

# **Desenvolvimento e otimização de estruturas celulósicas 3D para retenção de moléculas ativas**

Versão final após defesa

**João Francisco Bettencourt Medeiros**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Química Industrial**

(2º ciclo de estudos)

Orientadora: Professora Doutora Joana Maria Rodrigues Curto

Co-orientadora: Professora Doutora Maria Lúcia Almeida da Silva

**Julho de 2023**

## Declaração de Integridade

Eu, João Francisco Bettencourt Medeiros, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição M11750 de Química Industrial da Faculdade de Ciências, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 27/07/2023



Assinado por: João Francisco  
Bettencourt Medeiros  
Identificação: B114676255  
Data: 2023-07-27 às 11:15:50



# Agradecimentos

Agradeço às minhas orientadoras, Professora Doutora Joana Curto e Professora Doutora Lúcia Silva pelo apoio, orientação e planeamento do trabalho desenvolvido, tendo um especial agradecimento à Professora Joana Curto por todo o tempo disponibilizado.

Agradeço à Canna Forest Lda. pela confiança no nosso trabalho e pela parceria desenvolvida ao longo deste trabalho.

Um grande obrigado à nossa equipa de investigação, principalmente ao José Mendes pela sua dedicação e à ótima relação que desenvolvemos ao longo deste percurso., principalmente pelo auxílio prestado na programação e simulação computacional das estruturas 2D e 3D. Agradeço também ao Mestre Nsevolo Samba pela sua disponibilidade e contribuição com a sua experiência na caracterização de produtos naturais.

Um grande agradecimento à Thalita Damaceno por todo o suporte de modo a concluir esta etapa fundamental para o meu futuro.

Agradeço à Mestre Maria Pinto e seus orientadores, pela colaboração estabelecida e material disponibilizado para obtenção das fibras de cânhamo.

Obrigado à Doutora Ana Paula Gomes pelas imagens e tempo disponibilizado.

Por último, um grande agradecimento à FibEnTech-UBI, dentro do projeto referencia UIDB/00195/2020, fundado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), I.P./MCTES, através de fundos nacionais (PIDDAC).



## Resumo

Nos dias de hoje, o desenvolvimento de sistemas dérmicos baseados em estruturas de base celulósica biodegradáveis constitui um desafio na área da Química Industrial, especialmente pela utilização tanto das fibras de celulose, como de moléculas ativas provenientes de plantas, numa perspectiva de circularidade. Tem-se assistido a um crescente interesse na utilização dos vários tipos de moléculas ativas provenientes da *Cannabis sativa* L. Neste estudo, estas combinam-se com moléculas ativas de outras plantas, entre as quais a *Camellia sinensis* L., com o objetivo de desenvolver formulações com interesse comercial.

Os compostos ativos e os constituintes voláteis, presentes em ambas as plantas, foram obtidos por hidrodestilação e microextração em fase sólida (HS-SPME), respetivamente, e caracterizados, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Mais de 60 compostos foram caracterizados no óleo essencial de cânhamo e mentrastos entre eles o  $\beta$  cariofileno (14,3%) e o  $\alpha$  terpinoleno (10,8%). A análise dos voláteis identificou a citronela (10,3%) e o  $\beta$  citronelol (8,9%) como os compostos maioritários presentes. No chá verde da Gorreana, os principais compostos encontrados foram o ácido palmítico e (25,5%) e a cafeína (12,8%). Neste trabalho foram caracterizados diferentes materiais de base celulósica, de *hardwood* e *softwood*, modificando a sua estrutura por métodos mecânicos, resultando na diminuição da porosidade da matriz produzida de 80% para 50%, e no aumento das propriedades mecânicas, como o módulo de elasticidade, em cerca de 6 vezes, contribuindo para o desenvolvimento de DDS sustentáveis capazes de reter as moléculas em estudo. Otimizaram-se os métodos de extração das fibras de *Cannabis sativa* L. a partir de caules cortados e submetidos ao cozimento alcalino com NaOH a 140°C, obtendo-se características estruturais de acordo com os requisitos para as aplicações pretendidas. A incorporação das fibras de cânhamo às fibras de papel industrial *tissue* resultaram no aumento do índice de tração em mais de 60% e do módulo de elasticidade da estrutura de 1650 MPa para 2318 MPa. O desenvolvimento e otimização de estruturas 3D permitiu a obtenção de protótipos laboratoriais com potencial para serem utilizados em aplicações dérmicas com maior sustentabilidade ambiental.

## Palavras-chave

*Camellia sinensis* L., *Cannabis sativa* L., Fibras de cânhamo, Celulose Micro/Nano Fibrilada, Sistemas Biodegradáveis.



## Abstract

Nowadays, the development of dermal systems based on biodegradable cellulosic structures is a challenge in Industrial Chemistry, especially for the use of both cellulose fibers and active molecules from plants, in a circularity perspective. A growing interest in the use of various types of active molecules from *Cannabis sativa* L. has been noted. In this work, these are combined with active molecules from other plants, including *Camellia sinensis* L., to develop formulations with commercial interest.

The active compounds and volatile constituents present in both plants were obtained by hydrodistillation and solid phase microextraction (HS-SPME), respectively, and characterized by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). More than 60 compounds were characterised in the cannabis essential oil, including  $\beta$  caryophyllene (14.3%) and  $\alpha$  terpinolene (10.8%). The analysis of volatiles identified citronella (10.3%) and  $\beta$  citronellol (8.9%) as the main compounds. In the green tea from Gorreana, the main compounds found were palmitic acid (25.5%) and caffeine (12.8%). In this work, different cellulosic base materials, hardwood, and softwood, were characterised, modifying their structure by mechanical methods, resulting in the decrease of the porosity of the produced matrix from 80% to 50%, and in the increase of the mechanical properties, such as the modulus of elasticity, in about 6 times, with a positive contribution for the development of sustainable DDS capable of retaining the molecules under study. Methods of extraction of *Cannabis sativa* L. fibers from cutted stems were optimized, submitted to alkaline NaOH pulping process at 140°C, obtaining structural characteristics in accordance with the requirements for the intended applications. The incorporation of hemp fibers to industrial tissue paper fibers resulted in an increase in the tensile index of more than 60% and in the modulus of elasticity of the structure from 1650 MPa to 2318 MPa.

The development and optimization of 3D laboratorial prototypes structures with potential for dermal applications and higher environmental sustainability was accomplished.

## Keywords

Biodegradable Systems, *Camellia sinensis* L., *Cannabis sativa* L., Hemp Fibers, Micro/Nano Fibrillated Cellulose Fibers.

# Índice

1. Introdução .....	2
1.1. Motivação .....	3
1.2. Objetivos .....	4
2. Revisão Bibliográfica.....	6
2.1. Compostos Ativos .....	6
2.1.1. Chá da Gorreana.....	6
2.1.1.1. Processo de fabrico.....	7
2.1.1.2. Composição do chá da <i>Camellia sinensis</i> L. ....	8
2.1.1.2.1. Cafeína.....	9
2.1.2. Óleo essencial (EO).....	10
2.1.3. <i>Cannabis sativa</i> L. ....	11
2.1.3.1 Composição da planta .....	12
2.1.4. <i>Ageratum conyzoides</i> L.....	12
2.2. Materiais lenhocelulósicos .....	13
2.2.1. Celulose .....	13
2.2.2. Hemicelulose .....	15
2.2.3. Lenhina .....	15
2.2.4. Cânhamo .....	16
2.2.4.1. Aplicações das Fibras de Cânhamo .....	17
2.2.5. Métodos de extração das Fibras de Cânhamo.....	19
2.2.5.1. Processo ao sulfito .....	19
2.2.5.2. Sulfito semi-químico (NSSC) .....	20
2.2.5.3. Cozimento Kraft.....	20

2.2.5.4. Branqueamento .....	21
2.2.6. Processos de obtenção de micro/nanocelulose .....	22
2.2.6.1. Processos mecânicos .....	23
2.2.6.2. Hidrolise ácida .....	23
2.2.6.3. Hidrólise Enzimática .....	24
2.3. Desenvolvimento de Aplicações .....	24
2.3.1. Papel <i>Tissue</i> .....	24
2.3.2. Materiais Multi-Estruturados .....	25
2.3.3. DDS de base celulósica para aplicações dérmicas .....	26
2.3.4. Modelação e simulação computacional de estruturas 3D de celulose .....	27
3. Materiais e Métodos .....	30
3.1. Materiais .....	30
3.1.1. Equipamentos .....	31
3.2. Métodos .....	32
3.2.1. Determinação da concentração do chá da Gorreana .....	32
3.2.1.1. Lei de Lambert -Beer .....	32
3.2.1.2. Determinação das condições ideais para o Chá da Gorreana .....	33
3.2.1.2. Teor de matéria seca (TMS) .....	33
3.2.2. Hidrodestilação .....	34
3.2.2.1. Hidrolato .....	35
3.2.2.2. Hidrodestilação <i>Cannabis sativa</i> L. e <i>Ageratum conyzoides</i> L. ....	36
3.2.2.3. Hidrodestilação Chá verde da Gorreana .....	36
3.2.3. Análise dos voláteis por <i>solid-phase microextraction</i> (SPME) .....	36
3.2.4. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) .....	38

