R.; ROWAN, S. J.; WEDER, C.; THIELEMANS, W.; ROMAN, M.; RENNECKAR, S.; GINDL, W.; VEIGEL, S.; KECKES, J.; YAHIO, H.; ABE, K.; NOGI, M.; NAKAGAITO, A. N.; MANGALAM, A.; SIMONSEN, J.; BENIGHT, A. S.; BISMARCK, A.; BERGLUND, L. A.; PEIJS T. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **Journal of Materials Science**, 45, 1-33, 2010;
- EL SEOUD, O. A.; HEINZE, T. Organic Esters of Cellulose: New Perspectives for Old Polymers. **Advances in Polymer Science**, 186, 103-149, 2005;
- FELDSTEIN, M. M.; SHANDRYUK, G. A.; PLATÉ, N. A.; Relation of glass transition temperature to the hydrogen-bonding degree and energy in poly(*N*-vinyl pyrrolidone) blends with hydroxyl-containing plasticizers. Part 1. Effects of hydroxyl group number in plasticizer molecule. **Polymer**, 41, 971-979, 2001;
- FISCHER, D.; LI, Y.; AHLEMEYER, B.; KRIEGLSTEIN, J.; KISSEL, T. In vitro cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis. **Biomaterials**, 24, 1121–1131, 2003;
- FORSTER, B. M.; MARQUIS, H. Protein transport across the cell wall of monoderm Gram-positive bacteria. **Molecular Microbiology**, 84, 405–413, 2012;
- FRENCH, A. D. *Cellulose Chemistry and its Applications*. NEVEL, T. P.; ZERONIAN, S. H. (Eds.) Chichester: Elis Horwood, 85, 1985;
- FROLLINI, E.; LEÃO, A.; MATTOSO, L. H. C. (Eds.) *Natural Polymers and Agrofibers Based Composites*, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2000;
- GERICKE, M.; TRYGG, J.; FARDIM, P. Functional Cellulose Beads: Preparation, Characterization, and Applications. **Chemical Reviews**, 113, 4812–4836, 2012;
- GHEBREMESKEL, A. N.; VEMAVARAPU, C.; LODAYA, M. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Stability testing of selected solid dispersions. **Pharmaceutical Research**, 23, 1928-1936, 2006;
- GHEBREMESKEL, A. N.; VEMAVARAPU, C.; LODAYA, M. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Selection of polymer–surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability. **International Journal of Pharmaceutics**, 328, 119-129, 2007;
- GLIEMANN, H.; ALMEIDA, A. T.; PETRI, D. F. S.; SCHIMMEL, T. Nanostructure formation in polymer thin films influenced by humidity. **Surface and Interface Analysis**, 39, 1-8, 2007;
- GOY, R. C.; DE BRITTO, D.; ASSIS, O. B. D. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 19, 241-247, 2009;
- GRUETZMANN, R.; WAGNER, K. G.; Quantification of the leaching of triethyl citrate/polysorbate 80 mixtures from Eudragit® RS films by differential scanning calorimetry. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 60, 159-162, 2005;
- GRUNERT, M.; WINTER, W. T. Nanocomposites of Cellulose Acetate Butyrate Reinforced with Cellulose Nanocrystals. **Journal of Polymers and the Environment**, 10, 27-30, 2002;
- GUO, R.; ZHANG, L.; QIAN, H.; LI, R.; JIANG, X.; LIU, B. Multifunctional nanocarriers for cell imaging, drug delivery, and near-IR photothermal therapy. **Langmuir**, 26, 5428-5434;
- HABIBI Y.; LUCIA L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. **Chemical Reviews**, 110, 3479-3500, 2010;
- HAGE JR., E. Aspectos Históricos sobre o Desenvolvimento da Ciência e da Tecnologia de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 8, 6-9, 1998;
- HARRIS, M. R.; GHEBRE-SELLASSIE, I. Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms. In: MCGINITY, J. W. (Eds.) *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, New York: Marcel Dekker, 1997;

