



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências

**Desenvolvimento de sistemas 3D porosos de  
celulose nano e microfibrilada para libertação  
controlada do óleo de eucalipto  
em terapias respiratórias**

(Versão final após defesa)

**Henrique Nelson Mariti**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Química Medicinal**

(2º Ciclo de Estudos)

Orientadora: Professora Doutora Joana Maria Rodrigues Curto

**Covilhã, agosto de 2018**

## Dedicatória

Á minha esposa Emaha e aos nossos anjinhos, Amado e Abigail.

Todos querem o perfume das flores, mas  
poucos sujam as suas mãos para cultivá-las.

*“Augusto Cury”*

# Agradecimentos

Agradeço a Deus pela bênção da vida, por todas as oportunidades de estudo, por estar comigo nas dificuldades, por ser o meu amparo e por renovar as minhas forças a cada dia.

Agradeço aos meus pais, irmãos e sobrinhos, que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo superior, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Agradeço à Professora Doutora Joana Curto, minha orientadora, pela sua disponibilidade, disposição, dedicação, paciência, cedência das matérias-primas que foram utilizadas neste trabalho e a cima de tudo pelo suporte incondicional, apoio incansável e pela sua ótima orientação.

Agradeço à Flávia por todo apoio e auxílio na realização de trabalhos experimentais.

Agradeço à Doutora Ana Paula do Centro de Ótica por todo apoio e disponibilidade na aquisição de imagens do Microscópio Electrónico de Varrimento e nos estudos de análise do DSC.

Aos docentes do Departamento de Química, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos colegas do curso de mestrado em Química Medicinal, pela convivência e partilha de conhecimento.

Aos amigos e amigas, que fiz durante essa formação, que se tornaram muitos especiais na minha vida, Benjamim, Mpanzu Nelo, Xavier, Nadir, Cahilo, António, Elias, Morais, Alma, Edna, Mariquinha, Angelina, Rosa, Cidália agradeço muito pela amizade, conversas risadas e incentivo de todos vocês.

Meus agradecimentos aos amigos de longa data, Abel Tenete, Alcides, Kuzo, Quitamba, Salamba, Azevedo, Mununga, Guilherme e irmãos na amizade que fizeram parte da minha trajetória académica e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

À Escola superior Politécnica do Moxico, em especial o Dr Victor da Silva, Dr Manuel Chilongo e o Dr Ernesto Gabriel Dumba, pelo apoio incondicional e pela confiança depositada.

Ao Ministério do Ensino superior e à Direção Nacional de Formação Avançada e Investigação Científica de Angola por me terem selecionado para essa formação. E ao INAGBE pelo suporte financeiro.

A todos aqueles que me tenha esquecido de citar neste breve agradecimento, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

# Resumo

A celulose nano e microfibrilada, devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, alta resistência e flexibilidade será usada para desenvolver sistema 3D porosos, visando o transporte e liberação controlada de moléculas. Neste estudo desenvolveram-se e testaram-se sistemas de transporte de molécula (STM) obtidos a partir de celulose microfibrilada (CMF) e celulose nanofibrilada (CNF) de *Eucalyptus globulus*, para aplicações em terapias respiratórias. A metodologia para obter CMF consistiu na desintegração e refinação da pasta de celulose Kraft branqueada de *Eucalyptus globulus*, num PFI laboratorial a 9000 revoluções, com posterior adição de CMC como aditivo (concentrações de 0,1, 0,01 e 0,001% m/v). Verificou-se por medição do ângulo de contato, que a adição de CMC aumenta a hidrofobicidade das estruturas. A CNF utilizada foi obtida por oxidação com TEMPO seguida de tratamento mecânico num homogeneizador de alta Pressão, a partir de pasta Kraft branqueada de *Eucalyptus globulus*, tendo-se verificado que esta produz estruturas com poros menores. As estruturas obtidas foram caracterizadas em folha por avaliação da gramagem, espessura e porosidade global. Determinou-se o °SR para avaliar o efeito da refinação na drenagem das pastas e concluiu-se que a CMF apresenta valores de °SR superiores relativamente à pasta não refinada. Utilizou-se o Morfi para medir o comprimento e largura das fibras (comprimento de 0,8mm e largura de 19µm) e o microscópio electrónico de varrimento para medir as dimensões das microfibrilas (1-8µm) e das nanofibrilas (40nm). Representaram-se as moléculas em 3D e fizeram-se as simulações computacionais das estruturas em estudo. Produziram-se sistemas de liberação controlada a partir da celulose (CMF, CNF e CMC) utilizando o alginato como agente de fixação da estrutura. Testaram-se vários óleos contendo moléculas terapêuticas e utilizando FTIR-ATR determinou-se a sua composição química e presença de moléculas e grupos funcionais, tendo-se escolhido o óleo de eucalipto como sendo o mais promissor para aplicações em terapias respiratórias. Os sistemas produzidos foram analisados por calorimetria diferencial de varrimento (CDV) e os resultados indicam que o sistema desenvolvido tem a capacidade de retenção e liberação controlada das moléculas terapêuticas contidas no óleo de eucalipto.

## Palavras-chaves

Celulose microfibrilada (CMF), Celulose nanofibrilada (CNF), fibras de *Eucalyptus globulus*, Sistema de transporte de moléculas (STM), óleo de eucalipto.

# Abstract

The nano and microfibrillated cellulose due to its biocompatibility, biodegradability, high strength and flexibility, can be used to form a porous 3D matrix, and form a system of controlled transport and release of molecules. The objective of the work is to develop 3D systems from microfibrillated cellulose (CMF) and nanofibrillated cellulose (CNF) of *Eucalyptus globulus* for medicinal purposes. Bleached Kraft pulp of *Eucalyptus globulus*, nano and microfibrillated fibers obtained from that pulp, and carboxymethylcellulose (CMC) were used as materials. The methodology consisted of the disintegration and refining of Kraft pulp to obtain CMF and the use of different concentrations of CMC (0.1, 0.01 and 0.001% m/v). The characterization of the structures in the form of films was followed by evaluation of the weight, thickness and overall porosity. The °SR was determined to evaluate the effect of beating on the drainage of the pulps and it was concluded that the MFC presented higher values of °SR than those of the non beaten pulps. Morfi was used to measure the length and width of the fibers (length 0.8mm and width 19µm) and the scanning electron microscope (SEM) to measure the dimensions of microfibrils (1-8µm) and nanofibrils (40nm) and pore sizes. The chemical composition of the eucalyptus essential oil was evaluated by Fourier Transform Infrared spectroscopy coupled to the attenuated total reflection (FTIR-ATR) technique. 3D molecular representations were done using ChemSketch from ACD labs and 3D computational simulations of the structures under study were performed using a validated computational simulator. Controlled release systems were produced using cellulose matrixes made from CMF, CNF and CMC, and the alginate was used as a fixing agent. Several essential oils containing therapeutic molecules were tested and the eucalyptus oil was chosen as the most promising for respiratory therapy applications. The systems produced were analyzed by differential scanning calorimetry (DSC) and the results indicate that the chosen system has the ability to retain and release the therapeutic molecules contained in the eucalyptus essential oil.

## Keywords

Microfibrillated cellulose (MFC), Nanofibrillated cellulose (NFC), *Eucalyptus globulus* fibers, Molecule Transport System (MTS), Eucalyptus oil

# Índice

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
1.2. Objetivos .....	2
CAPÍTULO II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1. Sistema de Entrega de Fármacos (SEF) .....	3
2.2. Celulose .....	4
2.3. Nanocelulose .....	5
2.4. Celulose Nanofibrilada (CNF) .....	6
2.5. Carboximetilcelulose (CMC) .....	7
2.6. Celulose Microfibrilada (CMF).....	8
2.7. Alginato .....	9
2.8. Propriedades medicinais do óleo de eucalipto .....	10
3.1. Materiais.....	12
3.2. Métodos .....	12
3.2.1. Determinação do teor de matéria seca (TMS).....	12
3.2.2. Desintegração para formação de folhas de celulose. ....	12
3.2.3. Refinação para a obtenção da celulose microfibrilada (CMF) .....	13
3.3. Caracterização físicas das estruturas das suspensões fibrosas.....	14
3.3.1. Biometria das fibras de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	14
3.3.2. Drenabilidade.....	14
3.3.4. Propriedades estruturais da folha .....	15
3.3.5. Porosidade .....	16
3.3.6. Determinação superficial das estruturas em folha pelo ângulo de contato .....	16
3.3.7. Microscópio electrónico de varrimento (MEV).....	17
3.4. Modelação molecular dos monómeros de celulose dos polímeros envolvido, alginato, CMF, glicerol e a molécula terapêutica eucaliptol .....	17
3.5. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à técnica de Reflexão Total Atenuada (FTIR - ATR).....	18
3.6. Produção do sistema de transporte.....	18
3.7. Simulação Computacional .....	19

3.8. Estudos cinéticos de liberação do sistema de transporte produzido utilizando DSC.....	20
3.9. Formação de estruturas com a celulose nanofibrilada e microfibrilada.....	20
CAPÍTULO IV. APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
4.1. Análise biométricas das fibras .....	21
4.2. Caracterização da drenagem pelo grau Schopper-Riegler (°SR) .....	23
4.3. Estrutura molecular 3D das principais moléculas.....	24
4.4. Caracterização das folhas de pasta refinada e não refinada .....	25
4.5. Caracterização das estruturas em folha .....	25
4.6. Estudo da composição Química dos óleos essenciais.....	31
4.7. Obtenção e caracterização do sistema de transporte.....	33
4.8. Simulação Computacional .....	34
4.9. Análise dos estudos cinéticos no DSC .....	35
CAPÍTULO V. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO .....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA .....	39
APÊNDICE .....	45
APÊNDICE A: Lista de Publicações.....	45
APÊNDICE B: Espectros .....	50
APÊNDICE C: Cálculos da porosidade .....	55

## Lista de Figuras

<b>Figura 2.1</b> - Imagens de sistemas de entrega de fármacos adaptados de (Curto <i>et al</i> , 2016; Coelho <i>et al</i> , 2010) .....	3
<b>Figura 2.2</b> - Representação esquemática da estrutura química e das ligações de hidrogénio intra e intermolecular na celulose adaptado de (Lin Dufrene.,2014) .....	4
<b>Figura 2.3</b> - Unidade de celobiose, elaborado no programa Chems sketch versão 11.02 .....	4
<b>Figura 2.4</b> - Imagem de um gel de CNF .....	6
<b>Figura 2.5</b> - Estrutura molecular de uma unidade de CMC, elaborado no programa Chems sketch v.11.02 .....	7
<b>Figura 2.6</b> - Estrutura molecular de uma unidade de CMF, elaborado no programa Chems sketch versão 11.02 .....	8
<b>Figura 2.7</b> - Estrutura molecular do alginato elaborado no programa Chems sketch 11.02 .....	10
<b>Figura 2.8</b> - Estrutura molecular do eucaliptol ou 1,8 - cineol, elaborado no programa Chems sketch v.11.02.....	10
<b>Figura 3.1</b> - Imagens da celulose Kraft branqueado e do desintegrador .....	13
<b>Figura 3.2</b> - Imagem do equipamento PFI MILL .....	13
<b>Figura 3.3</b> - Imagem do computador e os componentes do Morfi.....	14
<b>Figura 3.4</b> - Equipamento de medição do grau Schopper-Riegler e os componentes do °SR .	15
<b>Figura 3.5</b> - Equipamento de medição de espessura micrómetro .....	15
<b>Figura 3.6</b> - Imagem do equipamento ângulo de contato .....	16
<b>Figura 3.7</b> - Imagens representativa da preparação de amostras para o MEV e a imagem do MEV da Faculdade de Ciência de Saúde da UBI .....	17
<b>Figura 3.8</b> - Imagens representativa da deposição de uma fibra e localização espacial de várias fibras de celulose.....	19
<b>Figura 4.1-</b> Gráfico de distribuição de comprimento de fibras ponderado em comprimento..	22
<b>Figura 4.2-</b> Gráfico de distribuição de largura de fibras em percentagem.....	23
<b>Figura 4.3</b> - Imagens de estruturas de pasta Kraft não refinada e refinada .....	25
<b>Figura 4.4-</b> Imagens do MEV pasta Kraft refinada com medição de fibra.....	27
<b>Figura 4.5.a)</b> - Imagens do MEV pasta Kraft refinada com medição de largura.....	27
<b>Figura 4.5.b)</b> - Imagens do MEV pasta Kraft refinada com medição de poros.....	28

<b>Figura 4.5.c)</b> - Imagens do MEV da folha de pasta Kraft refinada com medição de espessura.	28
<b>Figura 4.6.a)</b> -Imagens do MEV da folha de pasta Kraft não refinada com medição de poro.....	29
<b>Figura 4.6.b)</b> -Imagens do MEV da folha de pasta Kraft não refinada com medição de poros.....	29
<b>Figura 4.6.c)</b> - Imagens do MEV da folha de pasta Kraft não refinada com medição de espessura.....	30
<b>Figura 4.7</b> - Espectro no IV para amostra de pasta Kraft refinada + óleo de eucalipto.....	31
<b>Figura 4.8</b> - Espectro comparativo de absorção na região de IV da pasta Kraft + óleo de eucalipto / espectros encontrados na biblioteca do FTIR.....	32
<b>Figura 4.9</b> - Espectro de absorção FTIR-ATR para a pasta Kraft refinada .....	33
<b>Figura 4.10</b> - Esquema representativo do processo de obtenção dos sistema de transporte de moléculas.....	33
<b>Figura 4.11 a)</b> - Imagens 3D de rede criada em computador da pasta Kraft não refinada.....	34
<b>Figura 4.11 b)</b> - Imagens 3D de rede criada em computador da pasta Kraft refinada.....	35
<b>Figura 4.12</b> - Gráfico comparativo obtido por DSC do STM.....	36

## Lista de Tabelas

Tabela 2.1. Dimensões de nanomateriais celulósicos adaptado de (Osong <i>et al</i> , 2016) .....	5
Tabela 4.1. Principais resultados obtidos no Morfi relativamente á morfologia das fibras.....	21
Tabela 4.2. Distribuição do comprimento da fibra ponderado em comprimento .....	22
Tabela 4.3. Grau Schopper-Riegler (°SR) .....	23
Tabela 4.4. Resultados das estruturas em 2D e 3D das principais moléculas em estudo .....	24
Tabela 4.5. Resultados em média dos ensaios físicos realizados para a gramagem, espessura, porosidade e ângulo de contato .....	26
Tabela 4.6. Fase de temperatura de transição.....	37

## Lista de Acrónimos ou abreviaturas

**CB** - Celulose Bacteriana

**CDV** - Calorimetria diferencial de varrimento

**CMC** - Carboximetilcelulose

**CMF** - Celulose microfibrilada

**CNF** - Celulose nanofibrilada

**DSC** - *Diferntial Scanning Calorimetry*

**EO** - *Essential oil*

**FTIR-ATR** - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à técnica de Reflexão Total Atenuada.

**IV**- infravermelho

**MEV** - Microscópio Electrónico de Varrimento

**NCC** - Nanocristais de celulose

**OE** - Óleo Essencial

**SEF** - Sistema de entrega de Fármacos

**SEM** - *Scanning Electron Microscope*

**°SR** - Grau Schopper-Riegler

**STM** - Sistema de transporte de moléculas

**TMS** - Teor de Massa Seca

# CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

## 1. Introdução

Os sistemas de entrega de fármacos têm a finalidade de transportar e libertar controladamente as moléculas terapêuticas e dessa forma prolongar o seu tempo de ação (Kreuter, 2014; Jorfi e Foster, 2014; Chik *et al*, 2014). As vantagens do uso dos SEF poliméricos à base de celulose, são elevadas em comparação com as formas mais convencionais de dosagem, como por exemplo os comprimidos tornando-os eficazes e, por sua vez, mais seguros (Curto *et al*, 2016; Jorfi e Foster, 2015).

O estudo sobre sistemas de libertação controlada está em constante crescimento, pois visa melhorar e prolongar o controlo da administração de fármacos. Quando este sistema de libertação controlada é comparado a outros sistemas de dosagem convencional, algumas vantagens são encontradas como por exemplo, diminuição da toxicidade e maior tempo de permanência do fármaco na circulação sanguínea (Azevedo, 2002; Lyra, 2007).

O óleo de eucalipto é muitas vezes utilizado devido as suas propriedades medicinais, tais como propriedades anti-inflamatórias, antifúngicas, antibacteriana, antidiabéticas, antivirais, anticancerígenas, antimutagénicas, antimicrobianas e antiprotozoárias (Burt, 2004; Hussain *et al*, 2008; Teixeira *et al*, 2013; Bakkali *et al*, 2008). Possui também ação secretora nas vias respiratórias, elevada volatilidade, odor agradável e solubilidade parcial em água (Pandit *et al*, 2016).

Os métodos convencionais de administração de fármacos, embora amplamente utilizados, demonstram várias limitações, como baixa eficácia, agregação ou transporte difícil, baixa controlabilidade, meia vida curta, elevada toxicidade e fraca estabilidade (Martins *et al*, 2016; Tiwari *et al*, 2012). Estas limitações podem ser potencialmente superadas por sistemas de transporte de moléculas terapêuticas de forma que possam prolongar no tempo a sua ação (Liu *et al*, 2014).

A utilização de matérias-primas provenientes da celulose (CMF, CNF e CMC) para o desenvolvimento de novos materiais inovadores no transporte de moléculas com propriedades medicinais pode constituir uma alternativa viável devido às suas excelentes propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade e disponibilidade na natureza (Hubbe *et al*, 2008; Nakagaito *et al*, 2009).

## 1.2. Objetivos

O presente estudo tem como objetivo, desenvolver sistemas poliméricos porosos 3D, a partir de celulose nano e microfibrilada de *Eucalyptus globulus* para transporte e libertação do óleo de eucalipto, extraídos de plantas medicinais, para aplicações em terapias respiratórias.

Para a materialização deste trabalho são descritos como objetivos específicos:

1. Produzir laboratorialmente a pasta de celulose microfibrilada (CMF) por refinação a partir da pasta kraft de *Eucalyptus globulus*;
2. Utilizar e caracterizar a pasta de CNF produzida laboratorialmente a partir pasta de celulose kraft de *Eucalyptus globulus* em trabalhos anteriores;
3. Caracterizar as fibras de celulose e de celulose microfibrilada utilizando o Morfi, grau Schopper-Riegler, gramagem, porosidade, ângulo de contato, microscópio electrónico de varrimento e o FTIR-ATR;
4. Fazer modelação molecular dos monómeros de celulose, alginato, celulose microfibrilada, carboximetilcelulose, eucaliptol e glicerol, no programa Chemscketch;
5. Simular computacionalmente as estruturas poliméricas porosas utilizando um simulador de materiais validado (Curto *et al*, 2011a);
6. Produzir laboratorialmente os sistemas de transporte a partir de celulose microfibrilada utilizando carboximetilcelulose, alginato, glicerol e óleo essencial de eucalipto;
7. Comparar os dados experimentais com dados computacionais;
8. Estudar a libertação dos óleos escolhidos a partir dos sistemas de transporte de moléculas (STM) desenvolvidos, utilizando calorimetria diferencial de varrimento (CDV) ou *Diferntial Scanning Calorimetry* (DSC)).

A presente dissertação está dividida em cinco capítulos. O Capítulo um explica o contexto do trabalho e os objetivos. O capítulo dois apresenta a revisão bibliográfica contendo os aspetos mais relevantes para a dissertação e o capítulo três descreve os materiais e os métodos utilizados na produção dos STM e na sua caracterização. O capítulo quatro apresenta e discute os resultados obtidos e o capítulo cinco inclui as conclusões e sugestões para trabalhos futuros. Seguem-se as referências bibliográficas, as comunicações feitas no decorrer do trabalho e os anexos.

# CAPÍTULO II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 2.1. Sistema de Entrega de Fármacos (SEF)

Os Sistema de entrega de fármacos (SEF), ilustrados na figura 2.1, são estruturas para administração de um composto farmacêutico com objetivo de desencadear um efeito terapêutico em humanos ou animais. Os SEF são sistemas concebidos para transporte, entrega no alvo ou liberação controlada de agentes ou moléculas terapêuticas (Tiwari *et al*, 2012). A nanotecnologia tem vindo a ser utilizada para o desenvolvimento de SEF inovadores, de forma a atingir o efeito terapêutico pretendido de liberação controlada (Liu *et al*, 2014). As nanopartículas poliméricas biodegradáveis, têm sido estudadas para o desenvolvimento de SEF. A finalidade é obter sistemas com propriedades otimizadas de carga, liberação controlada do fármaco, longa vida útil, baixa toxicidade, pequenas dimensões e utilização de materiais biodegradáveis (Tiwari *et al*, 2012; Singh *et al*, 2009).

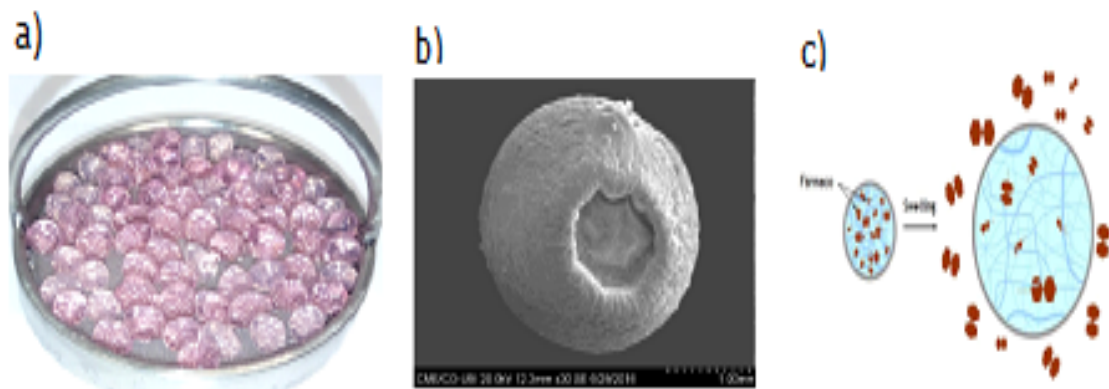


Figura 2.1 Imagens exemplificativas de sistemas de entrega de fármacos (SEF) a) SEF de alginato; b) Imagem obtidas por SEM do SEF de alginato e CNF (Curto *et al*, 2016) e c) SEF, resultante de “swelling” (adaptado de Coelho *et al*, 2010).