3.2.5. Desenvolvimento e otimização das estruturas celulósicas 3D.....	39
3.2.5.1. Pastas de celulose .....	39
3.2.5.1.1. Determinação do teor de matéria seca das pastas.....	39
3.2.5.1.2. Produção das estruturas celulósicas .....	40
3.2.5.1.3. Avaliação da morfologia das fibras .....	41
3.2.5.1.4. Grau Schopper-Riegler .....	41
3.2.5.1.5 Avaliação das propriedades físicas e mecânicas das estruturas de celulose.....	41
3.2.5.1.6. Brancura ISO do papel .....	42
3.2.5.1.7. Opacidade do papel.....	42
3.2.5.1.8. Colorímetro CIELab .....	42
3.2.6. Obtenção das fibras de cânhamo .....	43
3.2.6.1. Preparação das amostras .....	43
3.2.6.2. Condições reacionais do cozimento.....	43
3.2.6.3. Branqueamento .....	44
3.2.6.4. Caracterização das fibras de cânhamo obtidas .....	44
3.2.6.5. Produção de matrizes celulósicas 3D por incorporação das fibras de cânhamo.....	45
3.2.7. Espectroscopia FTIR-ATR.....	45
3.2.8. Microscopia Eletrônica de Varrimento (SEM) .....	46
3.2.9. Retenção das moléculas ativas na suspensão fibrosa.....	46
3.2.9.1. Preparação das amostras .....	46
3.2.9.2. Avaliação da retenção das moléculas de interesse.....	47
3.2.9.3 Espectroscopia de Raio-X por Dispersão de Energia .....	47
3.2.10. Simulação computacional das estruturas de celulose .....	48
4. Resultados e Discussão .....	50
4.1 Caracterização do chá da Gorreana.....	50
4.1.1. Definição da reta de calibração da concentração do Chá Verde .....	50
4.1.2. Análise dos compostos presentes no Chá Verde .....	52

4.2. Óleos essenciais extraídos .....	54
4.2.1 GC-MS dos compostos presentes no óleo essencial de cânabis/mentrastos e hidrolato .....	54
4.2.2 Caracterização do óleo de cânabis isolado .....	56
4.3. Obtenção e caracterização das fibras de cânhamo tipo 1 .....	58
4.3.1. Rendimento da Extração .....	59
4.3.2. Caracterização por microscopia ótica.....	60
4.3.3. Caracterização morfológica.....	61
4.4. Obtenção e caracterização das fibras de cânhamo tipo 2 .....	66
4.4.1 Obtenção das fibras tipo 2 provenientes dos caules cortados .....	67
4.4.2. Obtenção das fibras tipo 2 provenientes dos caules moídos .....	68
4.4.3. Caracterização das fibras de cânhamo tipo 2.....	69
4.4.4. SEM das fibras de cânhamo tipo 2 .....	70
4.5. Avaliação das propriedades das estruturas de referência.....	71
4.5.1. Avaliação das fibras de Eucalipto e Pinho no microscópio ótico .....	71
4.5.2. Avaliação da morfologia das fibras.....	73
4.5.3. Avaliação da drenabilidade da pasta utilizando o Grau Schopper-Riegler .....	77
4.5.4. Avaliação das propriedades estruturais e mecânicas .....	78
4.5.5. Espectroscopia FTIR-ATR.....	81
4.6. Avaliação das características do papel <i>tissue</i> industrial .....	83
4.6.1. Morfologia das fibras .....	83
4.6.2. Propriedades físicas e óticas .....	85
4.6.3. Propriedades mecânicas .....	87
4.7. Retenção das moléculas ativas em matriz celulósica .....	88
4.7.1. Retenção do Hidrolato na estrutura de Micro/nanocelulose .....	93

4.7.2. Sistema de entrega de moléculas de micro/nanocelulose.....	95
4.8. Modelação e Simulação computacional das fibras e das estruturas .....	96
4.8.1. Modelação e Simulação das estruturas obtidas experimentalmente.....	96
4.8.1.1. Simulação das fibras de <i>hardwood</i> sem refinação .....	96
4.8.1.2. Simulação das fibras de <i>softwood</i> sem refinação.....	98
4.8.1.3. Simulação das fibras de cânhamo .....	98
4.8.1.4. Simulação da mistura das fibras de cânhamo e <i>hardwood</i> .....	99
4.8.2.5. Simulação da mistura das fibras de cânhamo, <i>hardwood</i> e um aditivo micro/nanocelulose .....	100
5. Conclusões e perspectivas futuras .....	103
Bibliografia .....	105
Anexos.....	I
Anexo A. Lista de publicações .....	II
Anexo B. Gráficos das curvas de calibração para determinar a concentração do chá.....	VIII
Anexo C. Cromatogramas e Compostos obtidos a partir da análise do chá verde da Gorreana ....	X
Anexo D. Cromatogramas e Compostos identificados no óleo de cânabis e mentrastos .....	XIII
Anexo E. Propriedades morfológicas das fibras de celulose .....	XVII
Anexo F. Propriedades estruturais e óticas das matrizes 3D celulósicas .....	XVIII
Anexo G. Propriedades mecânicas das estruturas de celulose .....	XIX



# Lista de Figuras

<b>Figura 1.1:</b> Artigos publicados em revista sobre fibras de cânhamo. Fonte: Scopus. ....	3
<b>Figura 2.1:</b> Diagrama de produção do chá a partir da <i>Camellia sinensis</i> L.....	7
<b>Figura 2.2:</b> Principais frutos e produtos que contêm cafeína (Adaptado de Rodak <i>et al.</i> , 2021). 10	
<b>Figura 2.3:</b> Representação da estrutura molecular da cadeia de celulose (Retidado de Ciechańska <i>et al.</i> , 2009). ....	14
<b>Figura 2.4:</b> Aplicações da planta do cânhamo (Adaptado de Promhuad <i>et al.</i> , 2022).....	18
<b>Figura 2.5:</b> Processamento do cânhamo até atingir a nano-escala. Desenvolvido na plataforma BioRender®. ....	19
<b>Figura 2.6:</b> Esquema da simulação computacional das estruturas celulósicas (Adaptado de Moraes & Curto, 2022). ....	27
<b>Figura 3.1:</b> Diferentes tipos de chás da Fábrica da Gorreana utilizados neste estudo (Retirado de Gorreana, 2015).....	30
<b>Figura 3.2:</b> Diluições e cor representativa do chá preto da Gorreana <i>Orange Pikoe</i> . ....	34
<b>Figura 3.3:</b> No lado esquerdo, encontra-se o destilador de Clevenger utilizado na realização da extração dos óleos essenciais. Do lado direito, encontra-se a representação esquemática do destilador de Clevenger. Imagem adaptada de Figueiredo <i>et al.</i> , 2020.....	35
<b>Figura 3.4:</b> Técnica <i>Solid Phase Micro Extraction</i> utilizada para extrair os compostos voláteis. 37	
<b>Figura 3.5:</b> Processo de moagem dos caules de cânhamo. ....	43
<b>Figura 3.6:</b> Processo de moagem das flores de cânhamo.....	47
<b>Figura 4.1:</b> Espectro de absorvância UV-VIS, para o chá verde. ....	51
<b>Figura 4.2:</b> Curva de calibração para o chá verde.....	52
<b>Figura 4.3:</b> Etapas realizadas para a obtenção das fibras de cânhamo. ....	58
<b>Figura 4.4:</b> Fibras resultantes dos caules cortados (à esquerda) e moídos (à direita). ....	60