- HAWK, R. Wise Geek: What is cellulose acetate butyrate? Disponível em: <<http://www.wisegeek.com/what-is-cellulose-acetate-butyrate.htm>>. Acessado em: 03 de setembro de 2014;
- HAWORTH, W. N. The structure of carbohydrates. **Helvetica Chimica Acta**, 11, 534–548, 1928;
- HEINZE, T. Chemical Functionalization of Cellulose. In: DUMITRIU, S., (Ed.) *Polysaccharides - Structural Diversity and Functional Versatility*, 2^a ed., New York: M. Dekker, 551-590, 2005;
- HEINZE, T.; LIEBERT, T. Chemical characteristics of cellulose acetate. **Macromolecular Symposia**, 208, 167–238, 2004;
- HEINZE, T.; LIEBERT, T.; KOSCHELLA, A. Esterification of polysaccharides. Berlin: Springer, 2006;
- HEINZE, T.; POHL, M.; SCHALLER, J.; MEISTER, F. Novel Bulky Esters of Cellulose. **Macromolecular Bioscience**, 7, 1225-1231, 2007;
- HIROTA, M.; TAMURA, N.; SAITO, T.; ISOGAI, A. Surface carboxylation of porous regenerated cellulose beads by 4-acetamide-TEMPO/NaClO/NaClO₂ system. **Cellulose**, 16, 841-851, 2009a;
- HIROTA, M.; TAMURA, N.; SAITO, T.; ISOGAI, A. Oxidation of regenerated cellulose with NaClO₂ catalyzed by TEMPO and NaClO under acid-neutral conditions. **Carbohydrate Polymers**, 78, 330-335, 2009b;
- JANG, J.; LEE, D. K. Plasticizer effect on the melting and crystallization behavior of polyvinyl alcohol. **Polymer**, 44, 8139-8146, 2003;
- JONOOBI, M.; AITOMÄKI, Y.; MATHEW, A. P.; OKSMAN, K. Thermoplastic polymer impregnation of cellulose nanofibre networks: Morphology, mechanical and optical properties. **Composites: Part A**, 58, 30–35, 2014;
- KALIA, S.; DUFRESNE, A.; CHERIAN, B. M.; KAITH, B. S.; AVÉROUS, L.; NJUGUNA, J.; NASSIOPOULOS, E. Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review. **International Journal of Polymer Science**, 2011, 1-35, 2011;
- KAMEL, S.; ALI, N.; JAHANGIR, K. SHAH, S. M.; EL-GENDY, A. A. Pharmaceutical significance of cellulose: A review. **eXPRESS Polymer Letters**, 2, 758–778, 2008;
- KARBSTEIN, H.; SCHUBERT, H. Developments in the continuous mechanical production of oil-in-water macro-emulsions. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, 34, 205-211, 1995;
- KASAI, W.; KONDO, T. Fabrication of Honeycomb-Patterned Cellulose Films. **Macromolecular Bioscience**, 4, 17–21, 2004;
- KENNEDY, J. F.; BARKER, S. A.; ROSEVEAR, A. Preparation of a water-insoluble trans-2,3-cyclic carbonate derivative of macroporous cellulose and its use as a matrix for enzyme immobilization. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, 2293-2299, 1973;
- KIM, J.; MONTERO, G.; HABIBI, Y.; HINESTROZA, J. P.; GENZER, J.; ARGYROPOULOS, D. S.; ROJAS, O. J. Dispersion of Cellulose Crystallites by Nonionic Surfactants in a Hydrophobic Polymer Matrix. **Polymer Engineering & Science**, 49, 2054–2061, 2009;
- KONDO, T. Hydrogen Bonds in Cellulose and Cellulose Derivatives. In: DUMITRIU, S., (Ed.) *Polysaccharides - Structural Diversity and Functional Versatility*, 2^a ed., New York: M. Dekker, 69–98, 2005;
- KONTTURI, E.; TAMMELIN, T.; ÖSTERBERG, M. **Chemical Society Reviews**, 35, 1287–1304, 2006;
- KOSAKA, P. M.; KAWANO, Y.; PETRI, D. F. S. Dewetting and surface properties of ultrathin films of cellulose esters. **Journal of Colloid and Interface Science**, 316, 671–677, 2007a;
- KOSAKA, P. M.; KAWANO, Y.; EL SEOUD, O. A.; PETRI, D. F. S. Catalytic activity of lipase immobilized onto ultrathin films of cellulose esters. **Langmuir**, 23, 12167-12173, 2007b;
- KOSAKA, P. M.; KAWANO, Y.; PETRI, H. M.; FANTINI, M. C. A.; PETRI, D. F. S. Structure and properties of composites of polyethylene or maleated polyethylene and cellulose or cellulose esters. **Journal of Applied Polymer Science**, 103, 402-411, 2007c;
- KOSAKA, P. M.; KAWANO, Y.; SALVADORI, M. C.; PETRI, D. F. S. Characterization of ultrathin films of cellulose esters. **Cellulose**, 12, 351-359, 2005;