Os polímeros naturais, incluindo o colagénio, quitosano, alginato, amido e celulose, têm recebido atenção crescente para vários usos em aplicações biomédicas e farmacêuticas. A celulose, em particular, tem sido objeto de intensa pesquisa devido a sua biodegradabilidade, sustentabilidade e biossegurança. Os polímeros são por isso utilizados numa série de materiais e dispositivos biomédicos e farmacêuticos, englobando dispositivos curativos para feridas, implantes médicos, administração de fármacos controlando a taxa de liberação dos mesmos e “Scaffolds” para a engenharia de tecidos (Jorfi e Foster, 2015).

## 2.2. Celulose

A celulose ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub>, onde n é o grau de polimerização é um polímero ou homopolissacarídeo fibroso, resistente, linear, composto por unidades de D-anidroglicopiranosose ligadas por ligações β-(1-4)-glicosídicas, de acordo a figura 2.2, assumindo uma conformação em cadeira com sucessivos resíduos de glicose que rodam num ângulo de 180° sobre o eixo molecular e também grupos hidroxilos numa posição equatorial (Lin e Dufresne, 2014). Sendo que os dois anéis glicosídicos, invertidos entre si, formam uma unidade de celulose denominada celobiose de acordo a figura 2.3 (Klemm *et al*, 2005).

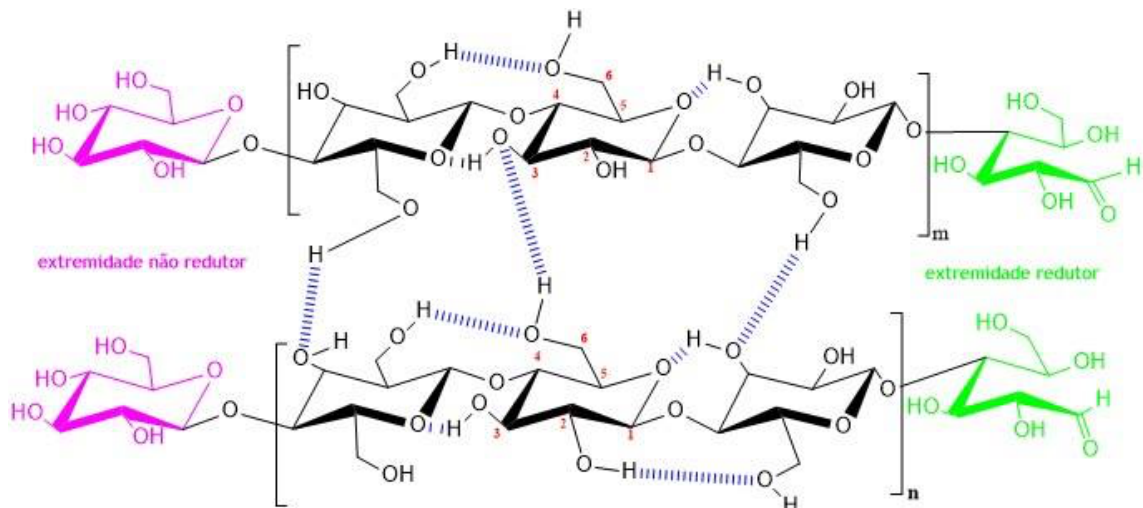


Figura 2.2. Representação esquemática da estrutura química e das ligações de hidrogênio intra e intermolecular na celulose. elaborado no programa Chems sketch (versão 11.02).

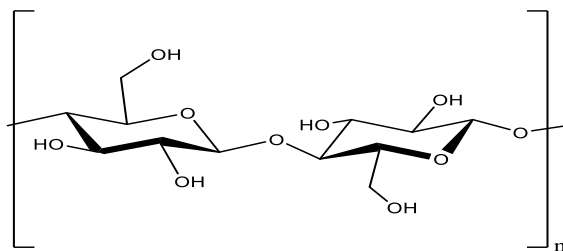


Figura 2.3: Unidade de Celobiose, elaborado no programa Chems sketch (versão 11.02).

A celulose é o polissacárido mais abundante na terra e tem sido utilizada para uma ampla gama de aplicações devido à sua renovabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (Chen *et al*, 2006). Essas propriedades são as razões pelas quais, durante a década passada, foram desenvolvidos bio aerogéis de celulose (Saelices *et al*, 2016). A celulose proveniente

das plantas pode ser considerada uma fonte inesgotável de materiais biodegradáveis e de grande capacidade para a modificação química (Zeni *et al*, 2015).

Os polissacarídeos são considerados materiais poliméricos promissores na preparação de nanopartículas para sistemas de administração de fármacos (Butun *et al*, 2011).

### 2.3. Nanocelulose

Com o surgimento e o desenvolvimento da nanotecnologia, a celulose, o polímero natural mais antigo e importante na terra, atrai atenção na forma de "nanocelulose". A nanocelulose é descrita como proveniente de celulose nativa (encontrada em plantas, animais e bactérias) quando composta pelo material de estrutura nanométrica. Ela é obtida a partir da celulose nativa e sua utilização como material biomédico, deve-se à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (Lin e Dufresne, 2014).

A família de nanocelulose pode ser dividida em três tipos: nanocristais de celulose (CNC); celulose nanofibrilada (CNF), com outras designações tais como nanofibrilas de celulose (NFC) ou celulose bacteriana (BC) (Lin e Dufresne, 2014). Estas variedades podem diferir na fonte de matéria-prima utilizada, bem como no método utilizado para a sua obtenção, sendo que a sua escolha influencia tanto o seu tamanho como as suas propriedades (Peng *et al*, 2012).

A tabela 2.1 facilita a comparação dos tipos de celulose e a distribuição das suas dimensões, confirmadas por microscópio e análise de imagem (Osong *et al*, 2016).

Tabela 2.1. Dimensões de nanomateriais celulósicos, adaptado de (Osong *et al*, 2016).

Nanomateriais celulósicos	Largura (nm)	Comprimento (nm)	Aspect ratio (comprimento/largura)
Nanocristais de celulose (NCC)	2-20	100-600	10-100
Celulose Microfibrilada (CMF)	10-50 $\mu\text{m}$	0,5-3 mm	30-100
Celulose Nanofibrilada (CNF)	2-10	>10000	>1000
Celulose Bacteriana (CB)	10-40	>1000	100-150

Devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixo custo e fácil disponibilidade, a nanocelulose encontra aplicação em campos de investigações diferentes. No campo biomédico, os cientistas podem aproveitar a resistência da nanocelulose, que a torna adequada em diferentes aplicações, como a regeneração óssea. Em combinação com diferentes materiais pode promover a regeneração da pele de diferentes maneiras. O uso de materiais à base de nanocelulose como dispositivos de administração de fármacos não se limita aos medicamentos convencionais aprovados pela FDA, este pode ser estendido também a novas classes de moléculas terapêuticas, como as provenientes dos óleos extraídos de plantas medicinais ou materiais genéticos como siRNAs (Halib *et al*, 2017).

## 2.4. Celulose Nanofibrilada (CNF)

A CNF, que se pode visualizar na figura 2.4, é uma dispersão altamente viscosa em forma de gel a concentrações relativamente baixas, isto é, uma suspensão aquosa a 1-2% (Besbes *et al*, 2011). Este gel forma-se devido ao forte aumento da área superficial específica e, consequentemente, ao maior número de ligações de hidrogénio (provenientes dos grupos hidroxilo) para o mesmo volume em comparação com fibras celulósicas nativas (Missoum *et al*, 2013).



Figura 2.4. Imagem de um gel de CNF

A CNF pode ser obtida pela desintegração da celulose quando submetida a um processo mecânico de homogeneização, no qual não é degradada, promovendo a exposição e abertura das superfícies anteriormente situadas no interior das fibras, as fibrilas e as microfibrilas (Turbak *et al*, 1983 citados por Andresen *et al*, 2006; Gardner *et al*, 2008; Kolakovic *et al*, 2011). A CNF pode ser obtida através de vários processos, destacando-se os tratamentos mecânicos das fibras de pastas, que consistem na refinação e em processos de homogeneização a alta pressão, alternados por tratamentos químicos ou enzimáticos. Alguns

destes processos produzem a CNF mais longa, mas menos uniformemente dimensionada e menos cristalina. É possível obter a CNF com dimensões mais uniformes utilizando uma oxidação com TEMPO (o radical de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo) seguido de desintegração mecânica mais suave (Besbes *et al*, 2011). De uma forma geral, as técnicas para produção de CNF, necessitam de combinar dois ou mais dos métodos de tratamento, quer seja devido ao baixo rendimento do material nanofibrilado face ao microfibrilado ou devido ao elevado gasto energético. Atualmente, pode aplicar-se um pré-tratamento químico, mecânico ou enzimático e por fim um tratamento de nanofibrilação (Chinga-Carrasco *et al*, 2011).

A CNF tem várias vantagens, tais como diâmetro pequeno, biocompatibilidade, possibilidade de funcionalização e alta resistência (González *et al*, 2002).

## 2.5. Carboximetilcelulose (CMC)

A carboximetilcelulose figura 2.5 é um polissacarídeo solúvel em água possuindo grupos carboxilato e hidroxilo que permitem que este polissacarídeo "verde" e barato, exerça fortes interações com partículas de metal (Butun *et al*, 2011). A sua fórmula empírica é  $[C_6H_{10-x}O_5(CH_2CO_2) x]_n$ , onde o grau de substituição é representado por "x" e o grau de polimerização por "n", sendo o fator que afeta a viscosidade (Varshney e Naithani 2011; Nóbrega e Amorim, 2015). Este polímero tem estabilidade química elevada, é seguro, não tóxico, biocompatível, biodegradável e solúvel em água com grupos carboxilato e hidroxilo, uma vez que permite interações com partículas metálicas (Butun *et al*, 2011).

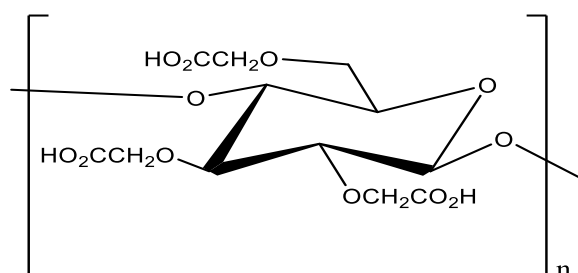


Figura 2.5. Estrutura molecular de uma unidade de CMC (elaborado no programa Chems sketch v.11.02).

A CMC é produzida quando os grupos hidroxil são substituídos pelo grupo carboximetil (Charpentier, 1997 citado por Halib *et al*, 2017). A CMC é um dos derivados importantes da celulose pois tem boa solubilidade, elevada estabilidade química, não é tóxica, é hidrofílica,

biocompatível e biodegradável (Jorfi e Foster, 2014). A CMC em sido utilizado em sistemas de entrega de fármacos, de diferentes formas, por exemplo, para formar uma matriz de microgel, ou como polímero muco-adesivo utilizada em sistemas de administração de fármacos nasais (Shanker *et al*, 2009).

## 2.6. Celulose Microfibrilada (CMF)

A celulose microfibrilada, ver figura 2.6, é uma matéria prima natural biocomptível, renovável, uniforme e altamente cristalina (Hentze, 2010; Yano *et al*, 2007). A CMF obtém-se por desfibrilação mecânica da celulose, que gera fibrilação da parede celular, modifica as suas propriedades estruturais e de superfície, bem como a suas dimensões (Henriksson, 2008; Yano; Nakagaito, 2004).

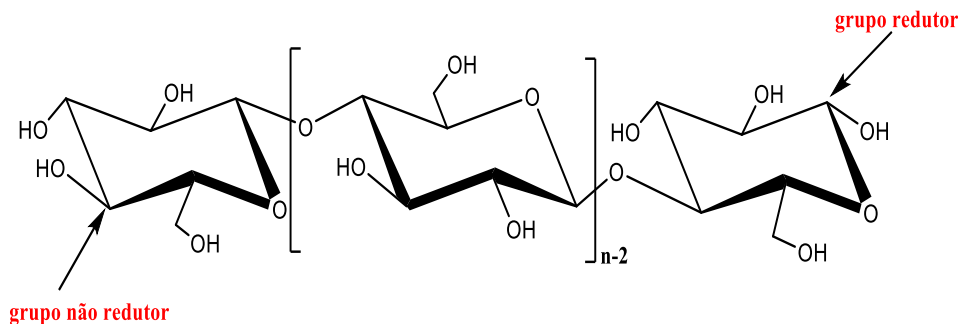


Figura 2.6. Estrutura molecular da CMF, elaborado no programa Chemscketch (v.11.02).

Existem diferentes processos de obtenção de celulose modificada, entre eles, os métodos mecânicos de homogeneização, microfluidização, micro-moagem (desfibrilação) e “cryocrushing” (maceração a baixas temperatura), cada um com suas vantagens e desvantagens (Spence *et al*, 2010). Estes podem combinar-se com métodos de tratamentos enzimáticos, hidrólises ácidas e carboximetilação (Henriksson, 2008).

O processo de micro-moagem ou desfibrilação mecânica é feito por um moinho que produz a fibrilação externa das fibras, descascando as camadas externas da parede celular e expondo as camadas mais internas (Yano; Nakagaito, 2004). Esse fenômeno ocorre porque as fibras de celulose são forçadas por meio de uma abertura entre um disco rotativo e um disco estático, que geram forças de cisalhamento que quebram as ligações de hidrogênio (Plackett, 2010).

As fibrilas de CMF podem atingir diâmetro na faixa de 0,1-5µm e comprimento de 5 a 50µm (Chakraborty *et al* 2006; Torvinen *et al.*, 2011). Por sua vez, a CNF pode atingir diâmetros de 5 a 50 nm e comprimento de 10nm a 100µm, dependendo dos parâmetros de preparação, tais

como o número de vezes que o material passa pelo moinho (Hentze, 2010; Henriksson, 2008; Wang, 2006; Sain, 2007; Spence *et al* ,2010).

Para padronizar podemos definir como CMF materiais obtidos através de processos mecânicos que originam fibrilação com diâmetro na faixa de 25 a 100µm de largura, fibrilas 0,5-5µm e celulose nanofibrilada com diâmetro que pode variar de 5 a 30nm (Sehaqui *et al*, 2011). As CMF e CNF possuem várias propriedades interessantes, como uma área de superfície específica elevada, alta resistência e rigidez, baixo peso, biodegradabilidade e renovabilidade, tendo aplicações em produtos cosméticos e farmacêuticos (Winuprasith *et al*, 2013). As fibras celulósicas em micro e nano escala são atraentes para substituir fibras artificiais e como reforços para produzir produtos ecológicos (Khalil *et al*, 2011). Verifica-se que as micro e nanofibras de celulose evidenciam propriedades de resistência e formação de redes, importante para o reforço em compósitos (Siró e Placket, 2010).

## 2.7. Alginato

O alginato, ver figura 2.7, é um polissacarídeo natural que apresenta excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, tendo diversas aplicações no campo da biomedicina (Xu *et al*, 2007; Hua *et al*. 2010; Lee, Mooney., 2012). O alginato é utilizado em materiais de “Scaffold” tridimensionais aplicáveis, tais como hidrogéis, microesferas, microcápsulas, esponjas, espumas e fibras. Este polímero é isolado a partir de algas castanhas (*Phaeophyceae*), as quais são extraídas com uma solução alcalina diluída que solubiliza o ácido algínico presente, podendo ser convertido num sal do qual o alginato é a forma principal atualmente utilizada (Tonnesen e Karlsen 2002). O alginato pode ser facilmente modificado através de reações químicas e físicas para obter derivados com várias estruturas, propriedades, funções e aplicações (Sol e Tan, 2013).

O papel convencional do alginato na farmacologia inclui servir como espessante, formador de gel e agentes estabilizantes, uma vez que o alginato pode desempenhar um papel significativo em produtos farmacológicos de liberação controlada. As formas de dosagem orais são atualmente o uso mais frequente de alginato em aplicações farmacêuticas, mas o uso de hidrogéis de alginato como depósitos para administração localizada de drogas em tecidos está crescendo. Os biomateriais à base de alginato podem ser utilizados como sistemas de entrega de medicamentos e transportadores de células para engenharia de tecidos (Lee e Mooney.,2012).

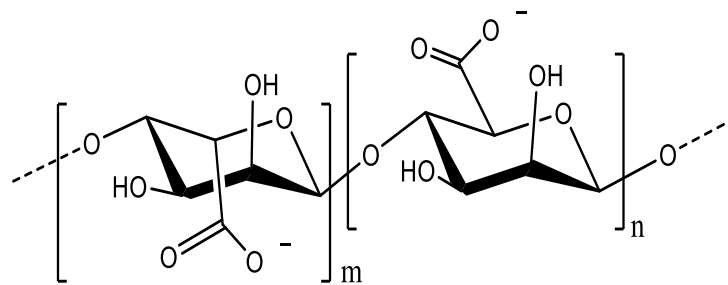


Figura 2.7: Estrutura molecular do Alginato elaborado no programa ChemSketch ( v.11.02)

## 2.8. Propriedades medicinais do óleo de eucalipto

A principal característica medicinal do óleo *Eucalyptus globulus* é a sua ação terapêutica sobre o sistema respiratório pois possui atividade expetorante, antisséptica das vias aéreas e fluidificante da secreção bronquial (Alonso, 1998), além da ação desinfetante (Dayal e Ayyar, 1986; Betts, 2000), antimalárica (Corrêa, 1984), analgésica, anti-inflamatória (Silva *et al*, 2003) e antimicrobiana (Cimanga *et al*, 2002).

Um dos principais componentes do óleo de eucalipto é o eucaliptol (1,8-cineol) ou 1,3,3-trimetil-2-oxabicyclo [2,2,2] octano figura 2.8. O óleo de eucalipto é volátil, incolor e frequentemente usado como agente aromatizante ou expectorante. Além disso, é um componente multifuncional que possui propriedades bactericidas e antifúngicas (Shahi *et al*, 2000).

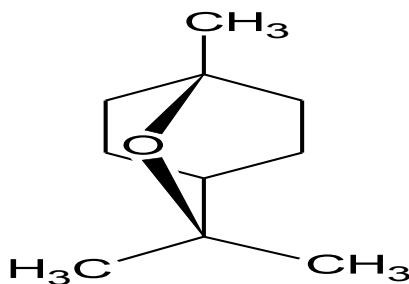


Figura 2.8. Estrutura química do eucaliptol ou 1,8- cineol, elaborado no programa Chems sketch (v.11.02).

Estima-se que cerca de 3000 óleos essenciais são conhecidos, dos quais 300 são comercialmente importantes, especialmente para as indústrias farmacêutica e cosmética. Os óleos essenciais parecem apresentar propriedades medicinais para tratar uma ou outra disfunção orgânica ou doença sistêmica (Silva *et al*, 2003; Hajhashemi *et al*, 2003).

O papel dos óleos essenciais encontrados nas plantas está relacionado com a sua volatilidade, pois, por meio dessa característica, agem como sinais de comunicação química com o reino vegetal e como arma de defesa contra o reino animal (Cardoso *et al*, 2004).

Eles são solúveis em lipídios e em solventes orgânicos, com uma densidade geralmente menor do que a da água, onde eles representam uma parte importante da farmacopeia tradicional (Bakkali *et al*, 2008).

As propriedades farmacológicas atribuídas aos óleos essenciais são diversas e algumas são preconizadas por apresentarem vantagens importantes quando comparadas a outros medicamentos, como por exemplo, a sua volatilidade, que os torna ideal para uso em nebulizações, banhos de imersão ou simplesmente em inalações. A volatilidade e o baixo peso molecular de seus componentes possibilitam que eles sejam rapidamente eliminados do organismo através das vias metabólicas (Bandoni e Czepak, 2008).

# CAPÍTULO III. PARTE EXPERIMENTAL

## 3.1. Materiais

Para a realização deste trabalho, foram usadas diferentes materiais tais como, Fibras de celulose Kraft branqueada de *Eucalyptus globulus* em forma de pasta, que foi fornecida pela Unidade de investigação FibEnTech da Universidade da Beira Interior. A Celulose nanofibrilada (CNF) e o Óleo essencial de *Eucalyptus globulus* foram cedidos pela orientadora Professora Doutora Joana Curto, pertence à Unidade de investigação FibEnTech da Universidade da Beira Interior. A Carboximetilcelulose (CMC) é Sigma-Aldrich, tendo alta viscosidade (1500-3000) cP em 1% H<sub>2</sub>O (25°C) e pureza analítica. O Alginato de sódio e o Cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) são da BDH Chemicals Ltd, England. A Celulose microfibrilada (CMF) foi produzida por nós no laboratório tecnológico de pasta, papel. O Glicerol é da Merck.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Determinação do teor de matéria seca (TMS)

Usou-se uma balança de infravermelho marca Mettler, modelo LJ16 Moisture analyzer, para determinar o TMS das várias amostras em estudos. Colocou-se uma quantidade de amostra na balança. A determinação do teor de matéria seca (TMS) em amostras aplica-se a materiais húmidos ou higroscópicos sujeitos ao aquecimento em condições controladas de laboratório, extraíndo toda a água possível, para se obter um material completamente seco.