<b>Figura 4.5:</b> Imagens das fibras de cânhamo obtidas por microscopia ótica. ....	61
<b>Figura 4.6:</b> Comprimento médio pesado em comprimento das fibras de cânhamos com os respectivos desvios padrão. ....	63
<b>Figura 4.7:</b> Grau de fibrilação das fibras de cânhamo. ....	63
<b>Figura 4.8:</b> Distribuição das fibras cortadas obtidas por 1M de NaOH. ....	64
<b>Figura 4.9:</b> Distribuição das fibras moídas obtidas por 1M de NaOH. ....	65
<b>Figura 4.10:</b> Distribuição das fibras obtidas a partir da amostra moída utilizando maior concentração de NaOH. ....	66
<b>Figura 4.11:</b> Processos de obtenção das fibras de cânhamo. ....	67
<b>Figura 4.12:</b> Fibras obtidas pelos caules cortados primários (NaOH 1M), à esquerda, e secundários (NaOH 0,5 M), à direita. ....	69
<b>Figura 4.13:</b> Imagens de microscopia ótica das fibras de cânhamo tipo 2, proveniente dos caules cortados a) primários ampliadas 40x, e b) secundários amplificadas 100x (NaOH 1M). ....	70
<b>Figura 4.14:</b> Imagens SEM obtidas a partir das fibras de cânhamo sujeitas a ampliações de 50x (a) e 500x (b). ....	71
<b>Figura 4.15:</b> Análise microscópica das fibras <i>hardwood</i> com o aumento da refinação. ....	72
<b>Figura 4.16:</b> Análise microscópica das fibras <i>softwood</i> com o aumento da refinação. ....	72
<b>Figura 4.17:</b> Comprimento médio das fibras de celulose de <i>hardwood</i> (HW), <i>softwood</i> (SW) sob tratamento mecânico a 1000, 3000, 6000, e 12000 revoluções. ....	73
<b>Figura 4.18:</b> Percentagem de fibras consoante o intervalo de comprimento e largura para a fibra de <i>hardwood</i> a) sem refinação e b) refinada a 6000 revoluções. ....	74
<b>Figura 4.19:</b> Percentagem de fibras consoante o intervalo de comprimento e largura para a fibra de <i>softwood</i> a) sem refinação e b) refinada a 6000 revoluções. ....	75
<b>Figura 4.20:</b> Grau de fibrilação das fibras de <i>hardwood</i> (HW), <i>softwood</i> (SW) sob refinação a 1000, 3000, 6000, e 12000 revoluções. ....	76
<b>Figura 4.21:</b> Evolução da porosidade à medida que grau de refinação das fibras aumenta. ....	79
<b>Figura 4.22:</b> Índice de tração das estruturas fibrosas. ....	80
<b>Figura 4.23:</b> Módulos de Elasticidade das estruturas fibrosas. ....	81

<b>Figura 4.24:</b> Espectro FTIR-ATR da folha obtida a partir da pasta de <i>hardwood</i> branqueada.	82
<b>Figura 4.25:</b> Espectro FTIR-ATR da folha produzida a partir da pasta de <i>softwood</i> não branqueada. ....	82
<b>Figura 4.26:</b> Fibras de PI no microscópio ótico, com 40x (esquerda) e 100x (direita) de ampliação. ....	84
<b>Figura 4.27:</b> Estruturas obtidas a partir das fibras de PI e misturas com as fibras de cânhamo. a) PI_60; b) 99:1_PI:HP; c) 90:10_PI:HP e d) 90:10_PI:HP_1000. ....	87
<b>Figura 4.28:</b> Solução de chá verde e cânabis. ....	89
<b>Figura 4.29:</b> Estrutura fibrosa obtida antes (à esquerda) e após (à direita) a impregnação com as moléculas ativas do chá. ....	90
<b>Figura 4.30:</b> Análise da cor predominante das estruturas no sistema CIELab. ....	91
<b>Figura 4.31:</b> Espectro da análise por EDX da amostra de papel <i>tissue</i> impregnada com chá verde e de cânabis. ....	92
<b>Figura 4.32:</b> Retenção das moléculas do hidrolato na micro/nanocelulose. ....	93
<b>Figura 4.33:</b> Imagens SEM obtidas a partir das fibras de micro/nanocelulose sujeitas a ampliações de 500 vezes. ....	94
<b>Figura 4.34:</b> Imagens SEM obtidas a partir da análise da espessura do DDS produzido de micro/nanocelulose sujeitas a ampliações de 50 vezes em a) e 500 vezes em b). ....	95
<b>Figura 4.35:</b> Esquematização da implementação das simulações em MATLAB para as fibras de eucalipto sem refinação. ....	97
<b>Figura 4.36:</b> Esquematização das simulações das fibras de <i>softwood</i> sem refinação. ....	98
<b>Figura 4.37:</b> Simulação da estrutura de fibras de cânhamo. ....	99
<b>Figura 4.38:</b> Esquematização da simulação da mistura das fibras de cânhamo e <i>hardwood</i> . ...	99
<b>Figura 4.39:</b> Simulação da estrutura composta pelas fibras de cânhamo, <i>hardwood</i> e micro/nanocelulose como aditivo. ....	100



# Lista de Tabelas

<b>Tabela 2.1:</b> Composição dos diferentes chás de <i>Camellia sinensis</i> L. (Adaptado de Adnan <i>et al.</i> , 2013; Teshome, 2019).....	9
<b>Tabela 2.2:</b> Composição química dos principais constituintes do cânhamo com base em diversos autores. ....	17
<b>Tabela 3.1:</b> Tipos de chá utilizados, dados de fabricação e respetiva sigla adotada.....	30
<b>Tabela 3.2:</b> Teor de matéria seca do chá. ....	34
<b>Tabela 3.3:</b> Temperatura das respetivas divisões dentro dos aparelhos utilizados.....	38
<b>Tabela 3.4:</b> Teor de matéria seca e de humidade da pasta a caracterizar. ....	39
<b>Tabela 3.5:</b> Refinações aplicadas e respetiva sigla de identificação.....	40
<b>Tabela 3.6:</b> Condições reacionais e composição do licor de cozimento. ....	44
<b>Tabela 3.7:</b> Composição e siglas das estruturas produzidas contendo fibras de cânhamo. ....	45
<b>Tabela 3.8:</b> Características de utilização do FTIR-ATR. ....	45
<b>Tabela 4.1:</b> Compostos maioritários obtidos a partir da análise do extrato do chá verde. ....	52
<b>Tabela 4.2:</b> Compostos maioritários obtidos a partir da análise dos voláteis presentes no chá verde a 50°C.....	53
<b>Tabela 4.3:</b> Compostos principais obtidos na análise do óleo essencial de cânabis e mentrastos. 55	
<b>Tabela 4.4:</b> Compostos principais obtidos na análise do hidrolato da cânabis e mentrastos. ....	56
<b>Tabela 4.5:</b> Compostos principais obtidos na análise do óleo essencial proveniente da cânabis. 57	
<b>Tabela 4.6:</b> Rendimentos obtidos na produção das fibras de cânhamo. ....	59
<b>Tabela 4.7:</b> Propriedades físicas e morfológicas das fibras de cânhamo (HF) cortadas (Cort) e moídas (Moí). ....	62
<b>Tabela 4.8:</b> Rendimentos obtidos para os caules de cânhamo cortados. ....	68

<b>Tabela 4.9:</b> Rendimentos obtidos para os caules de cânhamo moídos. ....	68
<b>Tabela 4.10:</b> Grau Schopper-Riegler das pastas sujeitas a diferentes refinações. ....	77
<b>Tabela 4.11:</b> Propriedades morfológicas do PI e das fibras cânhamo. ....	84
<b>Tabela 4.12:</b> Características físicas e óticas das estruturas produzidas pelo papel industrial. ..	86
<b>Tabela 4.13:</b> Propriedades mecânicas das estruturas de PI e cânhamo. ....	88
<b>Tabela 4.14:</b> Coordenadas das amostras e os respectivos desvio padrão. ....	91
<b>Tabela 4.15:</b> – Conversão do comprimento médio ponderado em comprimento ( $\mu\text{m}$ ) em voxéis para as fibras de <i>hardwood</i> (HW), <i>softwood</i> (SW), cânhamo tipo 1 (HP) e micro/nanocelulose (HW_MT_12000). ....	96



# Lista de Acrónimos

°SR	Schopper Riegler
2D	Duas Dimensões
3D	Três Dimensões
CBD	Canabidiol
CIE	<i>International Commission on Illumination</i>
CNC	<i>Cellulose nanocrystals</i> (Nanocelulose Cristalina)
DDS	<i>Drug Delivery Systems</i> (Sistemas de entrega de fármacos)
EDX	Espectroscopia de raio-X por dispersão em energia
EO	<i>Essential Oil</i> (Óleo Essencial)
FTIR-ATR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy with Attenuated Total Reflection</i> (Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier acoplada à Técnica de Reflexão Total Atenuada)
GC-MS	<i>Gas Chromatography–Mass Spectrometry</i> (Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa)
HP	<i>Hemp Fibers</i> (Fibras de Cânhamo)
HS-SPME	Headspace Solid-Phase Microextraction (microextração de fase sólida em <i>headspace</i> )

HW	<i>Hardwood</i>
IR	Índice de Retenção
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
MC	Microcelulose
NC	Nanocelulose
NFC	<i>Nanofibrillated Cellulose</i> (Celulose nanofibrilada)
PI	Papel tipo <i>tissue</i> industrial
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i> (Microscopia Eletrónica de Varrimento)
SW	<i>Softwood</i>
THC	Tetrahidrocanabinol
TMS	Teor de Matéria Seca
TPC	<i>Total Phenolic Compounds</i> (Compostos Fenólicos Totais)



# **Capítulo I**

## **Introdução**

## 1. Introdução

Este trabalho propõe-se desenvolver sistemas para aplicação de moléculas ativas em consonância com objetivos de circularidade e de desenvolvimento de formulações da empresa Canna Forest Lda., sediada no Fundão. Para o efeito selecionaram-se várias fibras vegetais, e plantas que pelas suas características apresentam moléculas ativas com interesse para as formulações em estudo, entre as quais *a Camellia sinensis L.*, *a Cannabis sativa L.*, e *a Ageratum conyzoides L.*

A *Cannabis sativa L.*, uma planta anual, extremamente rentável devido aos seus compostos bioativos, em especial o tetrahydrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD), têm sido alvo de diversos estudos nos dias atuais a fim de obter e avaliar as propriedades destes compostos e das suas fibras de celulose, denominadas de cânhamo. Estas fibras apresentam maior comprimento e resistência em comparação às fibras provenientes de *Eucalyptus globulus*, que dominam o mercado atualmente. O cultivo de cânhamo, apresenta-se como uma alternativa sustentável a outras fibras tais como, o linho e o algodão pela redução do consumo de água, uma plantação livre de pesticidas, a sua resistência e o impacto sobre o solo cultivado. A extração das fibras, surge como uma proposta empresarial mais amiga do ambiente, beneficiando de uma economia circular através da diminuição dos recursos e resíduos agrícolas.(Ahmed *et al.*, 2022).