- KOSAKA, P.; AMIM JR.M J.; SAITO, R. S. N.; PETRI, D. F. S. Thermodynamics of Cellulose Esters Surfaces. In: ROMAN, M. (Eds.) *Model Cellulosic Surfaces*. ACS Symposium Series 1019. American Society Chemistry, Washington DC: Oxford University Press, 223-241, 2009;
- KÜGLER, R.; BOULOSSA, O.; RONDELEZ, F. Evidence of a charge-density threshold for optimum efficiency of biocidal cationic surfaces. **Microbiology**, 151, 1341-1348, 2005;
- LASPIDOU, C. S.; ARAVAS, N. Variation in the mechanical properties of a porous multi-phase biofilm under compression due to void closure. **Water Science & Technology**, 55, 447-453, 2007;
- LEE, M.; KIM, G. P.; SONG, H. D.; PARK, S.; YI, J. Preparation of energy storage material derived from a used cigarette filter for a supercapacitor electrode. **Nanotechnology**, 25, 1-8, 2014;
- LIDE, D. R. (Ed.), CRC Handbook Chemistry and Physics – 85° ed., Boca Raton: CRC Press, 2004;
- LIMAYE, A. V.; NARHE, R. D.; DHOTE, A. M.; OGALE, S. B. Evidence for Convective Effects in Breath Figure Formation on Volatile Fluid Surfaces. **Physics Letters**, 76, 3762-3765, 1996;
- LIN, Y. C.; MÜLER, M.; BINDER, K. Stability of thin polymer films: influence of solvents. **Journal of Chemical Physics**, 121, 3816-3828, 2004;
- LIU, W.; LIU, R.; LI, Y.; WANG, W.; MA, L.; WU, M.; HUANG, Y. Self-organized ordered microporous thin films from grafting copolymers. **Polymer**, 50, 2716-2726, 2009;
- MARCHESSAULT, R. H.; MOREHEAD, F. F.; WALTER, N. M. Liquid crystal systems from fibrillar polysaccharides. **Nature**, 184, 632-633, 1959;
- MELO, L. D.; PALOMBO, R. R.; PETRI, D. F. S.; BRUNS, M.; PEREIRA, E. M. D.; CARMONA-RIBEIRO, A. M. Structure-Activity Relationship for Quaternary Ammonium Compounds Hybridized with Poly(methyl methacrylate). **ACS Applied Materials & Interfaces**, 3, 1933-1939, 2011;
- MEYER, K. H.; MARK, H. Über den Bau des krystallisierten Anteils der Cellulose. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, 61, 593-614, 1928;
- MEYER, K. H.; MISCH, L. Position des atomes dans le nouveau module spatial de la cellulose. **Helvetica Chimica Acta**, 20, 232-244, 1937;
- MILLS, N. (Ed.) Polymer Foams Handbook – Engineering and Biomechanics Applications and Design Guide. Burlington: Butterworth-Heinemann, 2007;
- MUKHERJEE, S. M.; SIKORSKI, J.; WOODS, H. J. Electron-microscopy of degraded cellulose fibres. **Journal of the Textile Institute Transactions**, 43, 196-201, 1952
- MÜLLER-BUSCHBAUM, P.; GUTMANN, J. S.; WOLKENHAUER, M.; KRAUS, J.; STAMM, M.; SMILGIES, D.; PETRY, W. Solvent-Induced Surface Morphology of Thin Polymer Films. **Macromolecules**, 34, 1369-1375, 2001;
- NEURATH, A. R.; STRICK, N.; LI, Y. Y.; DEBNATH, A. K. Cellulose acetate phthalate, a common pharmaceutical excipient, inactivates HIV-1 and blocks the coreceptor binding site on the virus envelope glycoprotein gp120. **BMC Infectious Disease**, 1, 17, 2001;
- NEURATH, A. R.; STRICK, N.; LI, Y. Y.; DEBNATH, A. K. Water dispersible microbicidal cellulose acetate phthalate film. **BMC Infectious Disease**, 3, 27, 2003;
- NISHIKAWA, S.; ONO, S. X-ray diffraction of cotton cellulose fibers. **Proceedings of the Tokyo Mathematico-Physical Society**. 7, 131, 1913;
- OGEDA, T. L. Hidrólise Enzimática de Celulosas Pré-tratadas. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2011;
- PAENG, K.; SWALLEN, S. F.; EDIGER, M. D. Direct Measurement of Molecular Motion in Freestanding Polystyrene Thin Films. **Journal of the American Chemical Society**, 133, 8444-8447, 2011;
- PALIK, E. D. (Ed.) Handbook of Optical Constants of Solids, Orlando: Academic Press, 1985;
- PARIS, J. L. Carboxymethylcellulose Acetate Butyrate Water-Dispersions as Renewable Wood Adhesives. Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University, 2010;
- PARK, M. S.; JOO, W.; KIM, J. K. Porous structures of polymer films prepared by spin-coating with mixed solvents under humid condition. **Langmuir**, 22, 4594-4598, 2006;
- PERÉZ, S.; MAZEAU, K. Conformations, Structures, and Morphologies of Celluloses. In: DUMITRIU, S., (Ed.) *Polysaccharides - Structural Diversity and Functional Versatility*, 2^a ed., New York: M. Dekker, 41-68, 2005;