### 3.2.2. Desintegração para formação de folhas de celulose.

Para desintegrar as fibras usaram-se 30 g de pasta Kraft seca de eucalipto, ver figura 3.1. Estas foram hidratadas durante 24 horas em 2l de água desmineralizada, posteriormente desintegraram-se à 30000 revolução num desintegrador de laboratório, e de seguida adicionou-se a solução em suspensão num balde com 6l, perfazendo um total de 8l. Posteriormente colocou-se em agitação com velocidade regular, com a finalidade de tornar as fibras mais soltas. Retirou-se um volume da suspensão de fibras e utilizando o formador dinâmico de folha constituído por um cilindro e uma válvula de controlo do escoamento de água. O cilindro possui na base uma teia onde se depositam as fibras que dão origem às estruturas fibrosas, obtém-se a folha. As folhas são empilhadas em aros de secagem, e secas sob tensão em ambiente condicionado, seguindo a norma ISO 5269 e com adaptação na mesma à obtenção de estruturas não prensadas.

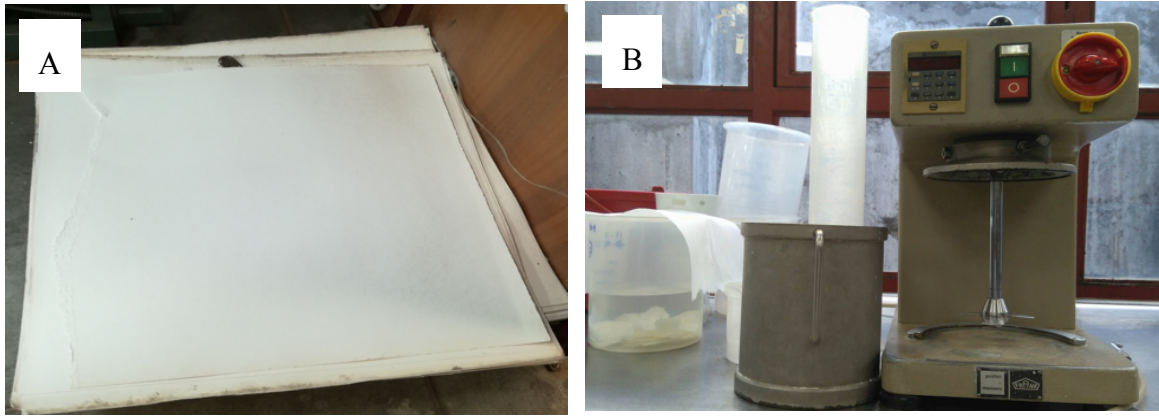


Figura 3.1. a) Imagem da celulose Kraft. b) Imagem do Desintegrador.

### 3.2.3. Refinação para a obtenção da celulose microfibrilada (CMF)

A refinação das pastas fez-se a 10% de consistência no refinador PFI, ver figura 3.2, durante 9000 revoluções. O refinador consiste num disco rotatório (o rotor) e um disco fixo com uma abertura ajustável entre eles, para que por meio do contato mecânico entre as fibras de celulose estas sejam desfibriladas, ou seja se libertem fibrilas da parede das fibras. A distancia entre os discos foi ajustada em cerca de 0,1mm. Após as 9000 revoluções pelo PFI MILL, desintegrou-se a pasta em dois litros de água desmineralizada, durante 10000 revoluções no desintegrador e obteve-se uma suspensão de celulose microfibrilada.

Para a produção de folhas utilizou-se o formador estático de estruturas isotrópicas. As folhas foram empilhadas para secagem em arcos e colocadas no laboratório condicionado.

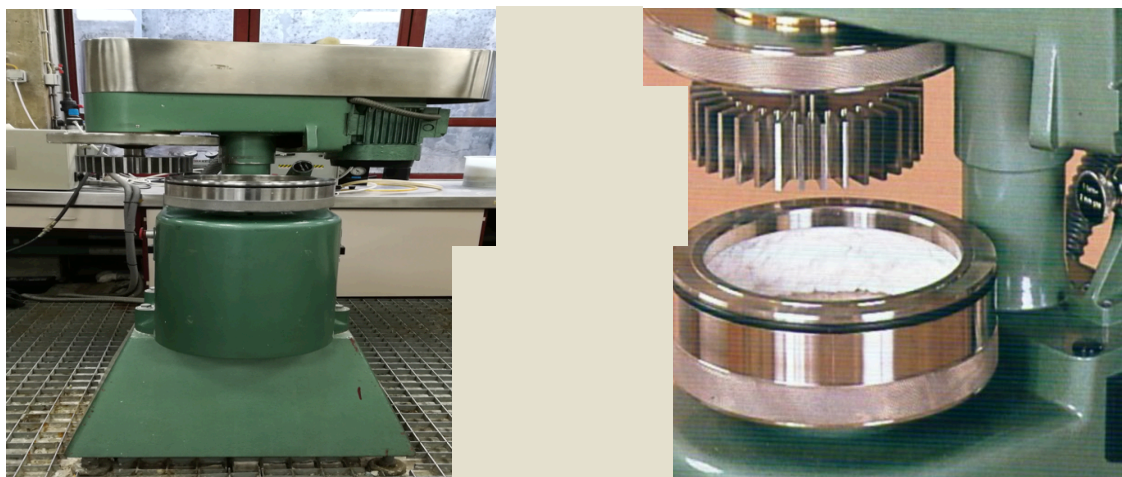


Figura 3.2. Imagem do equipamento PFI , mostrando o rotor e o interior do disco fixo.

### 3.3. Caracterização físicas das estruturas das suspensões fibrosas.

#### 3.3.1. Biometria das fibras de *Eucalyptus globulus*

As matérias primas selecionadas para este estudo foram fibras de celulose não refinadas e refinadas. Com esta seleção, pretendeu-se as medir dimensões de fibras com diferentes comprimentos e a massa linear das fibras, utilizando o analisador de fibras Morfi da Techpap versão 7.9.5. O sistema é composto por uma célula de medida, tanque de diluição, bomba, esgoto e cubo que estão ligados a um computador e a composição básica do equipamento pode ser visto na (figura 3.3). Procedeu-se 1º a colocação de 500 ml que corresponde a 0,2 g de fibras de celulose em suspensão não refinada no cubo e de seguida com o auxílio do computador faz-se o manuseamento e posteriormente observa-se no visor do computador a leitura automática das medições feitas pelo programa e 2º colocou-se 383 ml que corresponde a 0,2 g de fibras de celulose em suspensão refinadas no cubo seguindo os mesmos procedimentos para obtenção das dimensões das fibras em estudo.

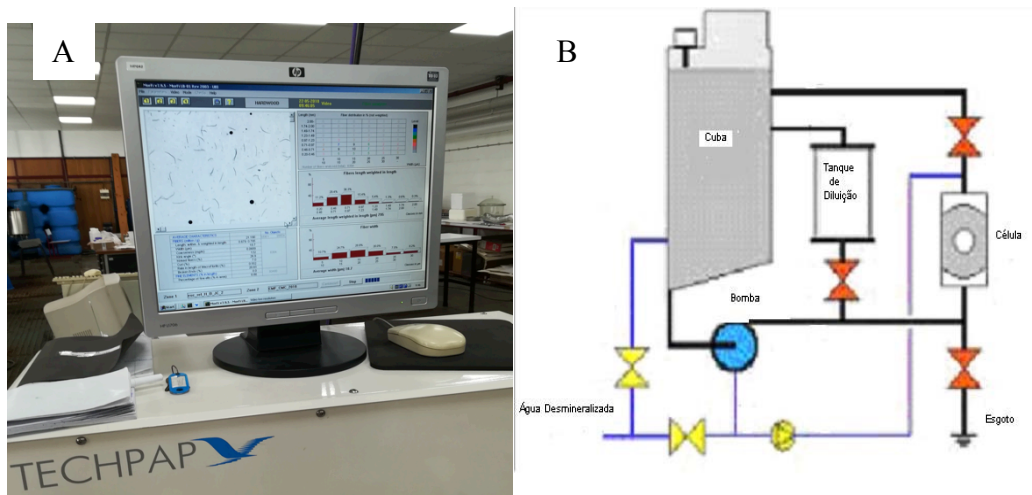


Figura 3.3. A) Imagem do computador e B) imagem dos componentes do Analisador Morfi (Fonte: TechPap).

#### 3.3.2. Drenabilidade

A caracterização das fibras envolve a medição da resistência à drenagem das fibras em suspensão. O procedimento foi feito de acordo a norma ISO 5267. Utilizando o equipamento de medição, grau Schopper-Riegler (°SR) figura 3.4 colocou-se na 1ª fase 1000 ml em suspensão de 2,0 g de fibras de celulose não refinada e na 2ª fase colocou-se em suspensão as

mesmas quantidades de fibras de celulose refinadas, onde foram filtrados através de uma tela do equipamento num recipiente padronizado à uma temperatura de 20°C supervisionado com um termómetro.

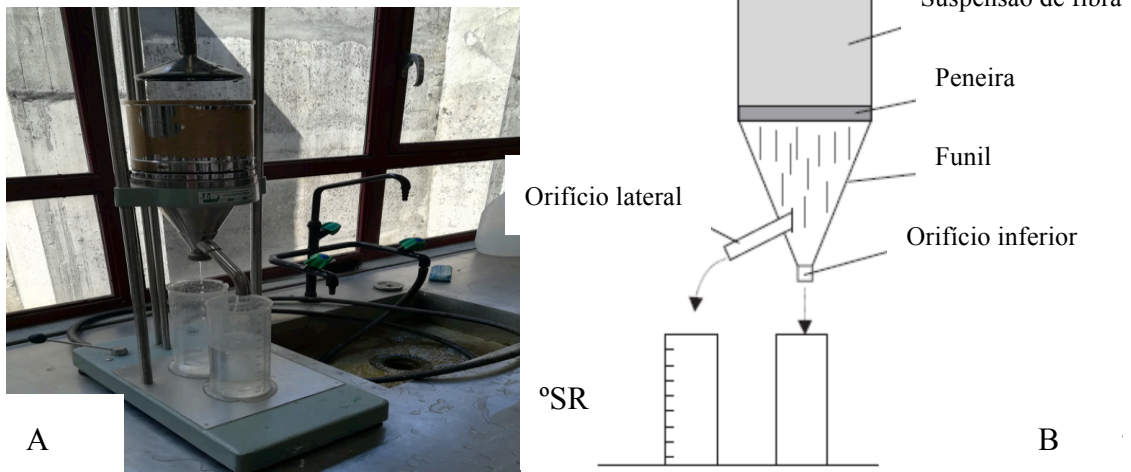


Figura 3.4. A) Equipamento de medição do grau Schopper - Riegler e B) componentes do medidor °SR

#### 3.3.4. Propriedades estruturais da folha

A gramagem pode ser descrita como a massa da folha por unidade de área e expressa-se em gramas por metro quadrado ( $\text{g}/\text{m}^2$ ). Determinou-se, segundo a norma ISO 536. Produziram-se estruturas em folha de  $60 \text{ g}/\text{m}^2$ . A medição foi feita através da pesagem das amostras em uma balança analítica, marca Mettler, modelo Toledo AG104. Para determinar a espessura utilizou-se um micrómetro de marca Adamel Lhomargy figura 3.5 que possui duas placas, sendo uma fixa e a outra móvel seguindo a norma ISO 534, realizou-se em 3 leituras em cada amostra, sendo o resultado em média expresso em  $\mu\text{m}$  de acordo a tabela 4.5



Figura 3.5. Equipamento de medição de espessura, Micrómetro

### 3.3.5. Porosidade

Um dos parâmetros mais importantes da estrutura macroscópica do meio poroso é a porosidade, geralmente definida como a razão entre o volume total de poros ou volume vazio e o volume aparente da amostra porosa (Dullien, 1992 citado por Sereno *et al*, 2007). Sua determinação requer o conhecimento do volume total ou aparente e do volume vazio incluído na matriz do material; sua diferença também é conhecida como o volume da folha, de acordo a equação seguinte:

$$\text{Porosidade} = \frac{\text{Volume total} - \text{volume do vazio}}{\text{volume total}} * 100$$

De salientar que o valor médio da porosidade global estão apresentados na tabela 4.5 e os cálculos encontram-se em apêndice: c.

### 3.3.6. Determinação superficial das estruturas em folha pelo ângulo de contato

As estruturas 3D de celulose + CMC e CMF + CMC obtidas, foram submetidas a ensaios físicos, para determinar o ângulo de contato, que é indicativo da hidrofobicidade e hidrofiliabilidade da superfície das estruturas 3D. Colocou-se uma gota de água desionizada sobre a superfície das estruturas 3D, previamente condicionado, com o auxílio de uma seringa acoplada ao sistema de medição do ângulo de contato. A formação da gota e o ângulo obtido na superfície das estruturas 3D é registado em imagem capturado por uma câmara e os cálculos são efetuados pelo programa Angle Calculator (American et Standard, 2003) marca contact Angle system OCA, a figura 3.6. Este processo é realizado à temperatura de 22°C e humidade controlada.

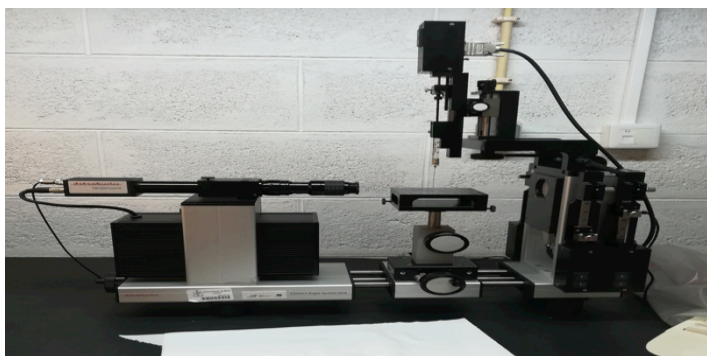


Figura 3.6. Imagem do equipamento de medição do ângulo de contato

### 3.3.7. Microscópio electrónico de varrimento (MEV)

Para analisar a morfologia das estruturas produzidas, recorreu-se ao microscópio electrónico de varrimento Hitachi S-3400 N, do Centro de ótica da Faculdade de Ciências de Saúde da Universidade da Beira Interior. A utilização desta técnica implica recorrer a um programa de análise de imagem, para visualizar e determinar o tamanho de partículas, poros e fibras, na escala nanométrica. Colocam-se as amostras na porta amostras e revestem-se com uma fina camada de um metal, o ouro para as tornar condutoras.

A figura 3.7 apresenta a preparação das amostras de fibras de celulose não refinada e de CMF refinada para o MEV.

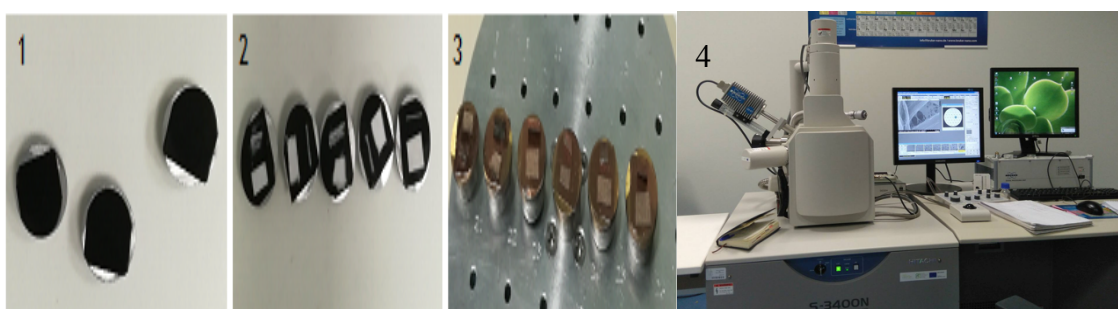


Figura 3.7. Imagens representativo da preparação das amostras para o MEV. 1) Porta amostra de alumínio com fita adesiva; 2) Amostras cortadas no porta amostra e 3) Porta amostras com respetivo revestimento de ouro para observação eficaz e 4) Imagem do MEV da Faculdade de Ciências da Saúde da UBI.

## 3.4. Modelação molecular dos monómeros de celulose dos polímeros envolvido, alginato, CMF, glicerol e a molécula terapêutica eucaliptol

Desenharam-se as estruturas químicas em 2D recorrendo a várias ferramentas que o programa o programa ChemSketch da ACD Labs, versão 11.02, disponibiliza. Otimizaram-se as ligações e distribuição espacial nas moléculas em 3D.

### **3.5. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à técnica de Reflexão Total Atenuada (FTIR - ATR)**

A espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) é um método que permite caracterizar e identificar os grupos funcionais e os principais constituintes de substâncias, sejam elas sólidas, líquidas ou gasosas.

A espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à técnica Reflexão total atenuada (FTIR-ATR) contribui para análises de amostras sólidas e líquidas. Essa técnica é usada para identificar grupos funcionais nas moléculas e mede as mudanças que ocorrem nos raios infravermelhos, devido à sua interação com a amostra.

Procedeu-se a esta análise química para verificar a presença e intensidade das bandas típicas das pastas celulósicas, pasta Kraft refinada celulose, glicerol, óleo essencial de eucalipto, óleo de pinho, alecrim, “tea tree”, grainha da uva e óleo de rosa mosqueta. As medições no infravermelho foram realizadas em um equipamento de Thermo Scientific, modelo Nicolet IS 10 e software OMNIC e a faixa de análise de 4000 à 600  $\text{cm}^{-1}$ , com 32 varrimentos e com uma resolução de 4,0  $\text{cm}^{-1}$ . As amostras de celulose e CMF foram aplicadas diretamente sobre o elemento de diamante, previamente limpo com isopropanol e posteriormente a amostra de glicerol, óleo essencial de eucalipto, óleo de pinho, alecrim, tea tree, grainha da uva e óleo de rosa mosqueta foram gotejadas na pasta kraft em estudo. Fez-se uma comparação com os espectros da biblioteca do FTIR com o objetivo de identificar os principais componentes químicos das amostras analisadas. Antes da obtenção dos espectros das amostras foi realizado um ensaio de branco.

### **3.6. Produção do sistema de transporte**

Os sistemas de transporte e libertação controlada produziram-se de acordo o procedimento adaptado de (Curto *et al*, 2016). Numa proporção de 2:1:2 colocou-se num gobelé de 150 ml, 40 ml da solução de alginato, 20 ml da solução de celulose microfibrilada contendo carboximetilcelulose, 35 ml da solução de glicerol e 5 ml de óleo essencial de eucalipto. De seguida colocou-se a solução em agitação constante, por 30 minutos com um agitador numa frequência de 1000 rpm. Noutro gobelé de 80 ml, adicionaram-se 40 ml da solução de  $\text{CaCl}_2$  e com o auxílio de uma pipeta de 10 ml, pipetaram-se 9 ml da mistura da solução anterior. Esta solução adicionou-se gota a gota para a solução de  $\text{CaCl}_2$  de 40 ml. Com 4,5 ml obtivemos cerca de 100 esferas que permaneceram na solução de 40 ml de  $\text{CaCl}_2$  durante 24 horas. Por

fim filtraram-se e lavaram-se as esferas com água destilada. De salientar que neste estudo foram produzidos também, sistemas de transporte em forma de esferas, seguindo os mesmos procedimentos com as mesmas proporções da molécula terapêutica o Óleo de pinho.

### 3.7. Simulação Computacional

A simulação computacional foi feita utilizando um programa desenvolvido e validado em MATLAB® versão 7.9. Este simulador permite criar e analisar matrizes de fibras de celulose, tendo sido adaptado para várias escalas, e validado para vários nanomateriais poliméricos porosos com estruturas em 3D (Curto *et al*, 2011).

O modelo que está na base do simulador consiste na deposição sucessivas de fibras de acordo a figura 3.6. As etapas podem ser resumidas da seguinte forma:

1. Definir o espaço usando uma rede 3D cartesiana uniforme de células utilizando o “voxel” como unidade estrutural;
2. Criar um ficheiro de entrada com os dados das fibras tais como o comprimento, largura e a espessura das fibras;
3. Depositar sucessivamente unidades estruturais na direção do plano a deposição das fibras ocorre com um único segmento de fibra ao mesmo tempo. Cada unidade elementar da fibra ocupa os espaços vazios na malha 3D;
4. Extração do plano da rede 3D onde se dá a deposição da fibra ocorre;
5. Colocação da fibra na estrutura, de acordo a sua flexibilidade, e com os espaços vazios ou ocupados que encontra;
6. Atualização da rede 3D guardando a estrutura com a nova fibra.
7. Repetir o processo até que as fibras formem uma matriz 3D

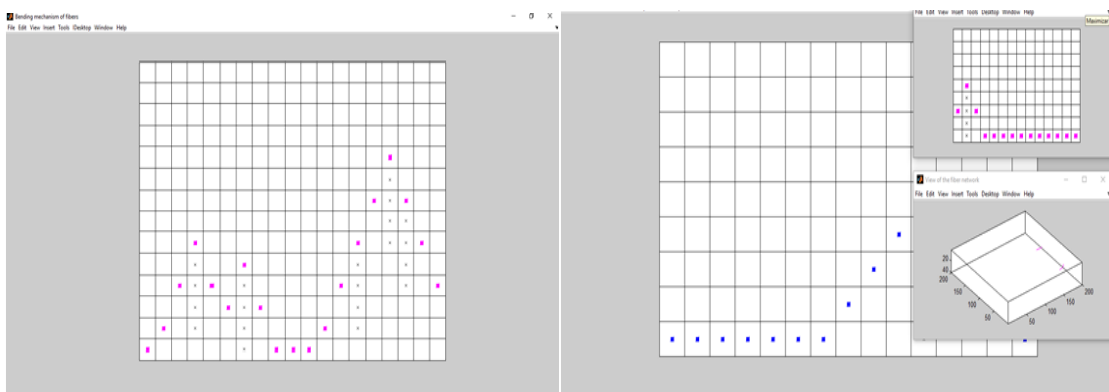


Figura 3.8. Imagens da deposição de uma fibra e localização espacial de várias fibras.