A *Camellia sinensis L.* é uma planta mundialmente conhecida e utilizada para a produção de diversos tipos de chá. Os seus compostos, vitaminas, minerais e antioxidantes, são os principais responsáveis por conferir as suas características organolépticas, e as suas propriedades de interesse medicinal (Namita *et al.*, 2012). Em Portugal, a mais antiga e maior produção de *C. sinensis L.* encontra-se no arquipélago dos Açores, na fábrica da Gorreana, fundada em 1883. Empresa cujos valores passam por uma agricultura sustentável e biológica, isenta de pesticidas de origem química.

O desenvolvimento de estruturas de retenção e de entrega controlada de fármacos (DDS – *Drug Delivery Systems*) inovadoras de base celulósica têm como principal objetivo, substituir os sistemas atuais provenientes de fontes fósseis não renováveis, vulgarmente designados por “plásticos”. Estudos recentes, mostram o potencial de investigação destes sistemas de entrega de fármacos de base celulósica, como uma alternativa sustentável, biodegradável e biocompatível, cujas propriedades enfatizam o seu potencial como DDS (Dai & Si, 2019; Ribeiro *et al.*, 2018).

## 1.1. Motivação

A investigação de fibras de cânhamo, teve um crescimento exponencial nos últimos anos, como é verificado no número de artigos publicados recentemente sobre a extração, caracterização e aplicação destas fibras (Figura 1.1).



**Figura 1.1:** Artigos publicados em revista sobre fibras de cânhamo. Fonte: Scopus.

Os estudos atuais de aplicações de fibras de cânhamo englobam, na sua maioria, a produção de reforços e compósitos, validando a potencialidade das propriedades mecânicas presentes neste material. Possibilitando a abertura de uma nova gama de aplicações nos DDS, que explorem tais características e aumentem a eficiência da entrega dos compostos ativos.

A temática sustentável provocou nos já consolidados sistemas de entrega de fármacos, um deslocamento do interesse científico e empresarial para o uso de matrizes ambientalmente amigáveis, provenientes de fontes renováveis, como biopolímeros. Neste cenário, dá-se destaque aos materiais a base de quitosanas, pectina, alginato, lenhina e celulose (nano e micro).

Este trabalho, pretende contribuir para o desenvolvimento de matrizes de base celulósica para potencializar o *design* de novos DDS cujos compostos ativos, serão utilizados para produção de formulações com valor acrescentado e interesse comercial.

A combinação de várias plantas, como o chá verde da Gorreana, o resíduo proveniente da extração dos óleos essenciais da canábida e a flor de *C. sativa*, são possíveis abordagens para a potencialização de determinadas propriedades de interesse e para uma valorização económica.

O uso de fibras de cânhamo, provenientes de resíduos pós-cultivo, insere os desenvolvimentos deste trabalho numa perspetiva sustentável, contribuindo para a economia circular.

## **1.2. Objetivos**

A partir do presente trabalho, o desafio encontra-se na otimização dos DDS obtidos de base celulósica, como uma forma de maximizar o seu valor agregado, e promover uma maior retenção dos compostos de interesse caracterizados. Para o desenvolvimento deste estudo, consideram-se os objetivos principais:

- Desenvolver sistemas de entrega de fármacos de aplicações dérmicas otimizados a partir de fibras de base celulósica;
- Obtenção por hidrodestilação, e caracterizar por GC-MS, o óleo essencial de canábida e mentrastos, bem como o resíduo aquoso proveniente da sua extração;
- Caracterização dos compostos presentes no chá verde da Gorreana, utilizando GC-MS;
- Reter os componentes ativos presentes na canábida e no chá da Gorreana, nas matrizes celulósicas desenvolvidas.

## **Capítulo II**

# **Revisão Bibliográfica**

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Compostos Ativos

#### 2.1.1. Chá da Gorreana

A fábrica de chá da Gorreana, localizada na ilha de São Miguel, Açores, é a maior e mais antiga plantação de chás da Europa. A empresa dedica-se exclusivamente à produção do chá 100% orgânico desde 1883 (Gorreana, 2015).

O chá é a segunda bebida mais consumida no mundo, perdendo a primeira posição apenas para a água. O chá da Gorreana, deriva da planta *Camellia sinensis* L., uma pequena árvore que pertence a família das *Theaceae*. A partir de diferentes processos, as folhas irão dar origem a três tipos principais de chá: o chá verde, preto e oolong, de acordo com a maturação das folhas. Dentre eles, destaca-se o chá verde, distinto dos restantes devido ao seu processo de secagem e oxidação. O chá preto, *Orange Piko*, corresponde à de maior qualidade, é produzido a partir da primeira folha e do broto terminal da planta, sendo este extremamente suave e aromático. O *Piko*, por sua vez, obtido a partir da segunda folha, apresenta um aroma e sabor menos pronunciado que o *Orange Piko* (Gorreana, 2015). A Figura 2.1 apresenta as divisões da planta que originam cada tipo de chá.

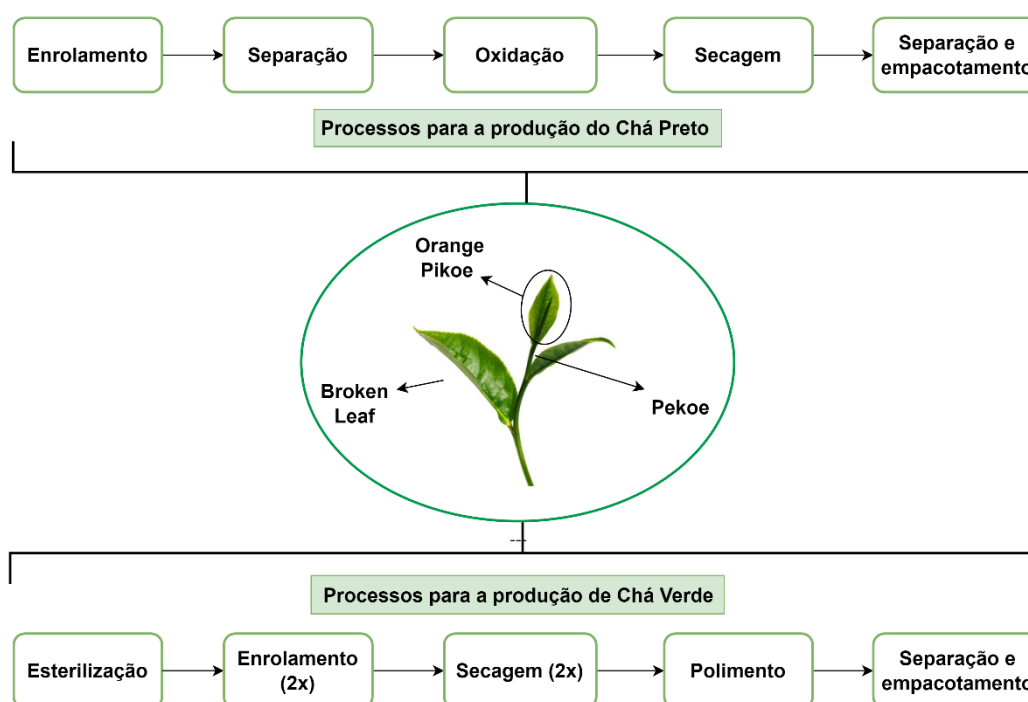
O chá verde é um chá que não sofreu um processo fermentativo, possui mais catequinas que o chá preto e *oolong*. As catequinas são polifenóis, antioxidantes fortes *in vitro* e *in vivo* e para além disso possuem várias vitaminas e minerais que aumentam o seu potencial antioxidante e antiviral. (Namita *et al.*, 2012). Os polifenóis, presentes no chá, regulam a síndrome metabólica e proporcionam vários benefícios para a saúde, principalmente contra doenças, entre elas a obesidade e a diabetes tipo 2 (Zhang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019).

A cafeína é um dos principais compostos ativo presente no chá, possuindo efeitos estimulantes, sendo um excelente diurético natural. Em contrapartida, estudos realizados mostram, que a cafeína presente no chá possui um menor risco sobre a hipertensão em comparação com o café. Outras análises, afirmam que o chá contribui para a diminuição da tensão arterial através da inibição da acumulação de plaquetas no sangue (Zhang *et al.*, 2019).