- PETERSSON, L.; MATHEW, A. P.; OKSMAN, K. Dispersion and Properties of Cellulose Nanowhiskers and Layered Silicates in Cellulose Acetate Butyrate Nanocomposites. **Journal of Applied Polymer Science**, 112, 2001–2009, 2009;
- PETERSSON, L.; OKSMAN, K. Preparation and Properties of Biopolymer-Based Nanocomposite Films Using Microcrystalline Cellulose. **Cellulose Nanocomposites**, 938, 132–150, 2006;
- PETRI, D. F. S. Characterization of Spin-Coated Polymer Films. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 13, 695–699, 2002;
- PETRI, D. F. S.; WENZ, G.; SCHUNK, P.; SCHIMMEL, T. An improved method for the assembly of amino-terminated monolayers on SiO₂ and the vapor deposition of gold layers. **Langmuir**, 15, 4520–4523, 1999;
- POSEY-DOWTY, J. D.; SEO, K. S.; WALKER, K. R.; WILSON, A. K. Carboxymethylcellulose acetate butyrate in water-based automotive paints. **Surface Coatings International Part B-Coatings Transactions**, 85, 203–208, 2002;
- POSEY-DOWTY, J. D.; WATTERSON, T. L.; WILSON, A. K.; EDGAR, K. J.; SHELTON, M. C.; LINGERFELT JR., L. R. Zero-order release formulations using a novel cellulose ester. **Cellulose**, 14, 73–83, 2007;
- QI, B.; CHEN, X.; WAN, Y. Pretreatment of wheat straw by nonionic surfactant-assisted dilute acid for enhancing enzymatic hydrolysis and ethanol production. **Bioresource Technology**, 101, 4875–83, 2010;
- RAVI, V.; BOSE, S. C.; KUMAR, T. M. P.; SIDDARAMAIAH. Decolorization of Distillery Effluent Using Poly(Vinyl Chloride) and Cellulose Acetate Phthalate as Adsorbents. **Journal of Macromolecular Science, Part A**, 43, 1247–1254, 2006;
- RAMANATHAN, M.; DARLING, S. B. Mesoscale morphologies in polymer thin films. **Progress in Polymer Science**, 36, 793–812, 2011;
- RÅNBY, B. G.; BANDERET, A.; SILLÉN, L. G. Aqueous Colloidal Solutions of Cellulose Micelles. **Acta Chemica Scandinavica**, 3, 649–650, 1949;
- RODRIGUES, D.; ROCHA-SANTOS, T. R.; SOUSA, S.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. M.; MALCATA, F. X.; LOBO, J. M. S.; SILVA, J. P.; COSTA, P.; AMARAL, M. H.; FREITAS, A. C. On the viability of five probiotic strains when immobilised on various polymers. **International Journal of Dairy Technology**, 64, 137–144, 2011;
- RODRÍGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATÉ, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International**, 39, 840–846, 2006;
- ROMAN, M. Model Cellulosic Surfaces: History and Recent Advances. In: ROMAN, M. (Ed.) *Model Cellulosic Surfaces*. ACS Symposium Series 1019. American Society Chemistry, Washington DC: Oxford University Press, 3–53, 2009;
- RUSLI, R.; EICHHORN, S. Determination of the stiffness of cellulose nanowhiskers and the fiber-matrix interface in a Nanocomposite Using Raman Spectroscopy. **Applied Physics Letters**, 93, 033111, 2008;
- SABDEA, A. D.; TRIVEDIA, M. K.; RAMACHANDHRAN, V.; HANRAB, M. S.; MISRA, B. M. Casting and characterization of cellulose acetate butyrate based UF membranes. **Desalination**, 114, 223–232, 1997;
- SAITO, T.; ISOGAI, A. TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. The Effect of Oxidation Conditions on Chemical and Crystal Structures of the Water-Insoluble Fractions. **Biomacromolecules**, 5, 1983–1989, 2004;
- SAITO, T.; NISHIYAMA, Y.; PUTAUX, J. L.; VIGNON, M.; ISOGAI, A. Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. **Biomacromolecules**, 7, 1687–1691, 2006;
- SAKURADA, L.; NUKUSHINA, Y.; ITO, T. Experimental determination of the elastic modulus of crystalline regions in oriented polymers. **Journal of Polymer Science**, 57, 651–660, 1962;
- SAMIR, M. A. S. A.; ALLOIN, F.; SANCHEZ, J.-Y.; EL KISSI, N.; DUFRESNE, A. Preparation of Cellulose Whiskers Reinforced Nanocomposites from an Organic Medium Suspension. **Macromolecules**, 37, 1386–1393, 2004;