Na figura 3.8 pode-se observar uma fibra que se deposita sobre as outras fibras que já estavam a formar a matriz, respeitando os espaços já ocupados por outras fibras.

### **3.8. Estudos cinéticos de libertação do sistema de transporte produzido utilizando DSC**

A calorimetria diferencial de varrimento, mais conhecida pela sigla em inglês DSC (differential scanning calorimetry), é uma técnica de análise térmica que regista o fluxo de calor em função da temperatura e que permite realizar estudos cinéticos bem como a determinação de temperaturas características como a temperatura de fusão, cristalização, transição vítrea ou temperatura de Curie. Permite ainda determinar parâmetros como a taxa de cura ou o grau de cristalinidade de um polímero. Outras aplicações são por exemplos, a determinação de diagramas de equilíbrio, o calor de reação, o grau de pureza de um elemento, a quantificação de componentes, o estudo da estabilidade térmica ou de reações de oxidação-redução, etc.

As medidas de calorimetria diferencial de varrimento (DSC), foram realizadas num equipamento Netzsch, modelo DSC-204. Analisaram-se separadamente os sistemas de transporte produzidos contendo as moléculas a transportar, os óleos de eucalipto e de pinho, e a pasta Kraft refinada impregnada no óleo de eucalipto. Utilizaram-se cadinhos de alumínio, colocadas em atmosfera inerte de nitrogénio (N<sub>2</sub>), em uma gama de temperatura entre os 18 °C e os 150 °C e uma velocidade de 2 °C/min<sup>-1</sup>. As amostras foram pesadas e fechadas em cadinhos de alumínio sem abertura. A amostra e a referência são aquecidas simultaneamente e regista-se o diferencial de massa que ocorre entre ambas.

### **3.9. Formação de estruturas com a celulose nanofibrilada e microfibrilada.**

Visando desenvolver novos sistemas e estudar a possibilidade da utilização da CNF, ou a mistura de CNF e CMF, produziram-se estruturas em dupla camada contendo CNF e CMF. Note-se que a celulose microfibrilada foi produzida no decorrer deste trabalho enquanto que a celulose nanofibrilada foi cedida pelo grupo de investigação, uma vez que já tinha sido produzida e utilizada em estudos anteriores (Curto *at al*, 2016; Flávia, 2017, Ferreira, 2016).

# CAPÍTULO IV. APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 4.1. Análise biométricas das fibras

Na tabela 4.1, encontram-se os valores médios para comprimento das fibras, largura e massa linear das fibras utilizadas neste estudo.


Tabela 4.1. Principais resultados obtidos no Morfi relativamente á morfologia das fibras.

Medidas \ Materiais	Estrutura não refinada	Estrutura refinada
Comprimento da fibra ponderado em comprimento (mm)	0,8	0,8
Largura ( $\mu\text{m}$ )	19,3	18,6
Massa linear (mg/m)	0,07	0,07

Alguns pontos interessantes podem ser observados, quando se comparam as diferentes propriedades morfológicas das fibras. As fibras refinadas e não refinadas apresentam o mesmo valor de comprimento médio. A largura média da fibra da estrutura não refinada é superior á da estrutura refinada que é 18,6 $\mu\text{m}$ . O valor para massa linear é de 0,07 mg/m. Os dados morfológicos obtidos neste estudo estão em concordância com os estudos efetuado no grupo (Martins *et al*, 2016; Curto *et al*, 2012).

A Tabela 4.2 apresenta a distribuição do comprimento das fibras para cada classe da largura de fibras, obtida no Morfi, para a pasta refinada. Esta tabela fornece informação mais detalhada sobre a população das fibras, pois estas têm dimensões de comprimento e largura que variam e podem ser analisadas por classes, como está feito nesta tabela.

Tabela 4.2 Tabela da distribuição do comprimento da fibra para cada classe de largura

Length (mm)	Fiber distribution in % (not weighted)						Level
	5	10	15	20	25	30	
2.00-	0	0	0	0	0	0	
1.74-2.00	0	0	0	0	0	0	
1.49-1.74	0	0	0	0	0	0	
1.23-1.49	0	0	1	1	1	1	
0.97-1.23	0	1	2	2	1	2	
0.71-0.97	1	4	5	5	3	3	
0.46-0.71	3	6	8	8	4	4	
0.20-0.46	3	6	7	7	4	5	
	5	10	15	20	25	30	Width (μm)
	10	15	20	25	30	-	

Number of fibers analysed (total): 10636

A figura 4.1 apresenta o gráfico do comprimento de fibra ponderado em comprimento das fibras refinadas, em percentagem. Pode verificar-se a distribuição do comprimento das fibras por classes de comprimento.

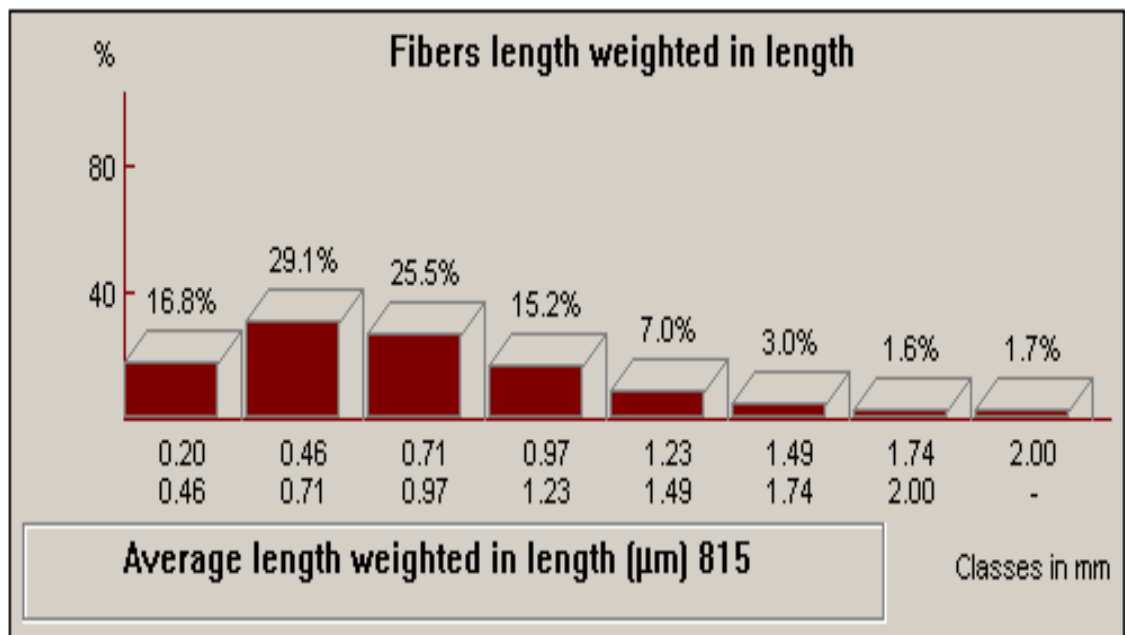


Figura 4.1 Gráfico de distribuição do comprimento da fibras por classes de tamanho.

A figura 4.2 ilustra o gráfico da largura de fibras refinadas distribuídos em percentagem

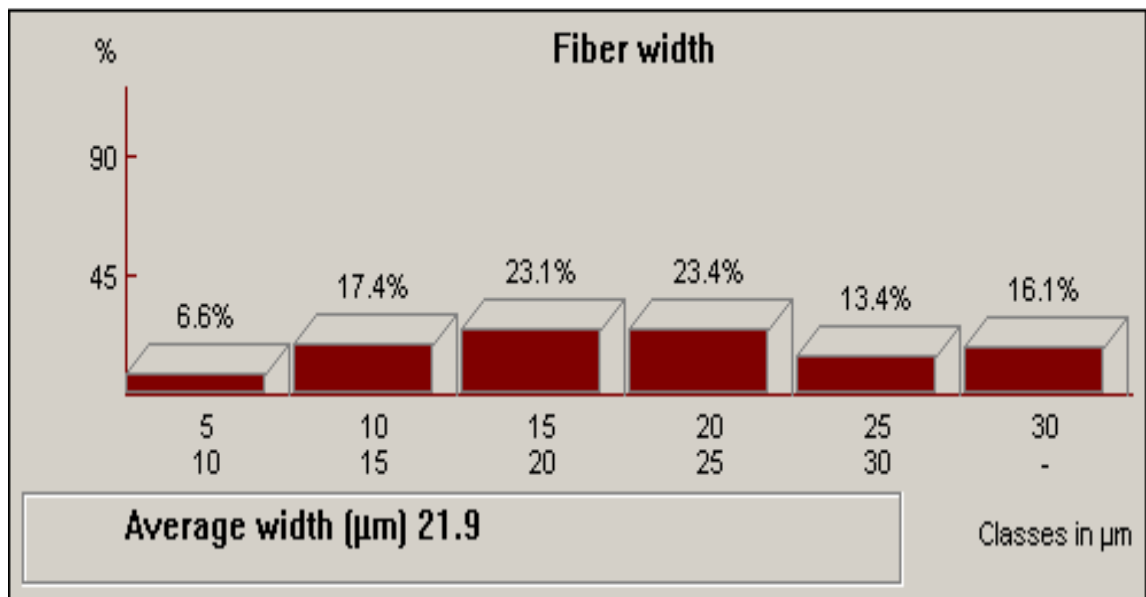


Figura 4.2 Gráfico de distribuição da largura de fibras

## 4.2. Caracterização da drenagem pelo grau Schopper-Riegler (°SR)

Na tabela 4.3 apresentam-se os resultados do grau Schopper-Riegler (°SR) de uma suspensão de fibras da pasta refinada e não refinada, tendo os ensaios sido realizados de acordo a norma ISO 5267.

Tabela 4.3. Grau Schopper-Riegler (°SR)

Estruturas	°SR
Pasta refinada	38
Pasta não refinada	20

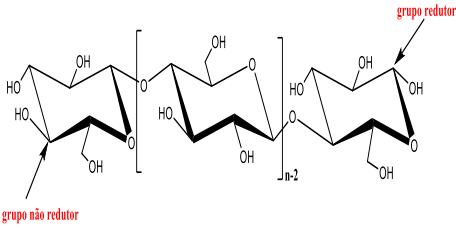
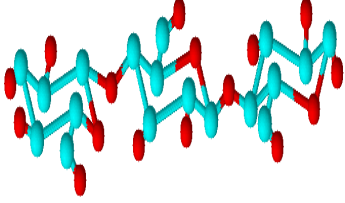
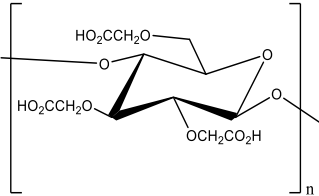
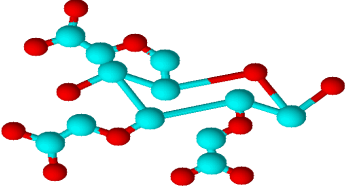
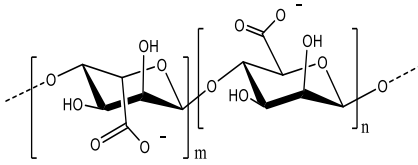
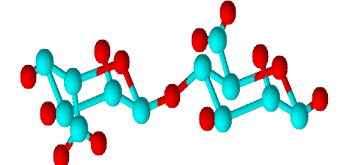
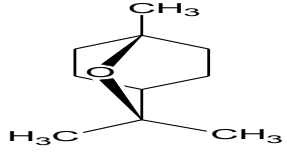
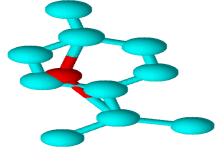
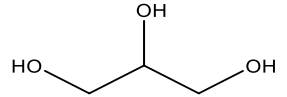

Pode concluir-se da tabela 4.3 que o processo de refinação aumenta o grau Schopper-Riegler (°SR) da pasta celulósica. Isto pode ser explicado devido ao tratamento mecânico a que a pasta foi sujeita. Pois quando uma fibra é refinada torna-se mais flexível a parede externa desenvolve fibrilação, ocorre produção de finos, e todos estes fatores aumenta o tempo de drenagem e a dificuldade de drenagem. Forma-se uma estrutura mais compacta e com mais

fibrilas, logo mais área superficial, resultando numa estrutura em que é mais difícil remover a água, portanto com menor drenabilidade, e maior °SR.

### 4.3. Estrutura molecular 3D das principais moléculas

Efetuiu-se a modelação molecular das moléculas principais e os resultados apresentam-se na tabela 4.4.

Tabela 4.4. Estruturas em 2D e 3D das principais moléculas em uso neste estudo.

Materiais	Estrutura em 2D	Estrutura em 3D
CMF		
CMC		
Alginato		
Eucaliptol (1,8-cineol)		
Glicerol		

#### 4.4. Caraterização das folhas de pasta refinada e não refinada

A figura 4.3. Apresenta imagens das folhas produzidas com as pastas celulósicas obtidas, a pasta Kraft não refinada e a pasta refinada, ambas com a adição de diferentes concentrações de carboximetilcelulose 0,1; 0,01 e 0,001 % m/v respectivamente.

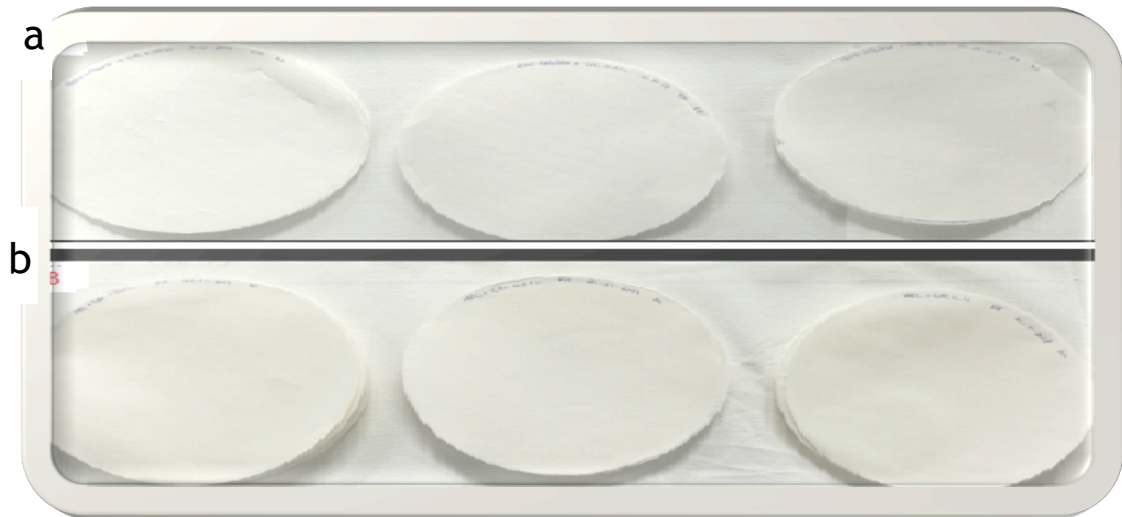


Figura 4.3. Imagens das estruturas de: a) Pasta Kraft não refinada e b) Pasta Kraft refinada.

Verifica-se que, para as pastas celulósicas obtidas, a pasta Kraft não refinada apresentam estruturas mais irregulares, rugosas enquanto que a pasta kraft refinada apresentam estruturas mais compactas e uniformes. Isto pode ser explicado devido o processo de refinação que a pasta sofreu. De salientar que os resultados obtidos com a refinação da pasta Kraft estão de acordo com os resultados de outros estudos em que se obteve CMF (Yano e Nakagaito, 2004; Siró e Plackett, 2010).

#### 4.5. Caraterização das estruturas em folha

Na tabela 4.5 apresentam-se os resultados obtidos para os ensaios físicos de caracterização das folhas de pastas Kraft não refinadas e refinadas, tendo como aditivo a CMC. De ressaltar que a densidade da celulose é de  $1,5 \text{ g/cm}^3$ .

Tabela 4.5. Massa, espessura e porosidade e ângulo de contato.

Material	CMC (m/v)	Espessura (mm)	Massa (g)	Porosidade (%)	Ângulo de contato (°)
Pasta Kraft não refinada	0,1	0,194	1,3622	77	30-36
Pasta Kraft não refinada	0,01	0,203	1,4053	77	30-36
Pasta Kraft não refinada	0,001	0,205	1,417	78	(Sem significado)
Pasta refinada	—	0,111	1,414	58	45
Pasta Kraft refinada	0,1	0,146	1,391	69	41
Pasta Kraft refinada	0,01	0,144	1,43	67	45
Pasta kraft refinada	0,001	0,146	1,397	68	45

De uma forma geral, na tabela 4.5 pode-se perceber que a porosidade global da pasta Kraft não refinada é superior à porosidade global da pasta Kraft refinada obtida. Pode verificar-se que na pasta Kraft refinada a adição de CMC origina estruturas mais hidrofílicas, com valores de ângulo de contato inferiores. Os valores do ângulo de contato da pasta Kraft não refinada oscilam pois por serem estruturas muito porosas a penetração é muito rápida e dá origem a valores irregulares na medição.

Caraterizaram-se as folhas de papel de pasta refinada e não refinada através de imagens obtidas por MEV. Na figura 4.4 apresenta-se uma imagem da pasta refinada em que é visível a fibrilação, podendo concluir-se que as fibrilas têm dimensões micro e se pode designar esta pasta por pasta de celulose microfibrilada (CMF). Nas folhas obtidas com a celulose depois da refinação podem visualizar-se várias fibrilas com dimensões micro, nesta imagem está selecionada uma fibra com a dimensão de 5,57µm, encontram-se nesta folha várias fibrilas de dimensões inferiores.



Figura 4.4 Imagem do MEV da folha de pasta Kraft refinada com medição da largura das fibras em que se pode visualizar a fibrilação da pasta (ampliação de 500x).

As figuras 4.5 e 4.6 são imagens obtidas por microscopia electrónica de varrimento da pasta Kraft refinada e da pasta Kraft não refinada para as concentrações de CMC de 0,01% m/v.



Figura 4.5.a) Imagem do MEV da folha de pasta Kraft refinada com medição da largura (ampliação de 500x);

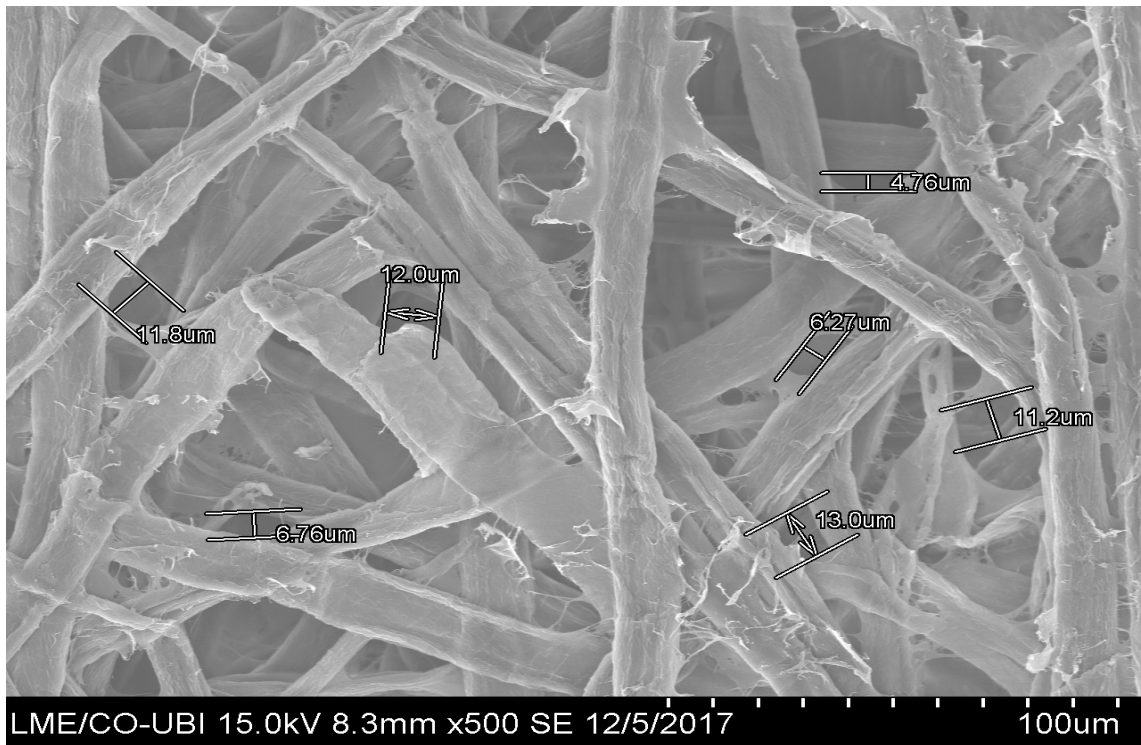


Figura 4.5.b) Imagem do MEV da folha de pasta Kraft refinada com medição dos poros (ampliação de 500x).