### 2.1.1.1. Processo de fabrico

A colheita das folhas e seus rebentos ocorre no estágio de maturação em que a planta possui três folhas, como está representado na Figura 2.1. Cada uma das folhas apresenta características únicas que irá levar à produção de diferentes chás. A separação das folhas ocorre consoante a sua dimensão após a etapa de enrolamento, nas quais as folhas são ligeiramente esmagadas. A primeira e menor folha é caracterizada por possuir um aroma mais suave e aromático, a segunda apresenta uma dimensão ligeiramente maior e possui um sabor mais intenso, e as folhas de maior dimensão são denominadas terceira folha, e são utilizadas para a produção do chá preto *Broken Leaf*, com aroma mais leve e pobre em cafeína (Gorreana, 2015).

Após a separação, as folhas são naturalmente oxidadas ao ar e secas, posteriormente são sujeitas a um processo de seleção manual e o respetivo empacotamento a fim de evitar quaisquer contaminantes.



**Figura 2.1:** Diagrama de produção do chá a partir da *Camellia sinensis* L..

Na produção do chá verde, todavia, tal separação não ocorre. Depois da colheita, as folhas são sujeitas a uma esterilização com vapor de água, inibindo a sua oxidação, conservando a sua cor

verde predominante. Posteriormente, as folhas passam pelo enrolamento, também conhecido como método de Hysson. Os processos de enrolamento e secagem são realizados duas vezes, em série, obtendo assim um chá rico em polifenóis de efeito antioxidante (Gorreana, 2015).

#### **2.1.1.2. Composição do chá da *Camellia sinensis* L.**

A composição do chá é bastante complexa, os seus principais compostos biologicamente ativos são os polifenóis, caracterizados pelo seu efeito antioxidante, antimutagênicos e anticarcinogênicos. Dentro dos polifenóis, os predominantes no chá preto são as teaflavinas, agentes antioxidantes e as arubiginas, responsável pela coloração avermelhada. No chá verde, o fitonutriente predominante são as catequinas, pertencente à família dos polifenóis, trata-se de um antioxidante e as suas percentagens estão representadas na Tabela 2.1. O chá também é rico em alcaloides, aminoácidos, compostos voláteis, minerais e cafeína (Reto *et al.*, 2007). Os teores dos seus compostos estão sujeitos a variações dependendo do local do seu cultivo, métodos utilizados durante o seu crescimento, altitude, estado de maturação, dentre outros fatores.

Adnan *et al.*, 2013, caracterizou diversas amostras de chá verde e preto provenientes da planta *Camellia sinensis* L., adquirindo um maior teor de proteína bruta, fibra bruta e gordura no chá verde em comparação com os valores obtidos para o chá preto, devido à ausência do processo fermentativo. Por outro lado, o chá preto apresentou um maior teor de cinzas, causado pelo menor teor de humidade, sendo este um parâmetro importante para a identificação de adulterações na sua comercialização.

A cafeína é um dos principais compostos associados ao chá devido a coloração obtida nas infusões. O teor de cafeína obtido nos diferentes chás analisados, variou entre 3,80-4,24% nas amostras de chá verde e 2,34-4,33% no chá preto, sendo de um modo geral superior no chá verde (Adnan *et al.*, 2013). A utilização de folhas mais jovens está diretamente ligada à quantidade do composto identificada, tendo o broto e a primeira folha quantidades que variam dos 3,42% aos 3,89% (Teshome, 2019).

**Tabela 2.1:** Composição dos diferentes chás de *Camellia sinensis* L. (Adaptado de Adnan *et al.*, 2013; Teshome, 2019).

Compostos presentes (%)	Chá Preto			Chá Verde
	Primeira folha e Broto	Segunda folha e Broto	Terceira Folha e Broto	
Teaflavinas	33,43	34,71	29,99	-
Arubiginas	12,93	17,81	18,19	-
Catequinas	0,45			6,2
Fibra Bruta	8,12	10,22	13,68	16,16
Cinzas totais	6,78	6,1	6,38	3,37
Cafeína	3,42	2,11	1,56	3,98

Diversos minerais foram identificados no chá verde, sendo o principal deles o potássio e o sódio. Estudos recentes determinaram que uma razão potássio/sódio maior ou igual a 1 é importante para controlar a pressão arterial. No chá, o teor de potássio apresenta-se em cerca de duas a três vezes mais que sódio, o que indica que seu consumo irá contribuir para a diminuição da pressão arterial (Reto *et al.*, 2007).

#### 2.1.1.2.1. Cafeína

A cafeína conhecida pelo nome IUPAC 1,3,7-Trimetilpurino-2,6-dieno, com a sua estrutura molecular representada na Figura 2.2, junto dos principais produtos e frutos que contêm cafeína. Dos 50000 metabólitos secundários conhecidos cerca de 12000 são alcalóides. A cafeína é um alcalóide purínico que se encontra em mais de 60 espécies de plantas diferentes, dentro delas o chá (Mohanpuria *et al.*, 2010). A cafeína faz parte de um dos compostos responsáveis pela defesa da planta contra patógenos invasores, como insetos, bactérias, fungos e vírus, estando presente nas folhas do chá.

Para nós, seres humanos, a cafeína atua como estimulante, devido a sua semelhança química com a adenina, que bloqueia os recetores de adenosina nas células nervosas. É a molécula ativa mais utilizada no mundo, sendo consumida por cerca de 80% da população mundial. O excesso de cafeína, por sua vez, também trás efeitos adversos para o ser humano, dentre eles a ansiedade, aumento da tensão arterial e insónias (Mohanpuria *et al.*, 2010). Estudos indicam que a cafeína presente no chá de *Camellia sinensis* L. possui uma absorção mais lenta, atingindo o pico de

absorção 50 minutos após o consumo, e, por isso, espera-se que os efeitos agudos sejam inferiores (Camfield *et al.*, 2014).



**Figura 2.2:** Principais frutos e produtos que contêm cafeína (Adaptado de Rodak *et al.*, 2021).

Im *et al.*, 2021 estudou a utilização da cafeína em aplicações dérmicas líquidas e sólidas a diferentes taxas de absorção, que variam de 5-50 mg/cm<sup>2</sup>. Segundo os resultados, observa-se a saturação da pele ao utilizar uma concentração elevada de cafeína, diminuindo assim a taxa de absorção do local da aplicação, deste modo, sugere-se uma utilização de 5-10 mg/cm<sup>2</sup>, a fim de obter a maior taxa de absorção possível. É de se esperar que outras moléculas apresentem o mesmo comportamento, tendo sua absorção limitada pelo recetor, levando assim a uma taxa constante de absorção que independe da quantidade de substância aplicada.

### 2.1.2. Óleo essencial (EO)

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de compostos de baixo peso molecular que possuem inúmeras aplicações na área da alimentação, cosmética e até mesmo fitoterápica, sendo responsáveis pelo sabor e aroma em bebidas, alimentos, perfumes, e artigos de beleza e cuidados

peçoais (Gao *et al.*, 2017). Estima-se que cerca de três mil óleos essenciais são extraídos de vinte mil plantas distintas, possuindo 300 deles elevado valor económico agregado, atingindo uma produção anual de 40 a 60 mil toneladas (Gao *et al.*, 2017).

Existem alguns autores que referem vários métodos de extração de óleos essenciais. No entanto, outros apenas consideram o método de hidrodestilação como forma de obter óleos essenciais (Norastehnia & Ghorbani, 2013; Rehman *et al.*, 2008). Os óleos essenciais de canábис possuem, principalmente terpenos/terpenoides. Durante o processo de extração, apesar da maioria dos constituintes permanecer intacta, é preciso ter em conta que alguns monoterpenos podem sofrer alterações ou até mesmo serem perdidos devido ao processo aplicado (Sommano *et al.*, 2020).

### **2.1.3. *Cannabis sativa* L.**

A *Cannabis sativa* L. trata-se de uma planta hermafrodita, herbácea anual cultivada desde os tempos ancestrais e acredita-se que a sua origem ocorreu no sudoeste e centro de Ásia contribuindo assim para a evolução desta região (Bonini *et al.*, 2018). Esta planta divide-se principalmente em duas categorias. O cânhamo, parte estrutural composta pelo caule da planta, com baixo ou até mesmo nenhum teor de THC, o que contribui para a sua plantação e utilização industrial (Shahzad, 2012). A outra categoria trata-se da marijuana, caracterizada pelos seus compostos ativos, possuindo mais de cem fitoquímicos, dentro deles canabinóides, terpenos e compostos fenólicos presentes na planta (Bonini *et al.*, 2018). Dentre os compostos ativos estão o tetrahydrocannabinol (THC), o maior e único biocomposto ativo tóxico, e o canabidiol (CBD) o composto não psicoativo de interesse (Hazekamp *et al.*, 2007).