- SEALEY, J. E.; SAMARANAYAKE, G.; TODD, J. G.; GLASSER, W. G. Novel cellulose derivatives. IV. Preparation and thermal analysis of waxy esters of cellulose. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, *34*, 1613-1620, 1996;
- SESCOUSSE, R.; GAVILLON, R.; BUDTOVA, T. Wet and dry highly porous cellulose beads from cellulose-NaOH-water solutions: influence of the preparation conditions on beads shape and encapsulation of inorganic particles. **Journal of Materials Science**, *46*, 759-765, 2011;
- SEYMOUR, R. B. (Ed.) Polymer composites, New York: VSP Publishers, 1990;
- SHANBHAG, A.; BARCLAY, B.; KOZIARA, J.; SHIVANAND, P. Application of cellulose acetate butyrate-based membrane for osmotic drug delivery. **Cellulose**, *14*, 65-71, 2007;
- SILBERBERG, A. Adsorption of Flexible Macromolecules. IV. Effect of Solvent-Solute Interactions, Solute Concentration, and Molecular Weight. **Journal of Chemical Physics**, *48*, 2835-2851, 1968;
- SILVA, R. A.; URZÚA, M. D.; PETRI, D. F. S. Lysozyme binding to poly(4-vinyl-N-alkylpyridinium bromide). **Journal of Colloid and Interface Science**, *330*, 310-316, 2009;
- SKORNYAKOV, I. V.; KOMAR, V. P. IR spectra and the structure of plasticized cellulose acetate films. **Journal of Applied Spectroscopy**, *65*, 911-918, 1998;
- SMITH, R. E. Accu Dyne Test: Surface Tension, Hansen Solubility Parameters, Molar Volume, Enthalpy of Evaporation, and Molecular Weight of Selected Liquids. Disponível em: www.accudynetest.com. Acessado em: 17 de dezembro de 2014;
- SORDI, M. L. T.; RIEGEL, I. C.; CESCHI, M. A.; MÜLLER, A. H. E.; PETZHOLD, C. L. Synthesis of block copolymers based on poly (2,3-epithiopropylmethacrylate) via RAFT polymerization and preliminary investigations on thin film formation. **European Polymer Journal**, *46*, 336-344, 2010;
- STAUDINGER, H. Die Chemie der hochmolekularen organischen Stoffe im Sinne der Kekuléschen Strukturlehre. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, *59*, 3019-3043, 1926;
- STRAWHECKER, K. E.; KUMAR, S. K.; DOUGLAS, J. F.; KARIM, A. The Critical Role of Solvent Evaporation on the Roughness of Spin-Cast Polymer Films. **Macromolecules**, *34*, 4669-4672, 2001;
- SWATLOSKI, R. P.; SPEAR, S. K.; HOLBREY, J. D.; ROGERS, R. D. Dissolution of cellulose with ionic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, *124*, 4974-4975, 2002;
- TILLER, J. C.; LEE, S. B.; LEWIS, K.; KLIBANOV, A. M. Polymer surfaces derivatized with poly(vinyl-N-hexylpyridinium) kill airborne and waterborne bacteria. **Biotechnology and Bioengineering**, *79*, 465-471, 2002;
- TILLER, J. C.; LIAO, C. J.; LEWIS, K.; KLIBANOV, A. M. Designing surfaces that kill bacteria on contact. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, *98*, 5981-5985, 2001;
- TRYGG, J.; FARDIM, P. Enhancement of cellulose dissolution in water-based solvent via ethanol-hydrochloric acid pretreatment. **Cellulose**, *18*, 987-994, 2011;
- TRYGG, J.; FARDIM, P.; GERICKE, M.; MÄKILÄ, E.; SALONEN, J. Physicochemical design of the morphology and ultrastructure of cellulose beads. **Carbohydrate Polymers**, *93*, 291, 2013;
- TRYGG, J.; YILDIR, E.; KOLAKOVIC, R.; SANDLER, N.; FARDIM, P. Anionic cellulose beads for drug encapsulation and release. **Cellulose**, *21*, 1945-1955, 2014;
- TURBAK, A. F.; SNYDER, F. W.; SANDBERG, K. R. Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. **Journal of Applied Polymer Science. Applied Polymer Symposium**, *37*, 815-827, 1983;
- URZÚA, M. D.; RÍOS, H. E. Adsorption of poly(4-vinylpyridine) N-alkyl quaternized at the chloroform/water interface. **Polymer International**, *52*, 783-789, 2003;
- VAN DEN BERG, O.; CAPADONA, J. R.; WEDER, C. Preparation of homogeneous dispersions of tunicate cellulose whiskers in organic solvents. **Biomacromolecules**, *8*, 1353-1357, 2007;
- VIDAL, A. C. F. O renascimento de um mercado: o setor de celulose solúvel. **Papel e Celulose BNDES Setorial**, *38*, 79-130, 2013;
- VILLANOVA, J.; PATRICIO, P. S. O.; PEREIRA, F. V.; ORÉFICE, R. L. Pharmaceutical Acrylic Beads Obtained By Suspension Polymerization Containing Cellulose Nanowhiskers As Excipient For Drug Delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, *42*, 406-415, 2011;