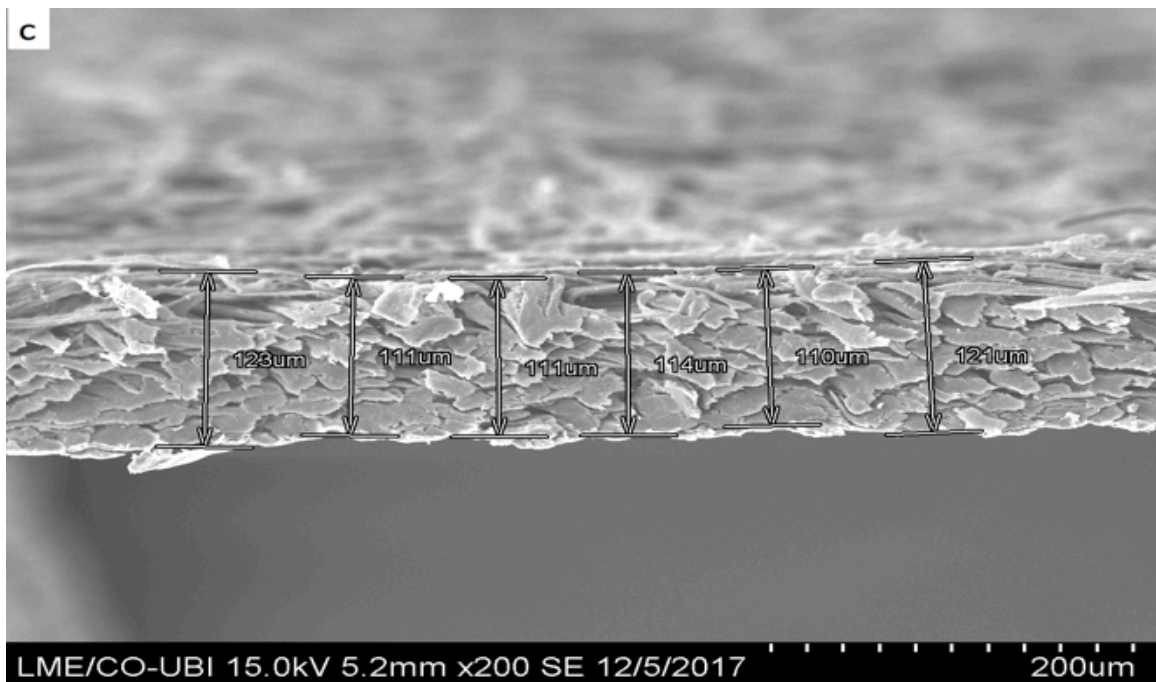


Figura 4.5.c) Imagem de MEV da espessura da folha de pasta Kraft refinada com medição dos valores da espessura da folha (ampliação 200x).



Figura 4.6.a) Imagem do MEV da folha de pasta Kraft não refinada com medição das dimensões das larguras de fibras (ampliação de 500X).

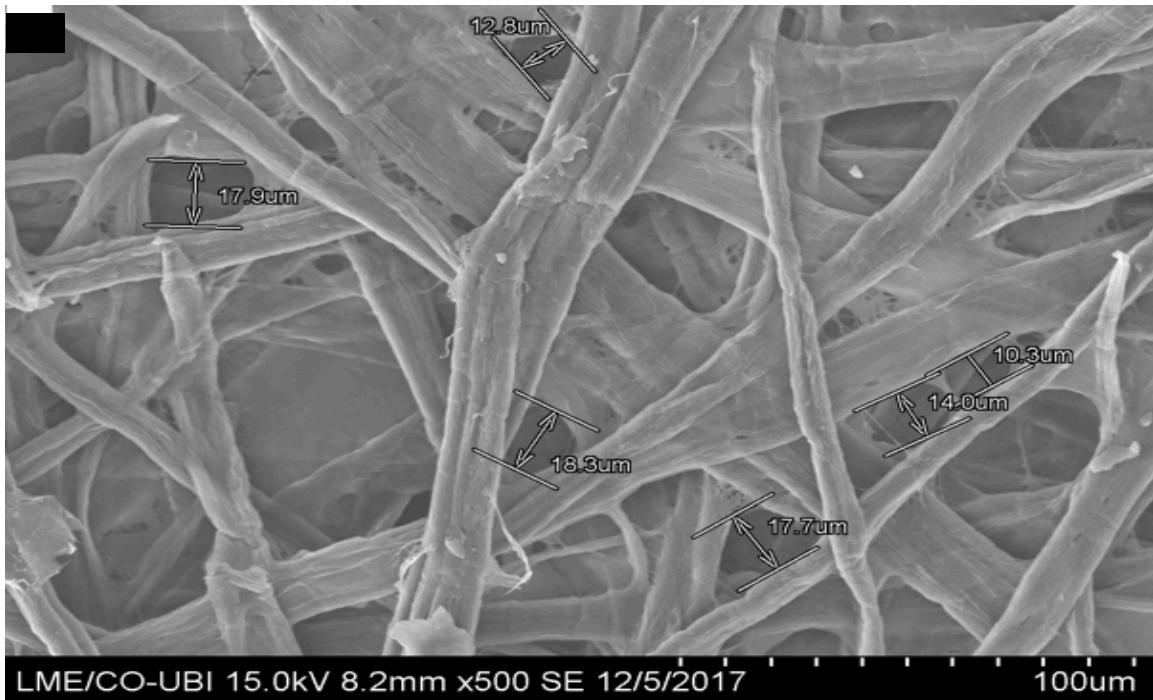


Figura 4.6.b) Imagem do MEV da folha de pasta Kraft não refinada com medição das dimensões dos poros (ampliação de 500X).

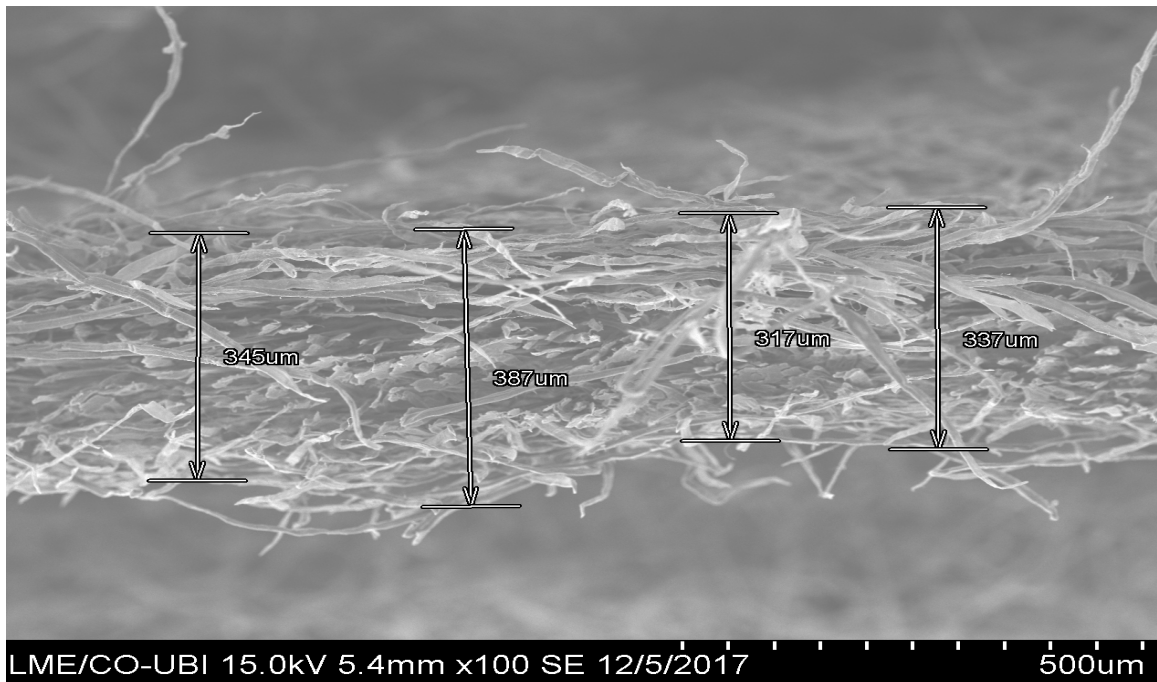


Figura 4.6.c) Imagem do MEV da espessura folha de pasta Kraft não refinada com medição da espessura da folha (ampliação de 100 X).

A partir das imagens obtidas por MEV da pasta Kraft refinada, figura 4.5.a) podem retirar-se dimensões representativas de algumas fibras no plano xy. Verifica-se que o maior valor da fibra medida foi de 8,52µm e o menor foi de 4,44µm. A figura 4.5.b) apresenta também no plano xy e tem valores das dimensões dos poros, sendo o maior valor medido de 13,0µm e o menor de 4,76µm. Na figura 4.5.c) encontra-se o plano z, ou transversal, da espessura da folha sendo o maior valor da espessura da folha medido de 123µm e o menor valor foi de 110µm.

As imagens 4.6 são de pasta Kraft não refinada, comparando estas imagens com as da pasta refinada pode verificar-se as diferenças entre as duas pastas e o efeito da refinação sendo evidentes as modificações na porosidade da estrutura. A pasta não refinada apresenta uma estrutura mais aberta, mais porosa e com uma grande diferença nos valores da espessura (345µm para a pasta não refinada e 110 µm para a pasta refinada). Verifica-se que as fibras das pastas refinadas se encontram fibriladas, são mais flexíveis e dão origem a folhas com menor espessura e porosidade. A figura 4.6.a) apresenta a dimensão das fibras no plano xy para a pasta não refinada, onde o maior valor da fibra medida foi de 16,6µm e o menor foi de 5,95µm. A figura 4.6.b) apresenta a dimensão dos poros no plano xy com o valor maior de 18,3µm e o menor foi de 10,3µm. A figura 4.6.c) tem as dimensões das espessuras no plano z, sendo o maior valor da espessura medido foi de 387µm e o menor valor foi de 317µm.

Os resultados indicam que as folhas de pasta Kraft refinadas apresentam porosidade e espessura da folha inferiores às folhas de pasta de fibras de celulose não refinadas.

## 4.6. Estudo da composição Química dos óleos essenciais

Utilizou-se a técnica de Infravermelho (IV) para analisar diretamente a superfície dos materiais celulósicos e composição química de alguns óleos conhecidos pelas suas propriedades medicinais. Numa primeira fase escolheram-se o óleo essencial de eucalipto, óleo de pinho, alecrim, “tea tree”, grainha da uva e óleo de rosa mosqueta. Com a análise por FTIR-ATR obtiveram-se os espectros e a identificação dos componentes recorrendo à base de dados figura 4.8. Selecionaram-se dois óleos para a incorporação nos sistemas de entrega, o óleo de eucalipto e o de pinho, pela sua importância medicinal e por se tratar de óleos provenientes da extração a partir das folhas de duas espécies de árvores abundantes. Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos de baixo peso molecular, extraídos por destilação a vapor, hidrodestilação ou extração de solvente (Nakatsu *et al*, 2000). No caso do óleo de eucalipto, entre os vários componentes químicos ativos ou voláteis destacam-se: o eucaliptol ou 1,8-cineol, 2-pineno, 3-sinemo, 2-terpinol e borneol, que são frequentemente usados em preparações farmacêuticas (Husain, *et al*, 2013; Carsen *et al*, 2006).

Na figura 4.7 apresentam-se os espectros obtidos no infravermelho do óleo de eucalipto, podendo identificar-se a presença do eucaliptol. Esta é uma das moléculas com propriedades medicinais que será incorporada no sistema de transporte de moléculas.

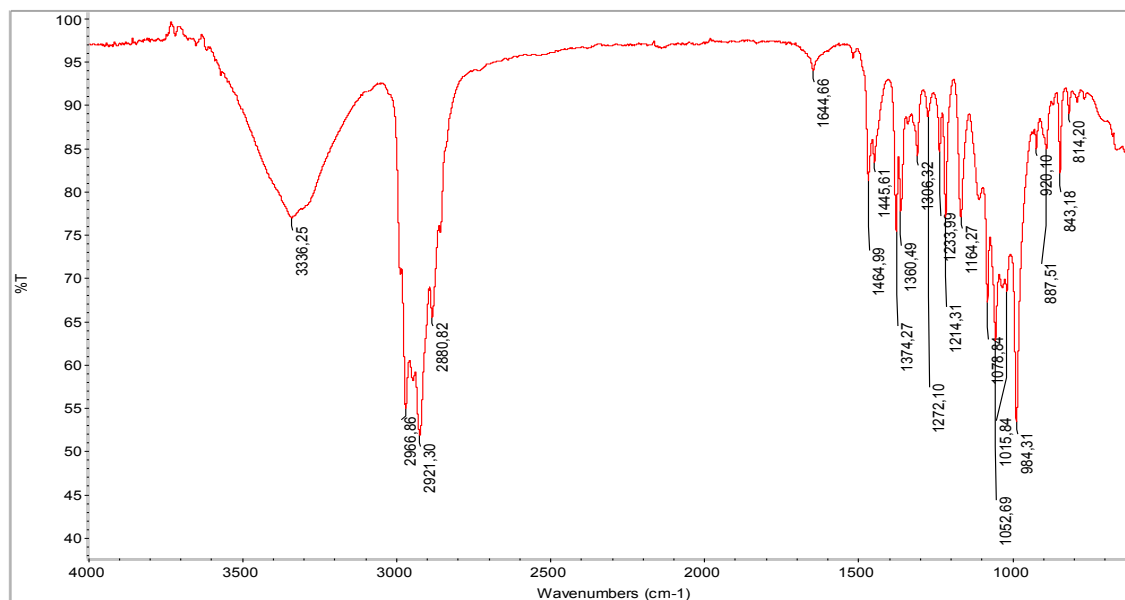


Figura 4.7 Espectro de absorção na região do IV para amostra de pasta Kraft refinada + óleo de eucalipto.

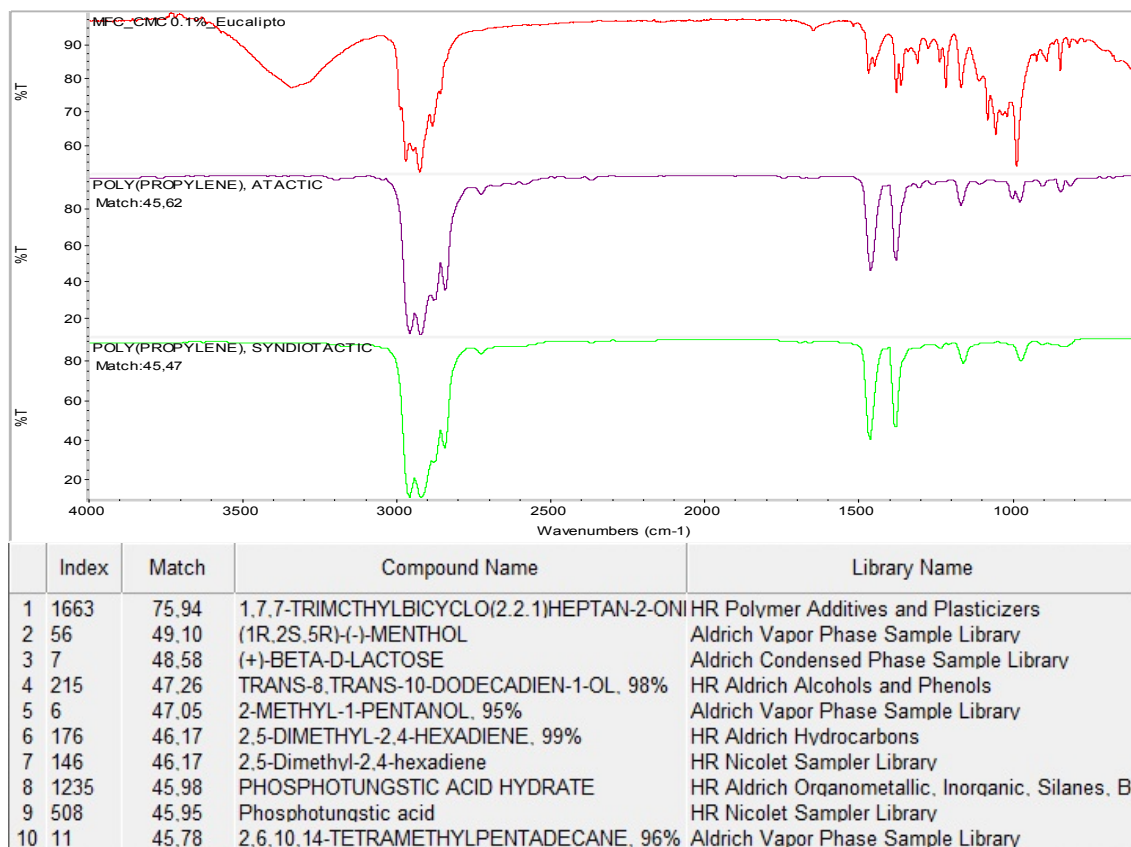


Figura 4.8 Espectro comparativo de absorção na região do IV da pasta Kraft refinada + óleo de eucalpto com os espectros dos compostos encontrados na biblioteca do FTIR.

Na figura 4.8 encontram-se os resultados da pesquisa na base de dados. Ao comparar o espectro da CMF+ óleo de eucalpto com o da biblioteca, pode se verificar que algumas bandas são similares às do espectro de absorção na região do IV dos compostos encontrados na biblioteca e o espectro do óleo de eucalpto.

Apesar do óleo de eucalpto ser uma mistura de vários compostos complexos, são sugeridas as seguintes atribuições vibracionais para as bandas principais de acordo com figura 4.7 do espectro de absorção na região do IV para amostra de CMF + óleo de eucalpto. Entre 814,20 e 1644,66  $\text{cm}^{-1}$ , são evidenciadas diversas bandas de deformação angular de C-C e C-H alifáticos.

Ainda pelo método de FTIR-ATR, foi possível analisar diretamente a superfície da pasta Kraft refinada utilizado neste estudo, cujo o espectro de infravermelho (IV) está apresentado na figura 4.9.

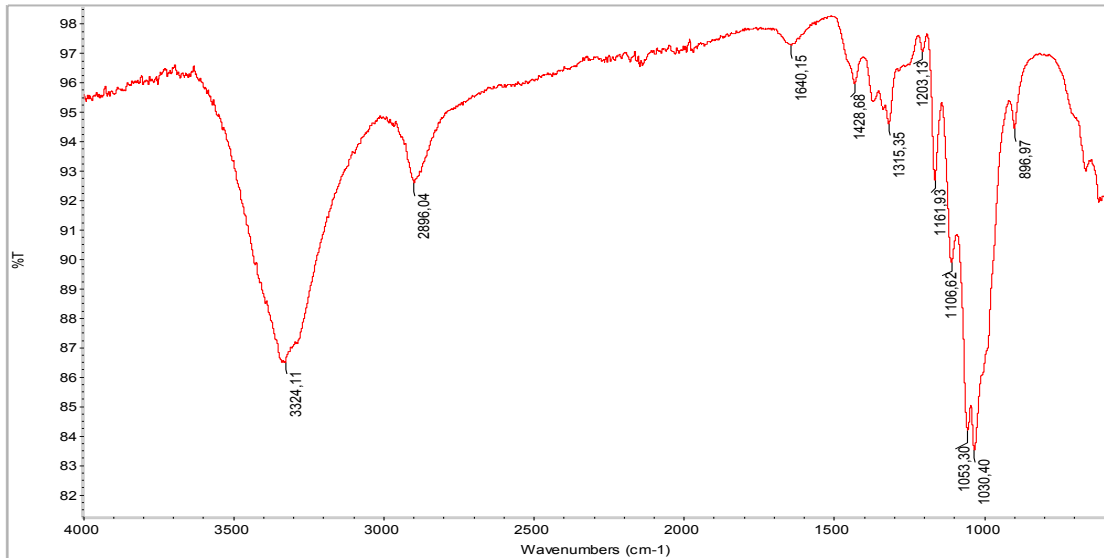


Figura 4.9 Espectro de absorção FTIR\_ATR para pasta Kraft refinada

Através da análise do espectro IV da pasta kraft refinada, como se pode observar na figura 4.9 o espectro da pasta Kraft refinada, apresenta a banda de  $3324,11\text{ cm}^{-1}$  na região do infravermelho corresponde ao grupo (-OH), em  $2896,04\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao grupo C-H e entre  $1161,93 - 1106,62\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao grupo ou ligações C-O-C bandas características da celulose e em  $1053,30 - 1030,40\text{ cm}^{-1}$  é referente a ligações - glicosídicas entre unidades de glicose.

#### 4.7. Obtenção e caracterização do sistema de transporte

O sistema de transporte foi obtido de acordo o procedimento adaptado de (Curto *et al*, 2016), descrito no ponto 3.6 do capítulo III da parte experimental e que se apresenta no esquema da figura 4.10.

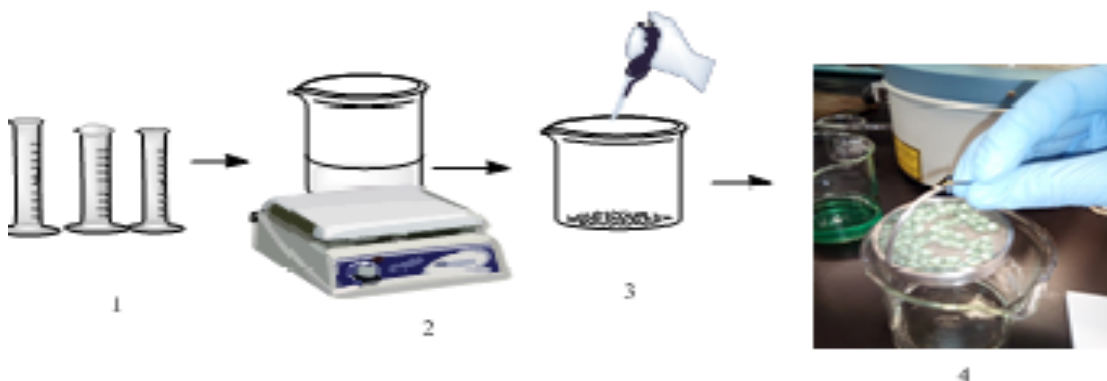


Figura 4.10. Esquema representativo do processo de obtenção dos sistemas de transporte de moléculas.