O género *Cannabis* divide-se principalmente em três espécies a *C. sativa*, *C. indica* e a *C. ruderalis* distinguindo-se pelas moléculas ativas presentes, sendo característico da *C. sativa* o baixo teor de THC, enquanto um alto teor de THC é observado na *C. indica* (Aliferis & Bernard-Perron, 2020). Segundo alguns autores, o nome de cada espécie provem da região de origem da mesma, sendo a *C. sativa* de origem europeia, a *C. indica* proveniente do sul da Ásia (Índia) e África, e a *C. ruderalis* originada na Ásia central (Micalizzi *et al.*, 2021).

Atualmente segundo a legislação, o cultivo de canábис é apenas permitido para fim medicinais e investigação científica. Embora exista toda uma controvérsia a cerca dos benefícios da canábис, estima-se um total de 263 milhões de consumidores em todo o mundo, gerando um mercado de

\$344 bilhões USD em 2019 (Micalizzi *et al.*, 2021), cujo crescimento exponencial tem sido observado ao longo das últimas décadas.

A legalização da canábis para uso medicinal continua em discussão, principalmente em países como os Estados Unidos e Canadá, registrando resultados positivos em determinadas zonas. Atualmente, existem inúmeras formas de produtos de valor acrescentado a partir da canábis, como mistura de bebidas quentes e chocolates, óleos, dermocosméticos, dentre outros. Para além disso, muitos estudos tendem a ser realizados a fim de avaliar a fixação e preservação dos canabinóides nos respetivos produtos alimentares (Rasera *et al.*, 2021).

#### **2.1.3.1 Composição da planta**

Nas últimas décadas, o canabidiol (CBD) tem sido alvo de diversos estudos devido as suas propriedades terapêuticas, dentro deles a diminuição da ansiedade, e a promoção do relaxamento. A concentração do CBD na canábis varia atingindo o valor máximo de 8590 µg/g nas flores (Motiejauskaitė *et al.*, 2023). O óleo essencial proveniente do cânhamo é rico em CBD alcançando os 52% (Zheljazkov *et al.*, 2020).

Os terpenos também possuem um papel importante dentro dos constituintes da canábis. Foram detetados mais de 120 terpenos, nos quais, os monoterpenos são os predominantes. Sua concentração varia consoante o clima do local onde a planta se desenvolveu e a sua idade, a sua quantidade nas folhas varia de 0.125% a 0.278% e de 1.283% até 2.141% nas flores. Os terpenos são conhecidos devido as suas propriedades anticancerígenas e antimicrobianas (Motiejauskaitė *et al.*, 2023), e são também responsáveis pelo odor característico da planta, principalmente os monoterpenos devido a sua alta volatilidade.

Outros compostos biologicamente ativos presentes na canábis são os polifenóis, em especial os flavonoides e os ácidos fenólicos, possuindo ações antimicrobianas e antioxidantes (Radwan *et al.*, 2009). Os flavonoides correspondem a cerca de 80% de todos os polifenóis presentes na canábis, com concentrações de 222,7 até 454,0 mg/kg (Motiejauskaitė *et al.*, 2023).

#### **2.1.4. *Ageratum conyzoides* L.**

O *Ageratum conyzoides* L., comumente conhecidos como mentrastos, é uma planta nativa da América com adaptação em diversas condições ambientais, estabelecendo-se em várias regiões do mundo (Castro *et al.*, 2004). Em Portugal, é considerada uma planta invasora largamente

disseminada, afetando principalmente lavouras anuais. A seleção desta planta para este trabalho deve-se ao facto de crescer facilmente nas regiões da beira interior, mesmo com temperaturas extremamente baixas, para além disso tem um odor agradável. Este odor agradável, trará valor positivo para a mistura com um óleo de *Cannabis sativa*, uma vez que os terpenos libertados pela planta podem não ser agradáveis a todos. Segundo Castro *et al.*, 2004, os compostos químicos predominantes do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L. são os cromenos (precoceno I e precoceno II), moléculas com propriedades inseticidas, e os alcaloides pirrolizidínicos. Este óleo, apresenta também propriedades analgésicas e anti-inflamatórias.

## 2.2. Materiais lenhocelulósicos

Os materiais lenhocelulósicos incluem aqueles de base vegetal, como a madeira e o cânhamo, e resíduos agrícolas e florestais diversos. São compostos por principalmente três polímeros a celulose, a hemicelulose e a lenhina. Estes três apresentam estruturas completamente diferentes, a celulose é um homopolímero da glucose, a lenhina é um polímero complexo de fenilpropano, altamente resistente dificultando assim a sua degradação (Sahay, 2022).

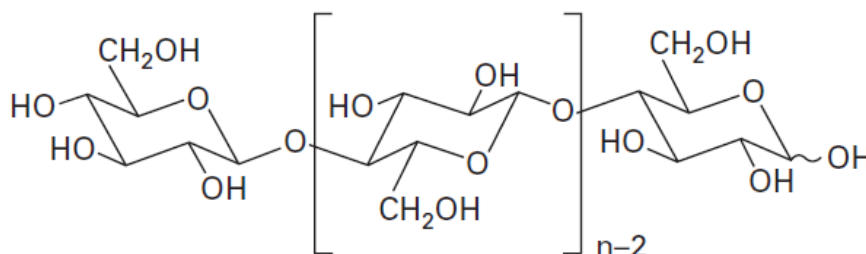
A celulose compõe a estrutura da parede celular vegetal, isto é, as cadeias de celulose encontram-se alinhadas entre si, levando à formação de estruturas mais complexas conhecidas por microfibrilas, altamente organizadas. A hemicelulose fornece matriz à estrutura celulósica, atuando como um agente ligante entre as microfibrilas. A lenhina, por sua vez, confere rigidez, contribuindo para o reforço e impermeabilidade da parede celular (Baucher *et al.*, 2003).

Existem diversos processos de isolamento da celulose a partir de materiais lenho celulósicos, recorrendo a elevadas temperaturas e pressões, frequentemente associados a tratamentos químicos como hidrólise ácida e cozimento kraft, ou seja tratamentos termoquímicos (Dotan, 2014).

### 2.2.1. Celulose

A celulose é o biopolímero mais abundante presentes na Terra. Composta por D- glicopiranosose ( $C_6H_{11}O_5$ ), possui ligações glicosídicas do tipo  $\beta(1\rightarrow4)$  formando a celobiose, com duas unidades de glucose repetitiva (Mariano *et al.*, 2014). A celulose (Figura 2.3) possui grupos funcionais hidroxilo responsáveis por interações de hidrogénio inter e intramoleculares. Além disso, a formação de uma rede de ligações do tipo Van der Waals entre as camadas da estrutura

contribuiu para a compactação da estrutura cristalina, que interfere diretamente com as propriedades mecânicas da celulose (Mariano *et al.*, 2014).



**Figura 2.3:** Representação da estrutura molecular da cadeia de celulose (Retidado de Ciechańska *et al.*, 2009).

A estrutura supramolecular da celulose pode ser encontrada em duas formas distintas, em zonas amorfas em que a estrutura se encontra pouco ordenada e zonas cristalinas, onde a geometria e conformação das cadeias de modo organizado se devem, principalmente, às ligações de hidrogénio inter e intramoleculares estabelecidas. A estrutura cristalina da celulose é classificada por quatro tipos: I, II, III e IV, os dois primeiros encontram-se em plantas e diferem um do outro devido à disposição das cadeiras, paralelas para o tipo I, e antiparalelas para o tipo II, tendo o tipo I as melhores propriedades mecânicas (Phanthong *et al.*, 2018).

O isolamento ou extração da celulose dá-se por diversas técnicas de acordo com a origem da biomassa e o objetivo final de aplicação (Phanthong *et al.*, 2018). Estes processos são também conhecidos como processo de deslenhificação e branqueamento. As fibrilas encontram-se ligadas entre si pela lenhina formando uma estrutura compacta. Para as separar, são frequentemente utilizados processos físicos e químicos para formar a pasta celulósica, que mais tarde passará por vários processos até ser reduzida à nano-escala.

A nanocelulose obtida terá diferentes estruturas, tamanhos de partículas, cristalinidade e morfologias, dependendo da origem e métodos de extração aplicados para a sua obtenção. A nanocelulose está atualmente dividida em três tipos, nanocristais de celulose, celulose nanofibrilada, e nanocelulose bacteriana. A celulose nanocristalina, também conhecida como nanocristais, é a mais resistente e é obtida principalmente a partir da hidrólise ácida, apresentando diâmetros de 2-20 nm e comprimentos de 100-500 nm (Phanthong *et al.*, 2018;

Sacui *et al.*, 2014). A celulose microfibrilada (MFC), é uma nanocelulose mais longa e flexível, que pode atingir 100 nm de diâmetro e 2000 nm de comprimento, composta de zonas cristalinas e amorfas. Devido à sua elevada área de superfície e distribuição de grupos hidroxilo, esta nanocelulose é mais fácil de modificar (Zambrano *et al.*, 2020).

A nanocelulose tem características únicas que a diferenciam de outros polímeros naturais devido à sua baixa densidade, não toxicidade, biodegradabilidade, morfologia típica, fácil modificação, elevada área de superfície específica (Wulandari *et al.*, 2016), e elevada concentração de grupos ativos disponíveis para modificar a superfície, sendo este material ideal para melhorar as propriedades mecânicas dos nanocompósitos, para proporcionar aplicações específicas e beneficiar o produto final ao qual será implementado (Silva *et al.*, 2020).