- WANG, J.; LI, M.; WEI, L.; MA, Y.; LI, K.; YU, Y. Cellulose/collagen beads prepared using ionic liquid for Cu(II) adsorption from aqueous solutions. **Advanced Materials Research**, 535-537, 2365-2369, 2012;
- WANG, T.; LI, B.; LIN, L. Preparation, characterization, and bacteriostasis of AgNP-coated β -CD grafting cellulose beads. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 169, 1811-1821, 2013;
- WEISNER, B. Lysozyme (muramidase). In: BERGMAYER, H. U.; BERGMAYER, J.; GRASSL, M. (Eds.) *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie, 189-195, 1984;
- WELLS, A. Plastics Historical Society: Cellulose Acetate. Disponível em: <<http://www.plastiquarian.com/index.php?id=59>>. Acessado em: 03 de setembro de 2014;
- WIDAWSKI, G.; RAWISO, M.; FRANÇOIS, B. Self-organized honeycomb morphology of star-polymer polystyrene films. **Nature**, 369, 387-389 1994;
- WINTER, H. T.; CERCLIER, C.; DELORME, N.; BIZOT, H.; QUEMENER, B.; CATHALA, B. Improved Colloidal Stability of Bacterial Cellulose Nanocrystal Suspensions for the Elaboration of Spin-Coated Cellulose-Based Model Surfaces. **Biomacromolecules**, 11, 3144-3151, 2010;
- WONDRACZEK, H.; PETZOLD-WELCKE, K.; FARDIM, P.; HEINZE, T. Nanoparticles from conventional cellulose esters: evaluation of preparation methods. **Cellulose**, 20, 751-760, 2013;
- XIONG, X.; ZHANG, L.; WANG, Y. Polymer fractionation using chromatographic column packed with novel regenerated cellulose beads modified with silane. **Journal of Chromatography A**, 1063, 71-77, 2005;
- YANG, Q. W.; FLAMENT, M. P.; SIEPMANN, F.; BUSIGNIES, V.; LECLERC, B.; HERRY, C.; TCHORELOFF, P.; SIEPMANN, J. Curing of aqueous polymeric film coatings: Importance of the coating level and type of plasticizer. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 74, 362-370, 2010a;
- YANG, S.; FU, S.; LI, X.; ZHOU, Y.; ZHAN, H. Preparation of Salt-Sensitive and Antibacterial Hydrogel Based on Quaternized Cellulose. **BioResources**, 5, 1114-1125, 2010b;
- YU, H.; FU, G.; HE, B. Preparation and adsorption properties of PAA-grafted cellulose adsorbent for low-density lipoprotein from human plasma. **Cellulose**, 14, 99-107, 2007;
- ZHANG, P.; PENG, L.; LI, W. Application of ionic liquid [bmim]PF₆ as green plasticizer for poly(L-lactide). **E-Polymers**, 172, 1-6, 2008;
- ZOPPE, J. O.; ÖSTERBERG, M.; VENDITTI, R. A.; LAINE, J.; ROJAS, O. J. Surface Interaction Forces of Cellulose Nanocrystals Grafted with Thermoresponsive Polymer Brushes. **Biomacromolecules**, 12, 2788-2796, 2011;