Uma vez que o óleo de eucalipto pode ser nocivo se estiver em concentrações elevadas, escolheu-se o glicerol para proceder à sua diluição. De realçar que antes da obtenção do sistema de transporte, obtiveram-se estruturas na forma esférica com glicerol, óleo de pinho seguindo os mesmos procedimento descrito no ponto 3.6 do Capítulo III da parte experimental e verificou-se que eram estáveis. Tal como exposto, de seguida produziram-se os sistemas de transporte de moléculas para as moléculas terapêuticas óleo essencial de eucalipto e óleo de essencial de pinho.

#### 4.8. Simulação Computacional

Os resultados obtidos na produção das estruturas 3D por simulação utilizando simulador de materiais desenvolvido MATLAB® da pasta Kraft não refinada e pasta Kraft refinada, são apresentados na figura 4.11 a) e figura 4.11 b).

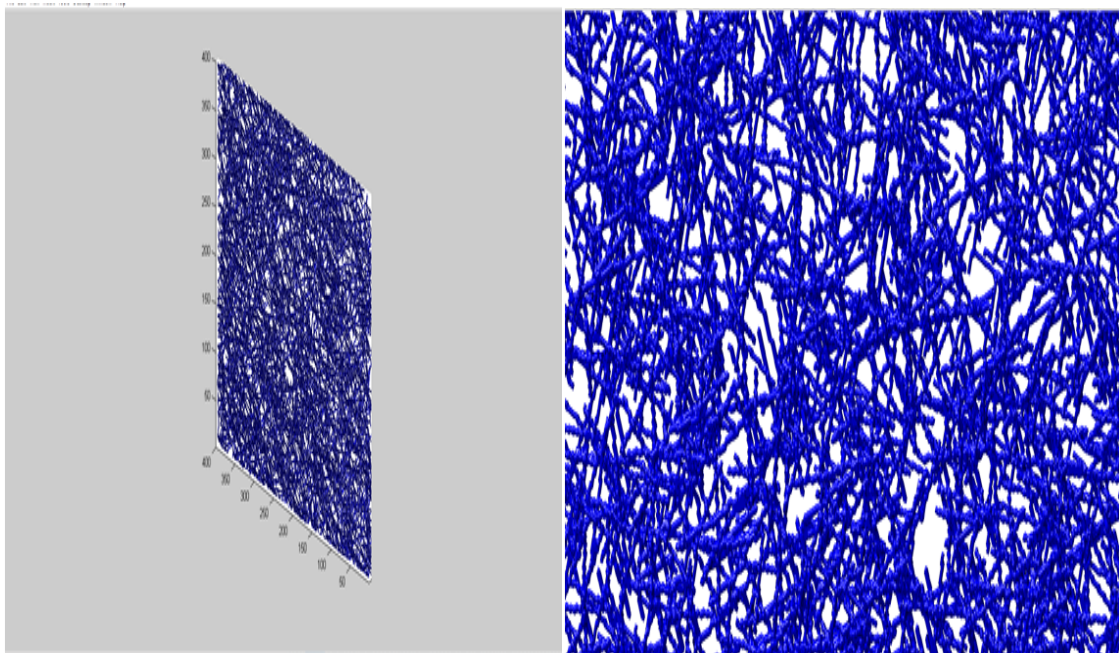


Figura 4.11 a). Imagens 3D da rede criada em computador da Pasta Kraft não refinada

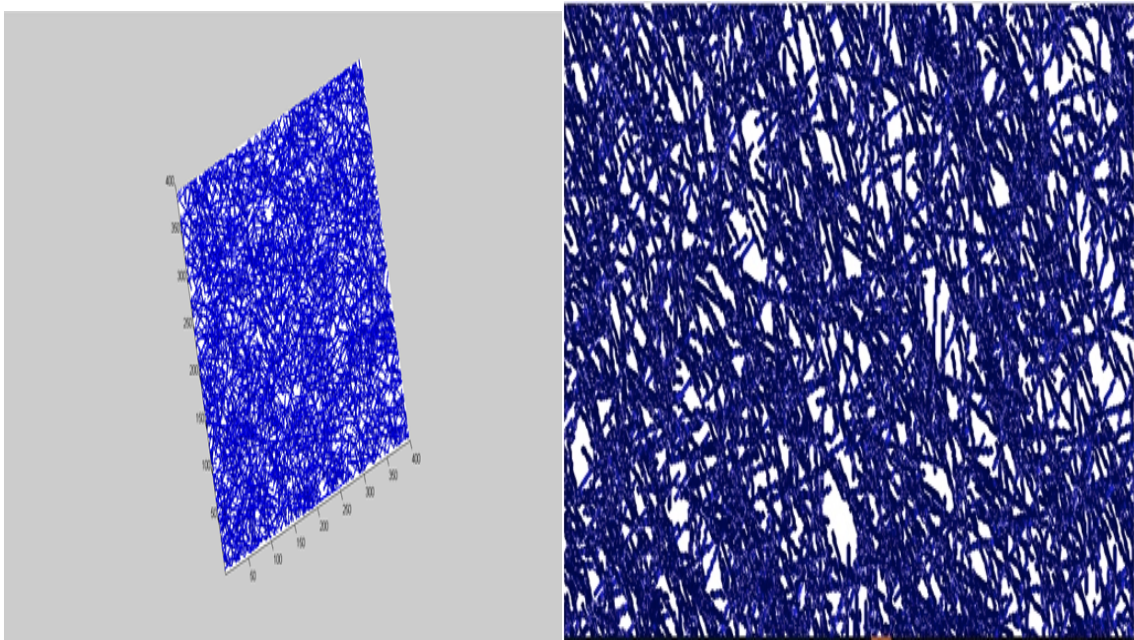


Figura 4.11 b). Imagens 3D da rede criada em computador da pasta Kraft refinada

Este modelo computacional, após a validação, tem várias vantagens, uma vez que os dados computacionais são similares aos dados experimentais, comparando a análise da rede 3D polimérico formado através do simulador e às obtidas no MEV, figura 4.4., pode constatar-se que são similares. Uma das mais valias da obtenção de estruturas simuladas em 3D é a possibilidade de obter a porosidade global (Martins *et al*, 2016; Curto *et al*, 2011).

#### 4.9. Análise dos estudos cinéticos no DSC

Na figura 4.12. apresentam-se as curvas do resultado obtidos no DSC para o óleo de eucalipto (EO\_1), do sistema de transporte constituído pela folha impregnada com o óleo de eucalipto (STF\_EO\_1) e o sistema de transporte de molécula (STM\_1) desenvolvido neste trabalho.

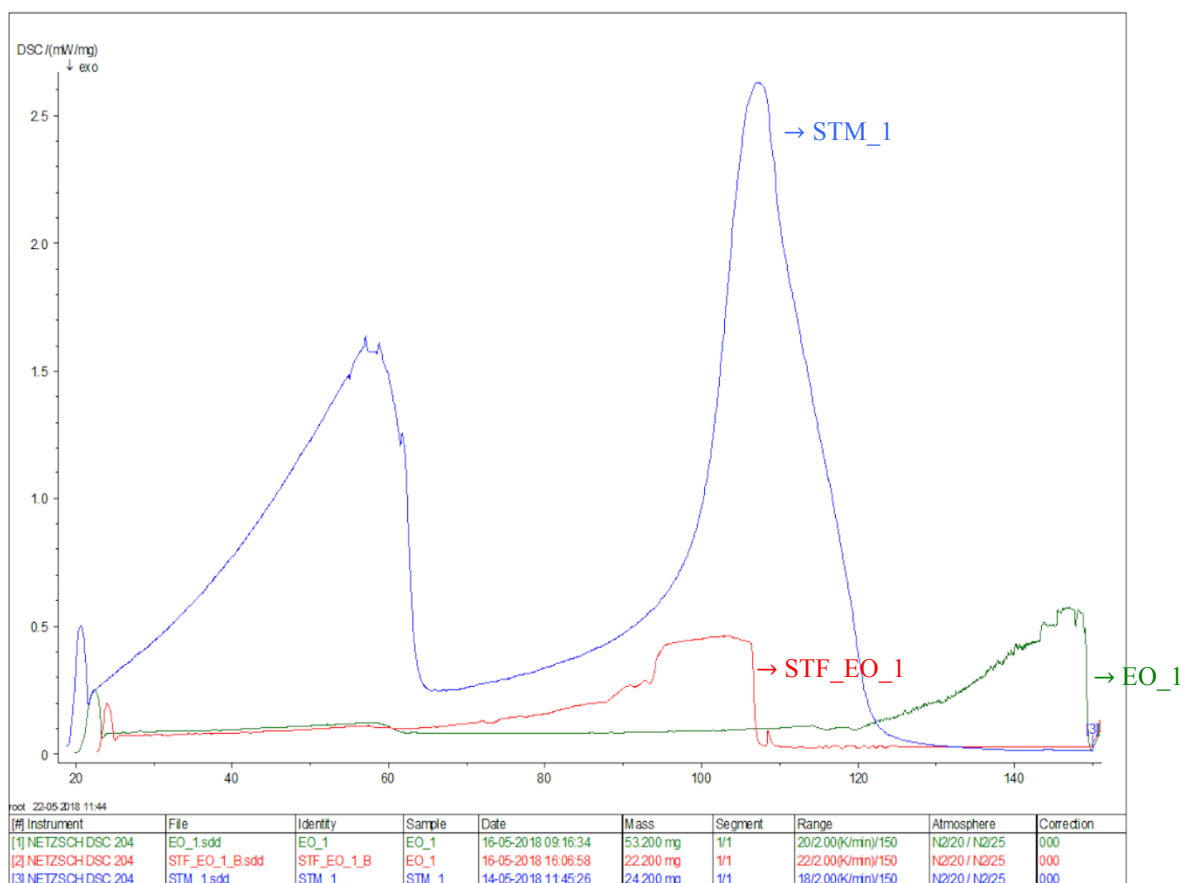


Figura 4.12. Gráfico comparativo obtido por DSC do sistema de transporte das moléculas terapêuticas do óleo de eucalipto desenvolvido neste estudo (STM\_1), do óleo de eucalipto (EO\_1) e do sistema de transporte constituído por uma estrutura em folha impregnada com óleo de eucalipto (STF\_EO\_1).

De acordo a análise do termograma pode verificar-se que o sistema de transporte de molécula terapêutica (STM\_1) desenvolvido tem a capacidade de reter e libertar de forma controlada o óleo de eucalipto. O óleo de eucalipto tem constituintes muito voláteis e que são libertados imediatamente quando não se encontram retidos no sistema de transporte e entrega controlada como se verifica no perfil do óleo (EO\_1), onde se pode observar um perfil de libertação controlada mais rápida. Quando se utiliza uma folha de CMF impregnada com óleo de eucalipto (STF\_EO\_1) observa-se que a capacidade de retenção é pouca, quando comparado com o sistema de transporte desenvolvido. Pode concluir-se que o sistema de transporte de moléculas consegue reter e libertar controladamente as moléculas do óleo de eucalipto. De ressaltar que o sistema de transporte de molécula, contendo o óleo de pinho no DSC não se verificou a leitura, por esse fato não aparece o perfil de libertação nem os dados relacionado com esse sistema de transporte no termograma.

Tabela 4.6. Temperatura das mudanças de fase obtidas por DSC

Amostras	1ª faixa de temperatura (°C)	2ª faixa de temperatura (°C)
STM_1	20 - 60	70 - 120
STF_EO_1	-----	70 - 109
EO_1	-----	120 - 150

O sistema de transporte de molécula terapêutica (STM\_1) revelou ser um sistema polimérico estável e com uma liberação mais lenta e controlada, pois as moléculas terapêuticas contidas no óleo de eucalipto estão aprisionadas, o que é uma vantagem no caso de moléculas voláteis. Esse sistema de transporte de molécula terapêutica (STM\_1), ver tabela 4.6, exibe duas etapas de liberação controlada, a primeira liberação ocorre a partir dos 20°C, portanto a temperatura relativamente baixa, o que constitui uma vantagem nas terapias respiratórias.

# CAPÍTULO V. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

A execução deste trabalho permitiu alcançar com sucesso os objetivos principais de desenvolver sistemas de transporte poliméricos porosos 3D a partir de celulose nano e microfibrilada de *Eucalyptus globulus* para transporte e libertação do óleo de eucalipto, para aplicações medicinais.

Obtiveram-se e caracterizaram-se pastas Kraft não refinadas e refinadas a partir da pasta Kraft de *Eucalyptus globulus*, podendo concluir-se que as pastas Kraft refinadas se encontravam microfibriladas. Utilizou-se a CMC como aditivo e os resultados do ângulo de contato indicam que a carboximetilcelulose aumenta a hidrofiliabilidade das pastas. A caracterização estrutural das folhas comprova que a porosidade global da pasta Kraft não refinada é superior à porosidade global da pasta Kraft refinada.

Utilizando o FTIR-ATR pode-se verificar por análise dos espectros, a presença dos grupos funcionais, a composição do óleo de eucalipto e a presença de eucaliptol, bem como a presença dos grupos (OH) típicos da celulose.

Pode-se comprovar pela análise por DSC, que o sistema de transporte de moléculas, constituído por alginato, celulose microfibrilada, glicerol e óleo de eucalipto produzido em forma de esfera, mostrou ter a capacidade de retenção e libertação controlada das moléculas terapêuticas. Pode concluir-se que este pode ser utilizado em terapias respiratória permitindo a libertação controlada e melhorando consideravelmente a sua estabilidade, pois por ter constituintes relativamente voláteis, estes acabam por se evaporar muito rapidamente quando não se utiliza um sistema de transporte de moléculas. Em trabalhos futuros seria interessante continuar os estudos e combinar na mesma estrutura CNF e CMF para a obtenção de sistemas de transporte de moléculas terapêuticas. A otimização da porosidade das estruturas e estudos *in vitro* e *in vivo* irão complementar os estudos realizados neste trabalho.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

Alemdar, A., Sain, M. (2008). Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues-Wheat straw and soy hulls. *J.Biortech.* vol 99, pp 1664-1671.

Almeida, I. F., Pereira, T., Silva, N. H. C. S., Gomes, F. P., Silvestre, A. J. D.; Freire, C. S. R.; Sousa Lobo, J. M.; Costa, P. C. (2014). Bacterial cellulose membranes as drug delivery Systems: An in vivo Skin compatibility Study. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* vol, 86, pp. 332-336

Astray, G., Mejuto, J. C., Morales, J., Rial-Otero, R., Simal Gándara, J. (2010). Factors controlling flavors binding constants to cyclodextrins and their application in foods, *Food Res. Int.* 43, pp. 1212-1218.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - a review, *Food Chem. Toxicol.* vol, 46, pp. 446 - 475.

Bandoni, A. L., Czepack, M. P. (2008) Os recursos vegetais aromáticos no Brasil. Vitória: Edufes, pp. 624.

Brett, C.T. (2000) Cellulose microfibrils in plants biosynthesis, deposition, and integration into the cell wall. *Intl Rev Cytol.* vol, 199, pp. 161-199.

Burt S. (2004). Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Food - A Review, *Int. J. Food Microbiol.* vol, 94, pp. 223 - 253.

Cherian, B. M., Leão, A. L., Souza, S. F., Costa, L. M. M., Olyveir, A. G. M., Kottaisamy, M., Nagarajan, E. R., Thomas, S. (2011) Cellulose nanocomposites with nanofibres isolated from pineapple leaf fibers for medical applications. *Carbohydr. Polym.* vol, 86, pp. 1790-1798.

Chik, T. K., Chooi, W. H., Li, Y. Y., Ho, F. C., Cheng, H. W., Choy, T. H., Sze, K. Y., Luk, K. K., Cheung, K. M., Chan, B. P. (2015). Bioengineering a multicomponent spinal motion segment construct - A 3D model for complex tissue engineering, *Adv. Healthc. Mater.* vol, 4, pp. 99-112.

Chinga, C. G. (2011). Cellulose Fibres, Nanofibrils and Microfibrils: The Morphological Sequence of MFC Components from a Plant Physiology and Fibre Technology Point of View, *Nanoscale Res. Lett.* vol, 6, pp. 417.

Ciobanu, A., Mallard, I., Landy, D., Brabie, G., Nistor, D., Fourmentin, S. (2013) Retention

of aroma compounds for Mentha Piperita essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrins polymers, Food Chem. vol, 138, pp. 291-297.

Coelho, J. F., Ferreira, P. C., Alves, P., Cordeiro, R., Fonseca, A. C., Góis, J. R., Gil, M. H. (2010). Drug Delivery Systems: Advanced Technologies Potentially Applicable in Personalized Treatments, EPMA J. 1, pp. 64-209.

Curto, J .M. R., Martins, N. V. D. F., Ferreira, J. S., Videira, P. E. M., Conceição, E. L. T., Portugal, A. T. G., Simões, R. M. S., Santos Silva, M. J. (2016). The Challenge of using 3D Computational Simulation to develop 3D drug delivery systems made from nano Polymeric Porous Materials, in: Proceedings of Nanoscience and Nanotechnology International Conference (NanoPt), International Nanotechnology Laboratory (INL), Braga, Portugal, February 16-19.

Curto, J. M. R. (2012). 3D Computational Simulation and Experimental Characterization of Polymeric Stochastic Network Materials: Case Studies in Reinforced *Eucalyptus* Office Paper and Nanofibrous Materials, Covilhã: Universidade da Beira Interior. Tese de Doutoramento.

Curto, J. M. R., Conceição, E. L. T., Portugal, A. T. G., Simões, R. M. S. (2011) Three Dimensional Modelling of Fibrous Materials and Experimental Validation, Materialwiss. Werkst.42, pp. 370- 374.

Curto, J. M. R., Costa, A. P., Amaral, M. E., Ferreira, J. S., Costa, V. L. D., Martins, N.V., Videira, P. E. M., Morais, F.P., Sousa, A. R. L., Conceição, E. L. T., Portugal, A. T. G., Simões, R. M. S., Silva, M. J. S. (2016). The Importance of Optimizing the 3D Structure When Developing Cellulosic Materials for Medical Applications: The Case of Drug Delivery Systems (DDS), in: XXIII TECNICELPA- Conferência Internacional Da Floresta, Pasta e Papel, 12-14 de Outubro, Porto, Portugal.

Curto, J. M. R., Mendes, A. O., Conceição, E. L. T., Portugal, A. T. G., Fiadeiro, P. T., Ramos, A. M. M., Simões, R. M. S., Santos Silva, M. J. (2015) Development of an Innovative 3D Simulator for Structured Polymeric Fibrous Materials and Liquid Droplets, in: Advanced Structured Materials-Mechanical and Materials Engineering of Modern Structure and Component Design, pp. 301-21.

Curto, J. M. R., Rodrigues, T. I. F., Santos Silva, M. J. (2015) Optimization of Fibrous Structures with Cellulose Fibres, Polyacrylamide Polymers and CaCO<sub>3</sub> Fillers: Experimental Characterization for Computational Simulation, Material wiss. Werkst. 46, pp. 434-439.

- Dayal, M. S., Goswami, N., Sahai, A., Jain, V., Mathur, G., Mathur, A. (2013). Effect of Media Components on Cell Growth and Bacterial Cellulose Production from *Acetobacter Aceti* MTCC 2623, *Carbohydr. Polym.* vol, 94, pp. 12-16.
- Dullien, F. A. L. (1992). *Porous Media—Fluid Transport and Pore Structure*, 2nd ed; Academic Press: San Diego
- González, R. M. L., Holgado, M. A., Sánchez-Lafuente, C., Rabasco, A. M., Fini, A. (2002). Alginate/chitosan Particulate Systems for Sodium Diclofenac Release, *Int. J. Pharm.* vol, 232, pp. 225-234.
- Henriksson, M. (2008). *Cellulose nanofibrila networks and composites: preparation, structure and properties*. American Chemical Society Publications. vol, 3, pp. 51.
- Hentze, H. P. (2010). *From Nanocellulose Science towards Applications*. VTT-Technical Research Center of Finland. Pul Paper, 2558, pp. 73.
- Hua, S., Ma, H., Li, X., Yang, H., Wang, A. (2010). pH-Sensitive Sodium Alginate/poly (vinyl Alcohol) Hydrogel Beads Prepared by Combined  $Ca^{2+}$  Crosslinking and Freeze-Thawing Cycles for Controlled Release of Diclofenac Sodium, *Int. J. Biol. Macromol.* vol, 46, pp. 517-523.
- Hussain, Al., Anwar, F., Hussain, S. T., Przybylski, R. (2008). Composição química, atividade antioxidante e antimicrobiana de manjeriçao (*Ocimum basilicum*) óleos essenciais depende de variações sazonais, *Food Chem.* vol, 108, pp. 986 - 995.
- Jandit, j., Aqil, M., Sultana, Y. (2016). Nanoencapsulation technology to control the release and increase the bioactivity of essential oils. *Nanotechnology in the agro-food industry* vol, 2, pp. 597 - 640.
- Jorfi, M., Foster, E. J. (2015). Recent advances in nanocellulose for biomedical applications, *J. Appl. Polym. Sci.* vol, 132, pp. 41719.
- Kfoury, M., Auezoal, L., Greige-Gerges, H., Fourmentin, S. (2015). Promising application of cyclodextrins in food improvement of essential oils retention, controlled release and antiradical activity, *Carbohydr. Polym.* vol, 131, pp. 264-272.
- Kfoury, M., Balan, R., Landy, D., Nistor, D., Fourmentin, S. (2015). Investigation of complexation of essential oil of components with cyclodextrin, *Supramol. Chem.* vol, 27, pp. 620-628.