### **2.2.2. Hemicelulose**

A hemicelulose corresponde a cerca de 25%-35% dos materiais lenho celulósicos. É uma mistura de polissacarídeos constituída por pentoses (D-xilose e D-arabinose) e hexoses (D-manose, D-glucose e D-galactose). Nas *hardwoods* (ou folhosas) as hemiceluloses são, na sua maioria, compostas por xilanos, enquanto nas *softwoods* (ou coníferas) os compostos predominantes são os glucomananos (Kumar *et al.*, 2008). No cânhamo, o teor de hemicelulose é inferior ao teor médio apresentado pelos materiais lenho celulósicos, apresentando-se em torno de 15% (Shahzad, 2012).

### **2.2.3. Lenhina**

A lenhina é um polímero tridimensional amorfo derivado de unidades fenilpropanóides. Na formação da fibrila, atua como um agente estrutural e de barreira à degradação da celulose e hemicelulose. Corresponde a cerca de 10-25% de todo o material lenho celulósico. Por não possuir açúcares na sua constituição é, em muitos processos e aplicações, considerada um resíduo (Kumar *et al.*, 2008). A remoção da lenhina promovida por processos como o cozimento kraft irá resultar na remoção de parte da hemicelulose presente, uma vez que ambas encontram-se ligadas por ligações covalentes (Putro *et al.*, 2016). Nas plantas anuais como o cânhamo, o seu teor de lenhina varia consoante as condições ambientais, climáticas e diversos outros fatores inerentes ao seu cultivo. Por esse motivo, os valores divergem entre diferentes autores, sendo em média menor de 10% (Shahzad, 2012).

#### 2.2.4. Cânhamo

As fibras de cânhamo são uma das fibras naturais mais antigas, conhecidas desde 8000 A.C. Suas primeiras utilizações foram identificadas na indústria do papel, e datam de 105 D.C. No entanto, esta aplicação diminuiu quando se passou a utilizar outros materiais lenho celulósicos (Ahmed *et al.*, 2022).

A produção de cânhamo está a aumentar exponencialmente ao longo das últimas décadas. O seu cultivo não é permitido quando este possui concentrações superiores a 0,2% de THC na Europa, e 0,3% no Canadá e na China (Oultram *et al.*, 2021). Uma vez que a planta apresente concentrações inferiores, sua produção não pode ser considerada ilegal (Leas, 2021). Estima-se que o cânhamo apresente custos de produção 77% menores que o algodão, a fibra natural mais conhecida no mundo (Ahmed *et al.*, 2022). O crescimento do consumo e de estudos científicos têm contribuído para o conhecimento a cerca dos seus benefícios e propriedades, popularizando-o. Na Europa, a produção anual de cânhamo atingiu 22.000 a 24.000 toneladas de fibras no início da década de 2010 (Zeverte-Rivza, 2015). Os maiores produtores europeus são a França, Alemanha, Reino Unido e Países Baixos.

Atualmente, o potencial e as qualidades do cânhamo são objeto de investigações numa vasta gama de campos científicos. De acordo com, Ahmed *et al.*, 2022, as plantas de cânhamo têm um dos maiores teores de celulose entre outras plantas, aumentando o seu potencial como matéria-prima, particularmente devido ao elevado rendimento das fibras naturais e ao seu rápido crescimento. O recente interesse em utilizar fontes de materiais não-petrolíferos provocou o aumento da procura por materiais biodegradáveis, sustentáveis e recicláveis.

Os principais constituintes do cânhamo são a celulose, hemicelulose, lenhina e pectina. Relativamente aos materiais à base de madeira, uma das vantagens do cânhamo é o elevado teor de celulose (71,7%) e o baixo teor de lenhina, facilitando o processo de extração (Shahzad, 2012). Os caules de cânhamo têm a segunda maior percentagem de celulose e a menor percentagem de lenhina perdendo apenas para o algodão (Ahmed *et al.*, 2022). Na Tabela 2.2, encontram-se representados os teores de celulose, hemicelulose e lenhina obtidos de diversos autores.

**Tabela 2.2:** Composição química dos principais constituintes do cânhamo com base em diversos autores.

Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lenhina (%)	Referência
88,35	4,67	3,46	(Kabir <i>et al.</i> , 2013)
92,58	3,85	2,65	(Kabir <i>et al.</i> , 2013)
74	18	4	(Bolton, 1995)
75,6	10,7	6,6	(Wang <i>et al.</i> , 2007)
76,1	12,3	5,7	(Kostic <i>et al.</i> , 2008)

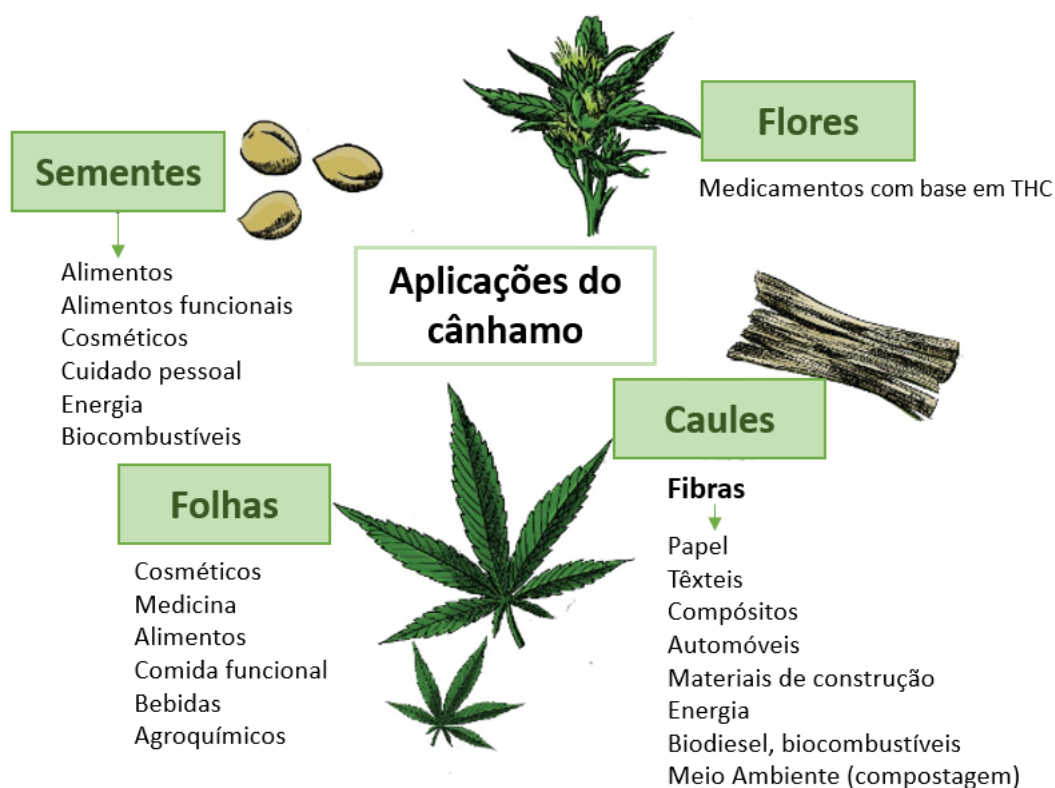
Devido a morfologia privilegiada do cânhamo, o baixo teor de lenhina, os processos de extração das fibras utilizando químicos nocivos convencionais podem ser reduzidos ou substituídos por reagentes com menor efeito sobre o ambiente, além de evitar a degradação da celulose, preservando o teor de  $\alpha$ -celulose (porção não degradada, de maior peso molecular).

Os caules de cânhamo são compostos por fibras longas, que podem atingir o dobro das dimensões das fibras produzidas a partir de materiais lenhosos, como pinho e eucalipto, devido a este fator, a reciclagem do papel produzido a partir de fibras de cânhamo é facilitada. Essa característica confere às fibras resistência mecânica, podendo sofrer tensões de 1100 MPa, sendo este valor superior à maioria das restantes fibras naturais, o que justifica sua ampla utilização em reforços a compósitos (Ahmed *et al.*, 2022).

#### 2.2.4.1. Aplicações das Fibras de Cânhamo

A planta de cânhamo, como um todo, possui alto valor acrescentado, sendo possível desenvolver inúmeros produtos a partir dela, na Figura 2.4 é possível verificar algumas das aplicações dos diferentes constituintes desta planta.

O cânhamo tem sido utilizado para produção de papel há séculos, sendo esta a aplicação mais remota do cânhamo. Recentemente, Barbash *et al.*, 2022 desenvolveu nano-filmes a partir de fibras de cânhamo, utilizando métodos verdes. Os filmes de nanocelulose obtidos possuíam a densidade de 1,56 g/cm<sup>3</sup>, módulo de elasticidade de 66,7 MPa e uma transparência de 87,3%, possuindo um grau de cristalinidade de 87,2%, confirmando as ótimas características da nanocelulose obtida a partir das fibras de cânhamo em comparação a outras matérias-primas.