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Leandro Schafranski Blachechen

Local e data de nascimento: União da Vitória/PR – 17 de abril de 1986.

EDUCAÇÃO

2000-2001: *Ensino Médio.* Colégio São José (Porto União/SC)

2001-2002: *Ensino Médio.* Colégio Estadual Cel Cid Gonzaga (Porto União/SC)

2002-2003: *Ensino Médio.* Colégio Técnico COLTEL (União da Vitória/PR)

2004-2006: *Licenciatura em Química.* Faculdade Estadual de Filosofia, Ciências e Letras - FAFIUV (União da Vitória/PR)

2007-2010: *Bacharelado e Licenciatura em Química.* Universidade Federal do Paraná – UFPR (Curitiba/PR)

jul/2007 – jan/2010: *Iniciação Científica.* Laboratório de Biopolímeros – BIOPOL

Título: Xiloglucanas em Sistemas Líquidos e em Géis

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Rita Sierakowski

Bolsista: mar/2008 – jan/2010 (IC – CNPq)

2010-2014: *Doutorado Direto em Química.* Universidade de São Paulo – USP (São Paulo/SP), Instituto de Química, Laboratório de Filmes Finos e Macromoléculas

Título: Propriedades físico-químicas de sistemas compostos por materiais celulósicos e aditivos funcionais