- Kfoury, M., Pipkin, J. D., Antle, V., Fourmentin, S. (2017). Captisol, an efficient carrier and solubilizing agent for essential oils and their components, *Flav. Fragr. J.* vol, 32, pp. 340-346
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P., Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material, *Angew. Chem. Int. Edit.* vol, 44, pp. 3358-3393.
- Kreuter, J. (2014). Drug delivery to the central nervous system by polymeric nanoparticles: What do we know? *Adv. Drug Deliver. Rev.* vol, 71, pp. 2-14.
- Lee, K. Y.; Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci.* vol, 37, pp. 106-126.
- Liu, J., Huang, Y., Kumar, A., Tan, A., Jin, S., Mozhi, A., Liang, X. J. (2014). pH Sensitive Nano-Systems for Drug Delivery in Cancer Therapy, *Biotechnol. Adv.* vol, 32, pp. 693-710.
- Liu, Y., Thibodeaux, D., Gamble G. (2012). Characterization of attenuated total reflection infra- red spectral intensity variations of immature and mature cotton fibers by two-dimensional correlation analysis. "*Appl Spectrosc.* vol, 66, pp. 198-207.
- Martins, N. V. D. F., Curto, J. M. R., Simões, R. M. S and Silva, M. J. S. (2016). Development of Drug Delivery Systems (DDS) coated with polymeric materials, in: First Symposium of FibenTech-Fibrous materials and Environmental Technologies Research Unit, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal, January 26-29, pp. 95-98.
- Missoum, K., Belgacem, M. N., Bras, J. (2013). Nanofibrillated Cellulose Surface Modification: A Review, *Materials.* 6, pp. 1745-1766.
- Mohan, S., Oluwafeni O. S., Kalarikkal, N., Thomas, S., Songca, P. S. (2016). Biopolymers - Application in Nanoscience and Nanotechnology. 10, pp. 5772 - 62225.
- Moulton, S. E., Wallace, G. G. (2014). 3-dimensional (3D) fabricated polymer-based drug delivery systems, *J. Control. Release.* vol, 193, pp. 27-34.
- Myllärinen, P., Partanen, R., Seppala, J., Forsella, P. (2002). Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carb Polym.* vol, 50, pp. 355-361.
- Nóbrega, K. C., Amorim, L. V. (2015). Influence of the Molar Mass of CMC in the Rheological Behavior and Filtration of Clay Suspensions, *Cerâmica* vol, 61, pp. 399-408.

- Osong, S. H., Norgren, S., Engstrand, P. (2016). Processing of Wood-Based Microfibrillated Cellulose and Nanofibrillated Cellulose, and Applications Relating to Papermaking: A Review, *Cellulose* 23, pp. 93-123.
- Sehaqui, H., Allais, M., Zhou, Q., Berglund, L. A. (2011). Wood cellulose biocomposites with? Fibrous structures at micro- and nano-scale. *Composites Science and Technology*. vol, 71, pp. 382-387.
- Sereno, A. M., Silva, M. A., Mayor, L.,(2007). Determination of particle density and porosity in foods and porous materials with high moisture content. *International Journal of Food Properties*, 10, pp. 455-469
- Siró, I., Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose*. vol, 17, pp. 459-494.
- Snell, K. D., Singh, V., Brumbley, S. M. (2015). Production of novel biopolymers in plants recent technological advances and future prospects. *Curr Opin Biotechnol*. vol, 32, pp. 68-75.
- Sol, J., Tan, H. (2013). Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Materials*. vol, 6, pp. 1285-1309.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng , N. R., Nogueira , J. M., Saraiva, J. A., Nunes M. L. (2013). Composição química e propriedades antibacterianas e antioxidantes dos óleos essenciais comerciais, *Ind. Crops Prod*. vol, 43, pp. 587 - 595.
- Tiwari, G., Tiwari, R., Sriwastawa, B., Bhati, L., Pandey, S., Pandey P., Bannerjee, S. K. (2012). Drug delivery systems: An updated review, *Int. J. Pharm. Investig*. vol, 2, pp. 2-11.
- Tonoli, G. H. D., Teixeira, E. M., Corrêa, A. C., Marconceni, J.M., Caixeta, L. A., Pereira-da-Silva, M. A., Mattoso, L. H. C. (2012) Cellulose micro/nanofibres from Eucalyptus pulp: preparation and properties, *Carbohyd. Polym*. vol, 89, pp. 80-88.
- Turek, C., Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*. vol,12, pp. 40-53.
- Vitti, A. M. S., Brito, J. O. (2003). Óleo Essencial de Eucalipto. *Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP, Documentos florestais*. vol,17, pp. 0103-4715.
- Wadhwa, G., Kumar, S., Chhabra, L., Mahart, S., Rao, R. (2017). Essential oil-cyclodextrin

complexes: an updated review, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* vol, 89, pp. 39-58.

Wang, B., Sain, M. (2007). Isolation of Nano fibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. *Composites Science and Technology.* vol, 67, pp.2521-2527.

Wang, S., Cheng, Q., Rials, T. G., Lee, S. H. (2006). Cellulose Microfibril/Nanofibril and Its Nanocomposites. In: *Pacific Rim Bio-Based Composites Symposium, Tennessee. Proceedings Tennessee: Forest Products Center, University of Tennessee.* vol, 8, pp. 2506-37996.

Yano, H., Nakagaito A. N. (2004). The effect of morphological changes from pulp fiber towards nano-scale fibrillated cellulose on the mechanical properties of high-strength plant fiber-based composites. *Applied Physics A - Materials Science & Processing.* vol, 78, pp. 547-552.

Yano, H., Nakagaito, A. N., Iwamoto, S. (2007). Nanofibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. *Applied Physics A - Materials Science Processing.* vol, 89, pp. 461- 466

## APÊNDICE

### APÊNDICE A: Lista de Publicações

#### Comunicações em Póster

1. Mariti, H.N.<sup>a,b</sup>, Maielano B.J.P.<sup>a,b</sup>, Moraes, F.P.<sup>b</sup>, Curto, J.M.R.<sup>b,c</sup>, Development of 3D Porous Polymeric Systems of Eucalyptus Pulp in: VI National Meeting of Chemistry students, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal, March 23-26,2018.
2. Maielano, B.J.P.<sup>a,b</sup>, Mariti, H.N.<sup>a,b</sup>, Moraes, F.P.<sup>b</sup>, Curto, J.M.R.<sup>b,c</sup>, Characterization of Microfibrillated Cellulose (MFC) structures for the transport of analgesic drugs allowing their controlled release in the gastrointestinal tract , in: VI National Meeting of Chemistry students, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal ., March 23-26,2018

## Development of 3D Porous Polymeric Systems of Eucalyptus Pulp

Mariti, H.N.<sup>a,b</sup>, Maielano B.J.P.<sup>a,b</sup>, Morais, F.P.<sup>b</sup>, Curto, J.M.R.<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup>Master Student in Medicinal Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal

<sup>b</sup>FibEnTech - Fiber Materials and Environmental Technologies Research Unit, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal

<sup>c</sup>CIEPQPF - Chemical Process Engineering and Forest Products Research Unit, Department of Chemical Engineering, University of Coimbra, Coimbra, Portugal.

**Email:** [henrique.mariti@ubi.pt](mailto:henrique.mariti@ubi.pt), [benjamim.maielano@ubi.pt](mailto:benjamim.maielano@ubi.pt); [flavia.morais@ubi.pt](mailto:flavia.morais@ubi.pt), [joana.curto@ubi.pt](mailto:joana.curto@ubi.pt)

### Abstract

The Microfibrillated cellulose (CMF) can be used as a controlled release system due to its high surface area, biodegradability, high strength and rigidity. The objective consists in developing 3D porous molecule transport systems made from microfibrillated cellulose (CMF) of eucalyptus globulus for dermal applications. Kraft cellulose pulp and its derivatives, CMF and carboxymethylcellulose (CMC) were used as materials. The methodology consisted on the disintegration and beating of the Kraft cellulose pulp fibers to obtain microfibrillated cellulose fibres and the use of different concentrations of CMC (0.1, 0.01 and 0.001 % m / v). The characterization of the structures was done by measuring the weight, thickness, porosity and pore size using ISO Standards and the Scanning Electron Microscope (SEM). The molecule chosen to be introduced in this transport system is the essential oil of eucalyptus due to its medicinal properties. The analysis of the results shows that the porosity of the 3D structures obtained by disintegration is superior to the porosity of the structures obtained by disintegration followed by refining the fibers. The 3D structures obtained have porosity and pore sizes that can be optimized for the development of new drug systems containing therapeutic molecules derived from eucalyptus.

### Key words:

Microfibrillated cellulose (CMF), Eucalyptus globulus, Drug Delivery System, Oil essences, Porosity.

**Acknowledgements:** This work is supported by FibEnTech, Research Unit, Chemistry Department, Faculty of Sciences, University of Beira Interior.

**References:**

- [1] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., Efeitos biológicos dos óleos essenciais - uma revisão, *Food Chem. Toxicol.*, 46 (2008) 446 - 475
- [2] Burt S., Óleos essenciais: suas propriedades antibacterianas e aplicações potenciais em alimentos - uma revisão, *Int. J. Food Microbiol.*, 94 (2004) 223 - 253
- [3] Chik, T.K., Chooi, W.H., Li, Y.Y., Ho, F.C., Cheng, H.W., Choy, T.H., Sze, K.Y., Luk, K.K., Cheung, K.M., Chan, B.P., Bioengineering a multicomponent spinal motion segment construct - A 3D model for complex tissue engineering, *Adv. Healthc. Mater.* 4 (2015) 99-112.
- [4] Curto, J.M.R., Martins, N.V.D.F., Ferreira, J.S., Videira, P.E.M., Conceição, E.L.T., Portugal, A.T.G., Simões, R.M.S., Santos Silva, M.J., The Challenge of using 3D Computational Simulation to develop 3D drug delivery systems made from nano Polymeric Porous Materials, in: *Proceedings of Nanoscience and Nanotechnology International Conference (NanoPt)*, International Nanotechnology Laboratory (INL), Braga, Portugal, February 16-19, 2016.
- [5] Curto, J.M.R., Conceição, E.L.T., Portugal, A.T.G., Simões, R.M.S., Three Dimensional Modelling of Fibrous Materials and Experimental Validation, *Materialwiss. Werkst.*, 42 (2011) 370-374.

**Characterization of Microfibrillated Cellulose (MFC) structures for the transport of analgesic drugs allowing their controlled release in the gastrointestinal tract**

**Maielano, B.J.P<sup>a,b</sup>., Mariti, H.N<sup>a,b</sup>., Morais, F.P<sup>b</sup>., Curto, J.M.R<sup>b,c</sup>.**

<sup>a</sup> Master's student in Medicinal Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal

<sup>b</sup> FibEnTech - Fiber Materials and Environmental Technologies Research Unit, University of Beira Interior, Portugal

<sup>b,c</sup> CIEPQPF - Chemical Process Engineering and Forest Products Research Unit, Department of Chemical Engineering, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

**Email:** [benjamim.maielano@ubi.pt](mailto:benjamim.maielano@ubi.pt); [henrique.mariti@ubi.pt](mailto:henrique.mariti@ubi.pt); [flavia.morais@ubi.pt](mailto:flavia.morais@ubi.pt)  
[joana.curto@ubi.pt](mailto:joana.curto@ubi.pt);

**Abstract**

The controlled release of drugs is important so that a suitable concentration of the drug is maintained in the body for the clinically necessary time and directed at a specific site of action to avoid side effects. In this work we intend to avoid the release of Diclofenac in the acidic pH of the stomach (pH of 2) because it is known that has negative effect on the gastric mucosa. The objective consisted of producing Drug Delivery Systems (DDS) made from Microfibrillated Cellulose (MFC) for the transport of Diclofenac, allowing its controlled release in the first part of the intestine, the duodena (pH 6.6). The DDS have been produced using natural polymeric materials, like alginate, and cellulose derivatives such as Carboxyl methylcellulose (CMC) and Microfibrillated cellulose (CMF). The Diclofenac will be compared with other therapeutic molecules to be incorporated in the innovative DDS. The methods to obtain CMF were based on the disintegration and refining of the cellulose fibers of Eucalyptus Kraft pulp. The characterization of the structures included the quantification of the fiber and pore dimensions using the scanning electron microscope (SEM). The affinity with water was quantified using contact angle technique. It was found that the refining process decreases the porosity and that, the pore distribution, is fundamental in the kinetics of controlled release of the drug.

**Key words:** Microfibrillated cellulose (MFC), Diclofenac, Drug Delivery System, Gastric side effects, pH controlled release

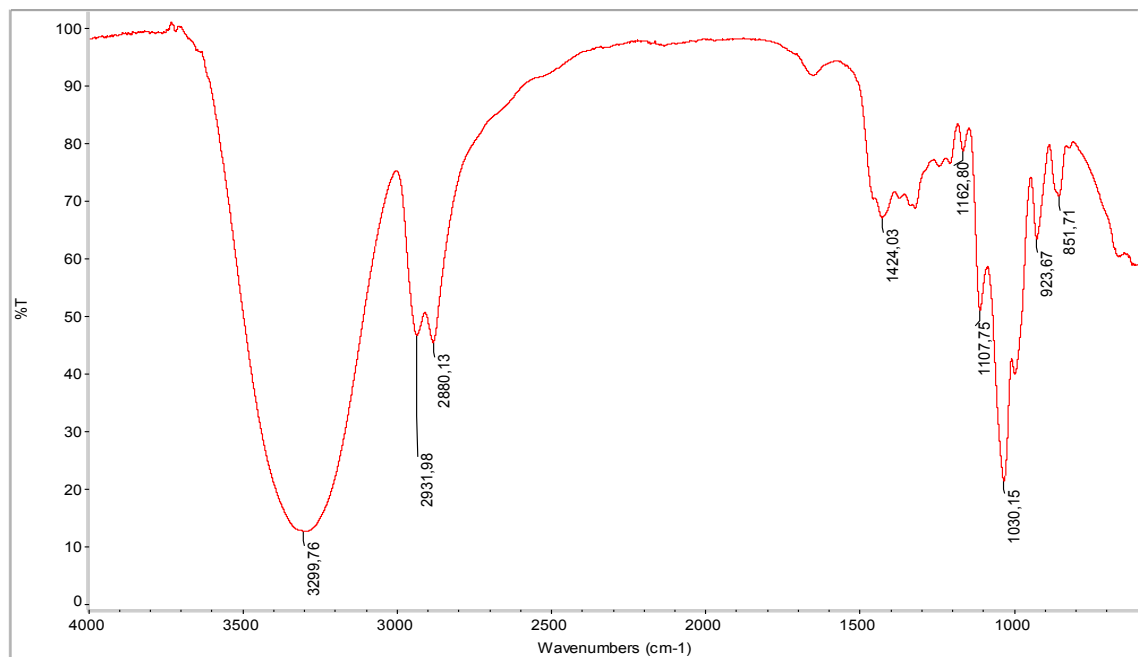
**Acknowledgments:** This work is supported by FibEnTech Research Unit, Chemistry Department, Faculty of Sciences, University of Beira Interior

## References

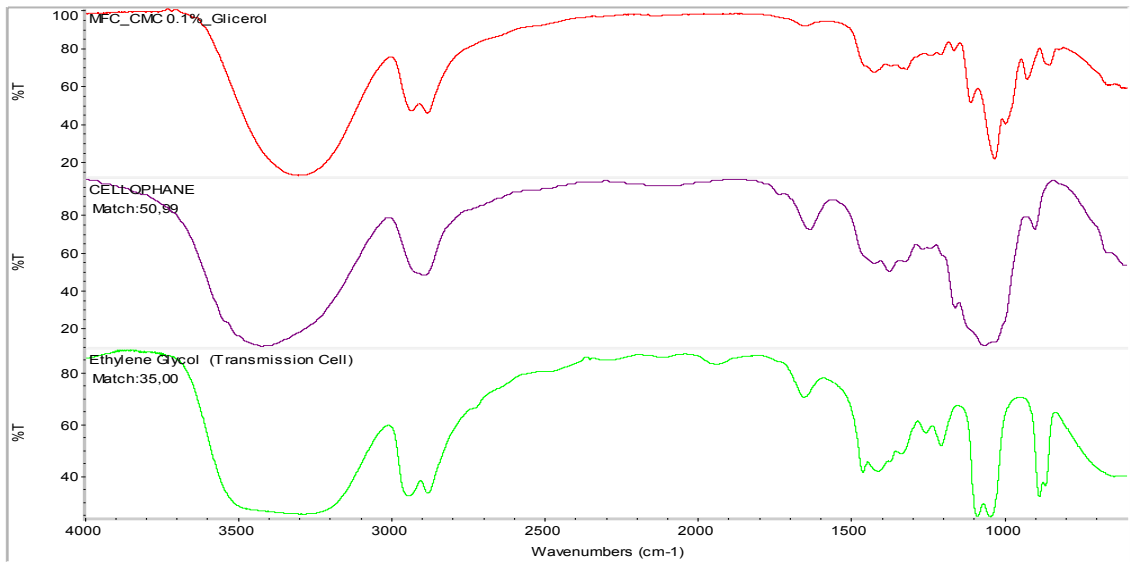
1. Chien, Y.W., *Novel Drug Delivery Systems*, second ed., Marcel Dekker Inc., New York, 1992.
2. Galaev, I.Y., Mattiasson, B., "Smart" polymers and what they could do in biotechnology and medicine, *Trends Biotechnol.*, 17 (335-340). 1999
3. Siró, I., Plackett, D., Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a new review, *Cellulose*, 17 .459-494. 2010
4. Feng, L., Li, S., Li, Y., Li, H., Zhang, L., Zhai, J., Song, Y., Liu, B., Jiang, L., Zhu, D., Super- Hydrophobic Surfaces: From Natural to Artificial, *Adv. Mater.*, 14. 1857-1860. 1997
5. Morais F.P., *Desenvolvimento de Sistemas de Entrega de Fármacos Inovadores utilizando Materiais Poliméricos Porosos contendo Nanocelulose*, Medicinal Chemistry Master's Thesis, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2017.
6. Yang, L., Fassihi R., Modulation of Diclofenac Release from a Totally Soluble Controlled Release Drug Delivery System, *J. Control. Release*, 44 135-140. 1997

## APÊNDICE B: Espectros

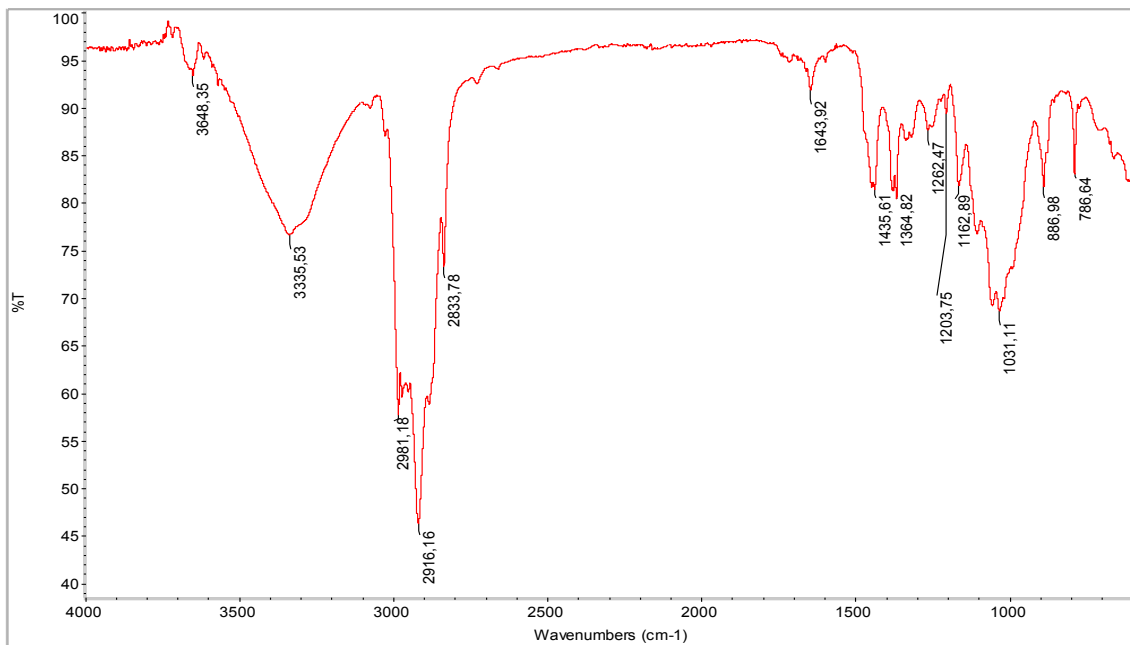
Espectro de absorção na região do IV da pasta Kraft refinada + glicerol.