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Denise Freitas Siqueira Petri

Bolsista: mar/2010 – jul/2010 (Mestrado – CNPq – Proc. 130544/2010-8)

ago/2010 – jul/2011 (Mestrado – CAPES – PROEX)

ago/2011 – dez/2012 e jan/2014 – out/2014 (Doutorado – CAPES
– Rede NANOBIOTEC)

2013-2014: *Doutorado Sanduíche. Åbo Akademi (Turku – Finlândia), laboratório
Fibre and Cellulose Technology*

Título: Desenvolvimento e caracterização de materiais celulósicos
multifuncionais

Orientadores: Prof. Dr. Pedro Fardim e Dr.^a Denise Freitas Siqueira Petri

Bolsista: jan/2013 – dez/2013 (Doutorado – Ciência sem Fronteiras - Proc.
236847/2012-0)

ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

AMIM JR., J.; BLACHECHEN, L. S.; PETRI, D. F. S. Effect of sorbitan-based surfactants on
glass transition temperature of cellulose esters. **Journal of Thermal Analysis and
Calorimetry**, 107, 1259–1265, 2012;

BLACHECHEN, L. S.; SOUZA, M. A.; PETRI, D. F. S. Effect of humidity and solvent vapor
phase on cellulose esters films. **Cellulose**, 19, 443–457, 2012;

BLACHECHEN, L. S.; SILVA, J. O.; BARBOSA, L. R. S.; ITRI, R.; PETRI, D. F. S. Hofmeister
effects on the colloidal stability of poly(ethylene glycol)-decorated nanoparticles.
Colloid Polymer Science, 290, 1537–1546, 2012;

BLACHECHEN, L. S.; DE MESQUITA, J. P.; DE PAULA, E. L.; PEREIRA, F. V.; PETRI, D. F.
S. Interplay of colloidal stability of cellulose nanocrystals and their dispersibility in
cellulose acetate butyrate matrix. **Cellulose**, 20, 1329–1342, 2013;

BLACHECHEN, L. S.; FARDIM, P.; PETRI, D. F. S. Multifunctional cellulose beads and
their interaction with Gram positive bacteria. **Biomacromolecules**, 15, 3440-
3448, 2014;

RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

BLACHECHEN, L. S.; PETRI, D. F. S. Estabilidade Coloidal de Nanopartículas de PMMA decoradas com Polietilenoglicol na presença de ânions da série de Hofmeister. In: 3º encontro sobre Estruturas Auto-Organizadas em Soluções e Interfaces – AUTOORG, São Pedro, 2012;

AMIM JR., J.; BLACHECHEN, L. S.; PETRI, D. F. S. Caracterização e atividade antimicrobiana de filmes da blenda acetato butirato carboximetilcelulose/poli(brometo de 4-vinil-N-pentil piridínio). In: 11º Congresso Brasileiro de Polímeros – CBPOL, Campos de Jordão, 2011;

BLACHECHEN, L. S.; PETRI, D. F. S. Efeito da umidade e do vapor de solvente na morfologia de filmes finos poliméricos. In: 11º Congresso Brasileiro de Polímeros – CBPOL, Campos de Jordão, 2011;

BLACHECHEN, L. S.; PETRI, D. F. S. Efeito plastificante do surfactante Tween 20 em filmes finos de acetato ftalato de celulose (C-A-P). XVIII Encontro de Química da Região Sul – SBQSul, Curitiba, 2010;

BLACHECHEN, L. S.; PETRI, D. F. S. Thin films of cellulose acetate phthalate (C-A-P) plasticized with non-ionic surfactant (Tween20). In: 7th International Symposium on Natural Polymers – ISNAPOL, Gramado, 2010;

ESTÁGIOS EM ENSINO

Preparação pedagógica e auxiliar didático em laboratórios de Físico-Química Experimental no período de mar/2010 a jul/2010;

Estágio supervisionado em Docência na disciplina de Química Geral no período de ago/2010 a dez/2010;

Estágio supervisionado em Docência na disciplina de Química Geral no período de mar/2011 a jul/2011;