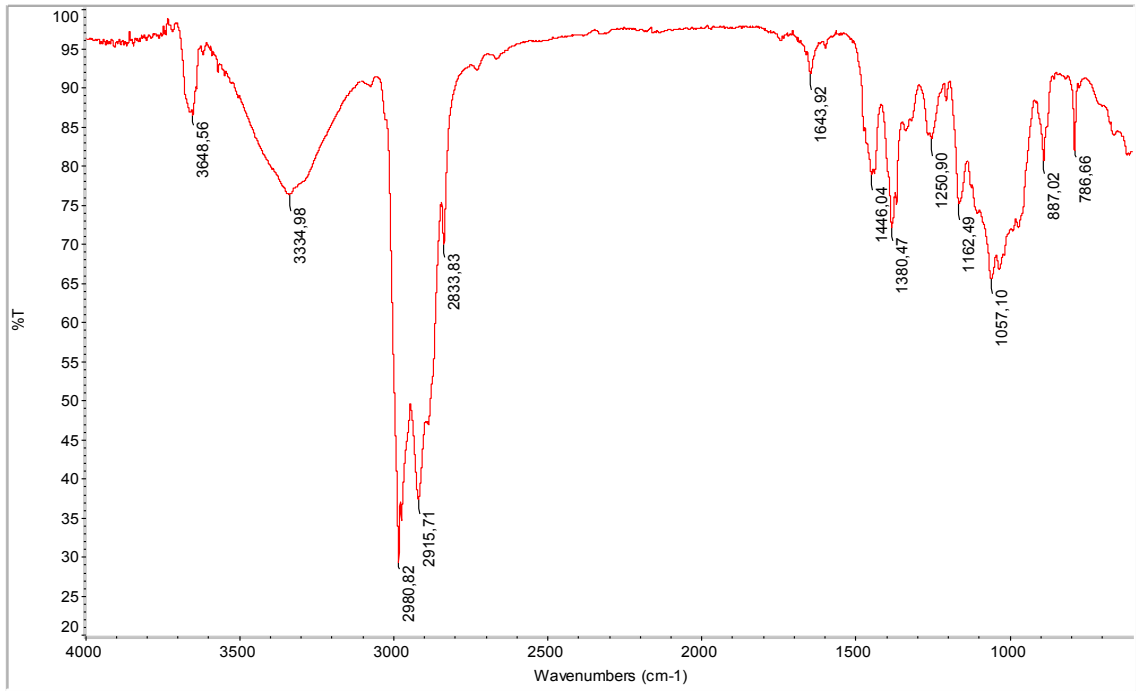
Espectro comparativo de absorção da pasta Kraft refinada + glicerol com os espectros dos compostos encontrados da biblioteca do FTIR.



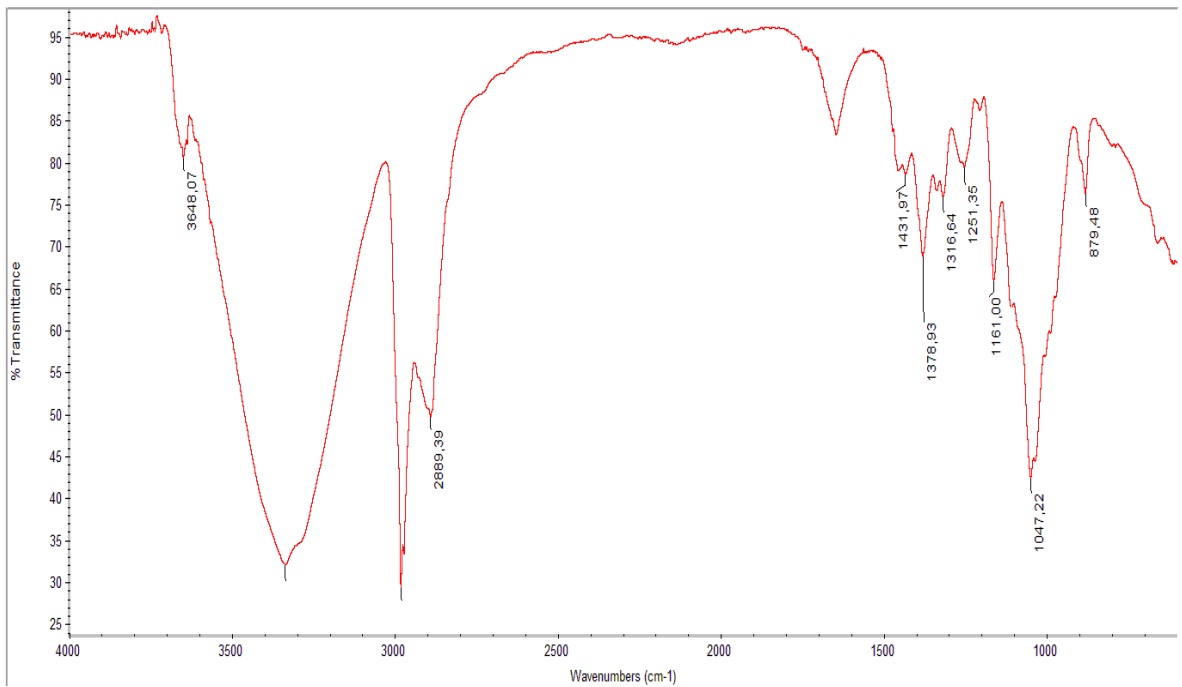
Espectro de absorção na região do IV de pasta Kraft refinada + óleo de pinho



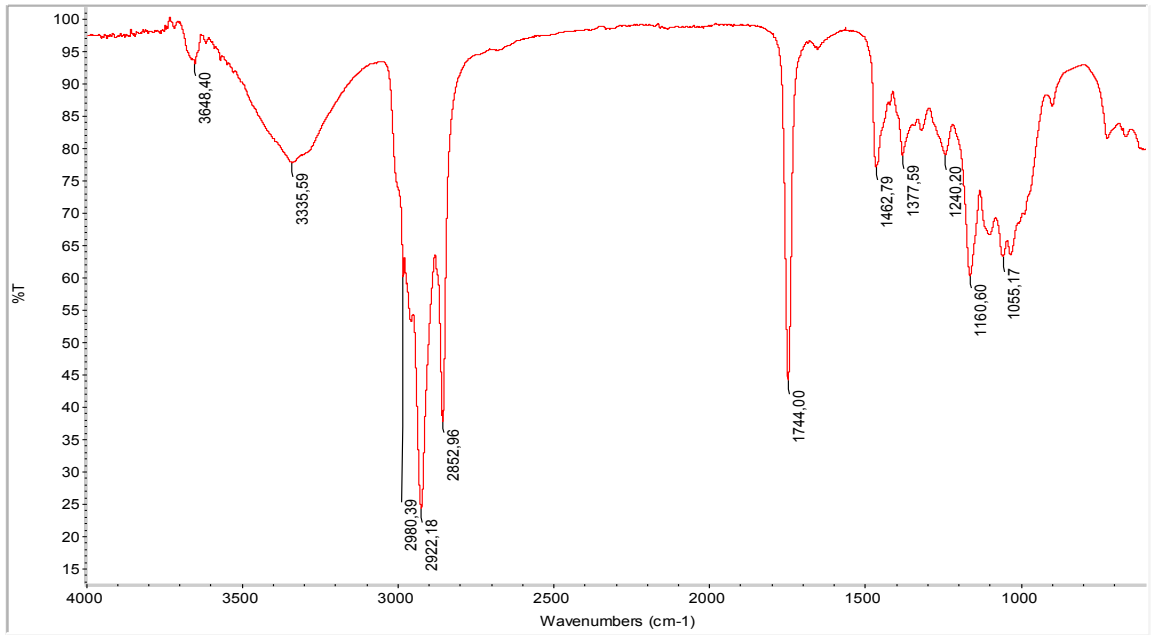
Espectro de absorção na região do IV para a amostra de pasta Kraft não refinada + óleo de pinho



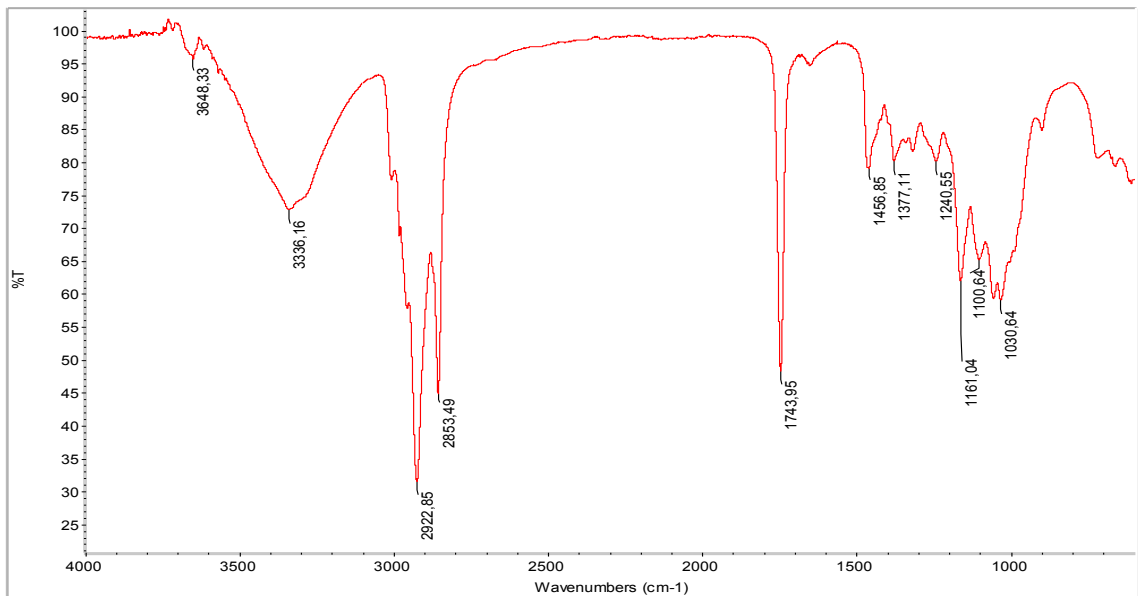
Espectro de absorção na região do IV de pasta Kraft refinada + Óleo de Alecrim



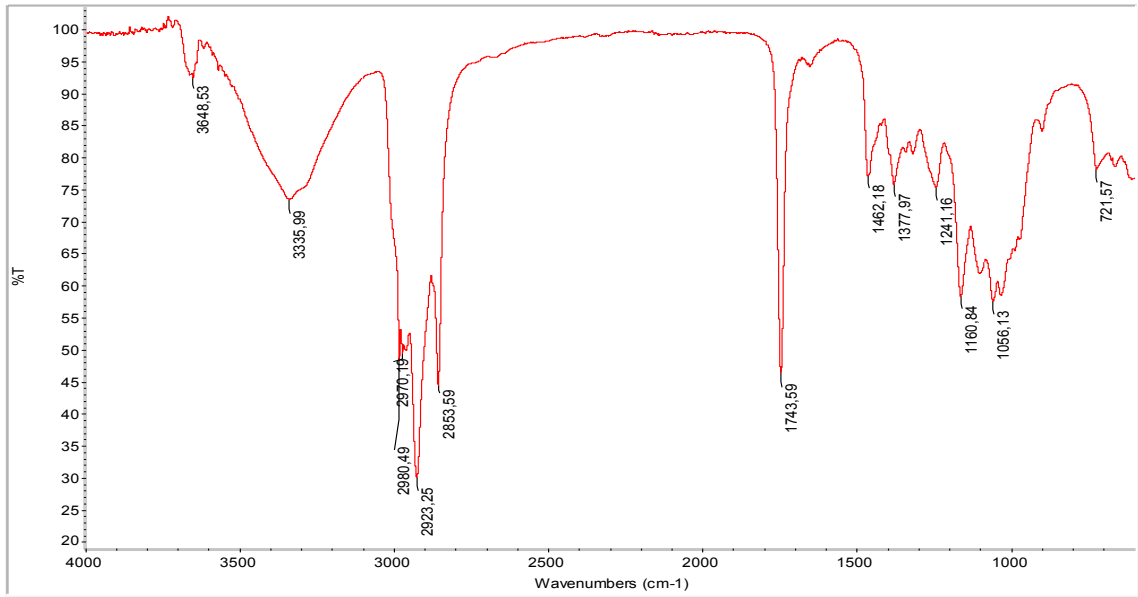
Espectro de absorção na região do IV de pasta Kraft refinada + Óleo de Argan



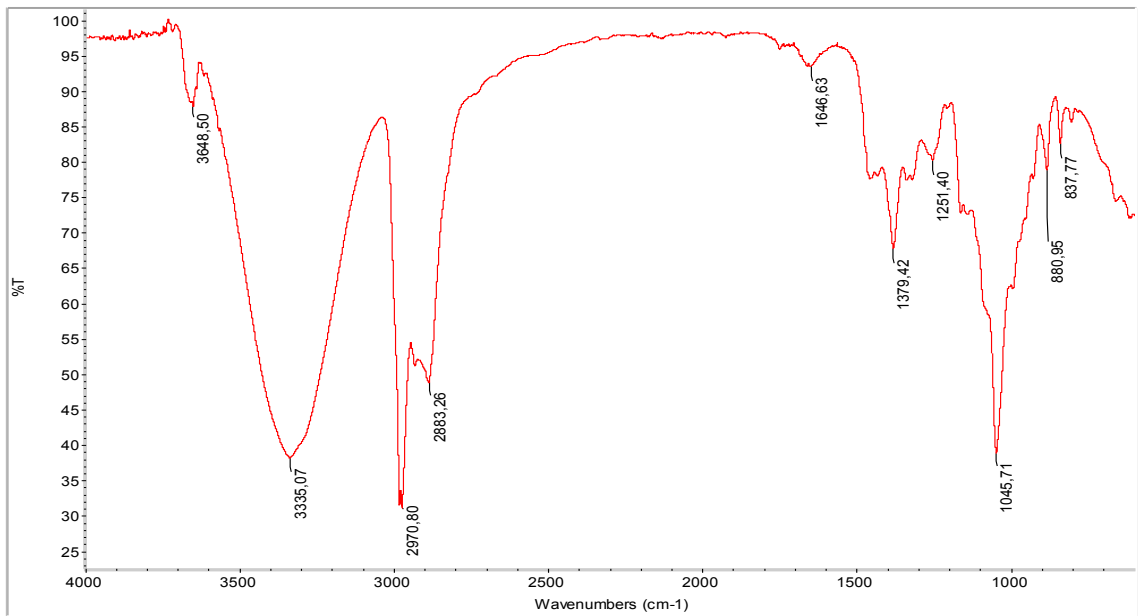
Espectro de absorção na região do IV de pasta Kraft refinada + Óleo de Grainha da uva



Espectro de absorção na região do IV de pasta Kraft refinada + Óleo de Rosa mosqueta



Espectro de absorção na região do IV de pasta Kraft refinada + óleo de Tea tree



## APÊNDICE C: Cálculos da porosidade

$$\text{Porosidade} = \frac{\text{Volume total} - \text{volume do vazio}}{\text{volume total}} * 100$$

a) Volume do vazio=?

Sendo o volume da celulose igual ao volume ocupado pelas fibras de celulose, tem-se:

$$\text{Volume do vazio} = \text{volume total} - \text{volume da celulose}$$

Ora, volume da celulose é calculado com base na relação da densidade:

$$\rho = \frac{m}{v} \rightarrow V_{\text{celulose}} = \frac{m}{\rho} = \frac{1,3622g}{1,5g/cm^3} = 0,908cm^3$$

**Nota:** De acordo a literatura, o valor da **densidade** é **1,5g/cm<sup>3</sup>**.

b) Volume total=?

$$\text{Volume total} = \text{Área de base} * \text{Altura}$$

$$\rightarrow V_{\text{total}} = \pi * r^2 * h \quad \text{Ora,} \quad r^2 = \frac{d}{2} = \frac{16,2}{2} = 8,1cm$$

$$\rightarrow V_{\text{total}} = 3,14 * (8,1)^2 * h$$

$$\rightarrow V_{\text{total}} = 3,14 * 65,61 * h$$

$$\rightarrow V_{\text{total}} = 206 * h \quad \text{ora, } h = \text{Espessura (cm)}$$

$$\rightarrow V_{\text{total}} = 3,14 * 65,61cm^2 * 0,0194cm \quad \rightarrow \text{Volume total} = 3,996cm^3$$

Conhecendo os dois volumes, pode-se calcular a porosidade:

$$\text{Porosidade} = \frac{3,996\text{cm}^3 - 0,908\text{cm}^3}{3,996\text{cm}^3} * 100\% \rightarrow \text{Porosidade} = 77,2$$

Portanto, utilizando um dos valores da **espessura** e da **massa**, determinou que a porosidade é igual a **77,2%**

## DETERMINAÇÃO MANUAL

### ESTRUTURAS NÃO REFINADAS

1)

- **Volume vazio** =  $\frac{m}{\rho} = \frac{1,36g}{1,5g\text{cm}^3} = 0,908\text{cm}^3$

- **Volume total** =  $\pi * r^2 * h$  (Espessura em cm)  $r^2 = \frac{d}{2} = \frac{16,2}{2} = 8,1\text{cm}$

$$= 3,14 * (8,1)^2 * h$$

$$= 3,14 * 65,61\text{cm}^2 * 0,0194\text{cm} \rightarrow \text{Volume total} = 3,996\text{cm}^3$$

$$\text{Porosidade} = \frac{3,996\text{cm}^3 - 0,908\text{cm}^3}{3,996\text{cm}^3} * 100\% \rightarrow \text{Porosidade} = 77,2\%$$

2)

- **Volume vazio** =  $\frac{m}{\rho} = \frac{1,4g}{1,5g\text{cm}^3} = 0,933\text{cm}^3$

- **Volume total** =  $\pi * r^2 * h$  (Espessura em cm)  $r^2 = \frac{d}{2} = \frac{16,2}{2} = 8,1\text{cm}$

$$= 3,14 * (8,1)^2 * h$$

$$= 3,14 * 65,61\text{cm}^2 * 0,0203\text{cm} \rightarrow \text{Volume total} = 4,18\text{cm}^3$$

$$\text{Porosidade} = \frac{4,18\text{cm}^3 - 0,933\text{cm}^3}{4,18\text{cm}^3} * 100\% \rightarrow \text{Porosidade} = 77,6\%$$

3)

- $\text{Volume vazio} = \frac{m}{\rho} = \frac{1,41\text{g}}{1,5\text{gcm}^3} = 0,92\text{cm}^3$

- $\text{Volume total} = \pi * r^2 * h$  (Espessura em cm)  $r^2 = \frac{d}{2} = \frac{16,2}{2} = 8,1\text{cm}$

$$= 3,14 * (8,1)^2 * h$$

$$= 3,14 * 65,61\text{cm}^2 * 0,0205\text{cm} \rightarrow \text{Volume total} = 4,22\text{cm}^3$$

$$\text{Porosidade} = \frac{4,22\text{cm}^3 - 0,92\text{cm}^3}{4,22\text{cm}^3} * 100\% \rightarrow \text{Porosidade} = 78,19\%$$

## ESTRUTURAS REFINADAS

1)

- $\text{Volume vazio} = \frac{m}{\rho} = \frac{1,39\text{g}}{1,5\text{gcm}^3} = 0,92\text{cm}^3$

- $\text{Volume total} = \pi * r^2 * h$  (Espessura em cm)  $r^2 = \frac{d}{2} = \frac{16,2}{2} = 8,1\text{cm}$

$$= 3,14 * (8,1)^2 * h$$

$$= 3,14 * 65,61\text{cm}^2 * 0,0146\text{cm} \rightarrow \text{Volume total} = 3\text{cm}^3$$

$$\text{Porosidade} = \frac{3\text{cm}^3 - 0,92\text{cm}^3}{3\text{cm}^3} * 100\% \rightarrow \text{Porosidade} = 69,33\%$$

2)

- $\text{Volume vazio} = \frac{m}{\rho} = \frac{1,43\text{g}}{1,5\text{gcm}^3} = 0,953\text{cm}^3$

- $\text{Volume total} = \pi * r^2 * h$  (Espessura em cm)  $r^2 = \frac{d}{2} = \frac{16,2}{2} = 8,1\text{cm}$

$$= 3,14 * (8,1)^2 * h$$

$$= 3,14 * 65,61\text{cm}^2 * 0,0144\text{cm} \rightarrow \text{Volume total} = 2,96\text{cm}^3$$

$$\text{Porosidade} = \frac{2,96\text{cm}^3 - 0,953\text{cm}^3}{2,96\text{cm}^3} * 100\% \rightarrow \text{Porosidade} = 67,8\%$$

3)

- $\text{Volume vazio} = \frac{m}{\rho} = \frac{1,39\text{g}}{1,5\text{gcm}^3} = 0,92\text{cm}^3$

- $\text{Volume total} = \pi * r^2 * h$  (Espessura em cm)  $r^2 = \frac{d}{2} = \frac{16,2}{2} = 8,1\text{cm}$

$$= 3,14 * (8,1)^2 * h$$

$$= 3,14 * 65,61\text{cm}^2 * 0,0144\text{cm} \rightarrow \text{Volume total} = 2,96\text{cm}^3$$

$$\text{Porosidade} = \frac{2,96\text{cm}^3 - 0,92\text{cm}^3}{2,96\text{cm}^3} * 100\% \rightarrow \text{Porosidade} = 68,91\%$$

Material	Espessura	Massa	Raio	Densidade	V. total	V. vazio	Porosidade
Pasta kraft +CMC 0,1%	0,0194	1,36	8,1	1,5	3,99	0,908	77,2
Pasta kraft +CMC 0,01%	0,0203	1,40	8,1	1,5	4,18	0,933	77,6
Pasta kraft +CMC 0,001%	0,0205	1,41	8,1	1,5	4,22	0,94	78,2
Pasta refinada	_____	0,111	1,414	1,5			58
MFC + CMC 0,1%	0,0146	1,39	8,1	1,5	3,00	0,92	69,3
MFC + CMC 0,01%	0,0144	1,43	8,1	1,5	2,96	0,953	67,8
MFC + CMC 0,001%	0,0146	1,39	8,1	1,5	2,96	0,92	68,9
Unidades	(cm)	(g)	(cm)	(g/cm <sup>3</sup> )	(cm <sup>3</sup> )	(cm <sup>3</sup> )	(%)