**Figura 2.4:** Aplicações da planta do cânhamo (Adaptado de Promhuad *et al.*, 2022).

O cânhamo possui os maiores valores de módulo de elasticidade entre todas as fibras naturais devido às suas proporções, tornando as fibras de cânhamo perfeitas para a sua utilização como reforço de compósito (Promhuad *et al.*, 2022). O polipropileno reforçado com fibras de cânhamo é utilizado para substituir polímeros sintéticos como o poliácrlonitrilo-butadieno-estireno em painéis de instrumentos (Promhuad *et al.*, 2022).

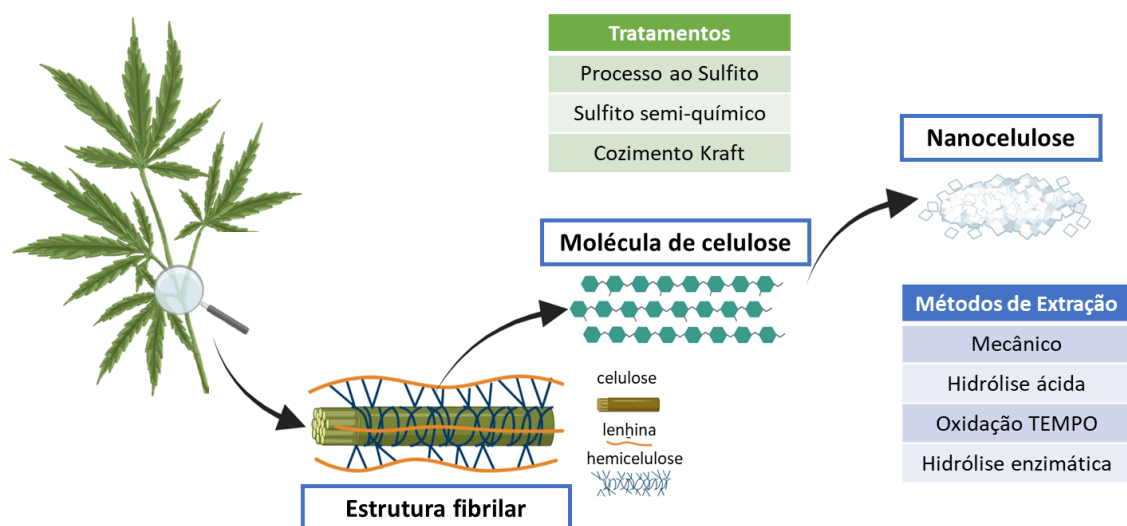
Nos têxteis, as fibras de cânhamo possuem várias vantagens em relação a outras fibras naturais, estas possuem uma rigidez superior, contribuindo para uma menor inflamabilidade, maior resistência á rutura e ao desfibrilamento (Ahmed *et al.*, 2022).

As fibras de cânhamo são por natureza hidrofílicas, e absorvem humidade a uma taxa que pode variar de 5-10%. Este fator irá contribuir para a alteração de suas características mecânicas, e sua modificação dimensional, conferindo uma maior porosidade e deformações na sua estrutura. Contudo, o melhoramento da interface fibra-matriz a partir de promotores de adesão, é possível

diminuir a hidrofiliabilidade. O uso de tratamentos de superfície também pode minimizar este impacto (Shahzad, 2012).

### 2.2.5. Métodos de extração das Fibras de Cânhamo

O isolamento da celulose, composto por processos de remoção da lenhina e branqueamento, por exemplo, é normalmente realizado na indústria para a produção de pasta. Diversas técnicas podem ser utilizadas para remover a lenhina e hemicelulose da madeira com base na origem da matéria-prima e nas propriedades do produto final pretendido (Phanthong *et al.*, 2018). A Figura 2.5 representa alguns dos processos físicos e químicos utilizados para separar os componentes da estrutura fibrilar e formar a pasta, que será posteriormente reduzida à nano-escala.



**Figura 2.5:** Processamento do cânhamo até atingir a nano-escala. Desenvolvido na plataforma BioRender®.

#### 2.2.5.1. Processo ao sulfito

Os métodos ao sulfito são divididos de acordo com o pH do licor de cozimento, que pode ser ácido, ligeiramente ácido, neutro, e básico ou alcalino, cada um dos quais irá mostrar diferenças nas pastas produzidas.

O processo de sulfito ácido é um tratamento que utiliza o ácido sulfuroso ( $H_2SO_3$ ) no licor de cozedura com um intervalo de pH de 1,5-2 a alta temperatura (125-145°C) durante cerca de 7h. Devido às condições ácidas, a pasta obtida tem um baixo teor de hemicelulose. Este método é utilizado principalmente para obter papel *tissue*. O processo com bissulfito utiliza uma solução tampão, mantendo o pH no intervalo de 3-5, tendo uma temperatura de cozedura mais elevada em comparação com o método anterior e tempos de cozedura muito mais curtos (0,25-3h). Este método é utilizado para produzir pastas de qualidade média. Enquanto o método do sulfito alcalino consiste em administrar quantidades equivalentes de hidróxido de sódio e sulfato de sódio no licor de cozimento durante 3 a 5 horas, a temperaturas de 160-180°C. Este método produz pastas semelhantes às obtidas pelo cozimento kraft (Mboowa, 2021).

#### **2.2.5.2. Sulfito semi-químico (NSSC)**

O método do sulfito neutro, conhecido como processo semi-químico do sulfito neutro (NSSC), é denominado semi-químico, tendo um maior rendimento (3-5%) em comparação com os outros métodos. Por tratar-se de um processo menos agressivo à fibra, apresenta menor taxa de remoção de lenhina e a preservação das hemiceluloses. Neste processo, a produção de pasta é feita em 3 fases distintas, a primeira é a impregnação das aparas com sulfito de sódio, seguida do cozimento a 160-190 °C e desintegração utilizando um método mecânico como um refinador (Mboowa, 2021). Devido ao maior teor de lenhina (cerca de 15%), as pastas produzidas são utilizadas sem branqueamento, resultando em produtos com resistências à tração superiores, em comparação com os produtos branqueados. A maior desvantagem deste método é a presença de silicatos, ocorrendo na formação de licor negro durante o cozimento que mais tarde terá de ser submetido a tratamento (Barbash & Yaschenko, 2021).

#### **2.2.5.3. Cozimento Kraft**

A cozimento Kraft é o processo mais comum para a produção de pasta para papel. O licor branco é composto por uma solução de hidróxido de sódio e sulfureto de sódio, que reagirá com as aparas de madeira dentro de um digestor a alta pressão, a uma temperatura de 170°C durante cerca de 2 horas. Neste processo, os iões sulfureto ( $S^{2-}$ ) provocam a clivagem da molécula da lenhina, que posteriormente reage com os iões hidróxido presentes nesta solução formando compostos solúveis em água (Chakar & Ragauskas, 2004) que serão removidos na próxima etapa do processo. Este método, embora amplamente utilizado, conduz a uma perda de 5-20% do teor de celulose da biomassa (Yan *et al.*, 2014).

A remoção da lenhina ocorre em 3 fases distintas durante este processo. A fase inicial, até cerca de 150°C, onde a reação é controlada pela difusão dos íons presentes em solução dentro da estrutura fibrilar. A fase de massa ou “bulk”, que ocorre à medida que a temperatura aumenta de 150°C para 170°C, onde a reação é controlada por reações químicas, onde ocorre a maior remoção da lenhina do tratamento. E a fase final, após cerca de 90% de toda a lenhina ser clivada, esta pode ser removida no licor negro ou na fase de lavagem, onde a lenhina residual é removida (Chakar & Ragauskas, 2004).

Wang *et al.*, 2007 utilizaram o cozimento Kraft para remover todos os compostos não celulósicos do cânhamo. O primeiro passo foi o pré-tratamento utilizando a impregnação, este processo irá alterar a estrutura cristalina da celulose. Na etapa seguinte, o cânhamo foi embebido numa solução de hidróxido de sódio e sulfeto de sódio para iniciar a deslenhinificação. A altas temperaturas, a hemicelulose será degradada, e a lenhina será clivada e dissolvida no licor alcalino, neste estudo foi avaliado um tempo de cozedura de 1 a 5 horas. Finalmente, as fibras são lavadas com água e secas num forno (Phanthong *et al.*, 2018).

#### **2.2.5.4. Branqueamento**

O processo de branqueamento é aplicado para promover a remoção da lenhina residual, ainda presente na pasta após o cozimento. Este processo é dividido em diversas etapas de degradação e extração intercaladas, podendo estas se repetir até atingir a brancura desejada. Na etapa inicial a lenhina é degradada pelo agente oxidante, e os subprodutos dessa degradação são removidos na etapa de extração (Wang *et al.*, 2007). Alguns dos processos, como o uso de dióxido de cloro, embora eficientes e baratos, têm sido discutidos atualmente devido a fatores ambientais, devido a formação de subprodutos tóxicos (Mussatto *et al.*, 2008). Tratamentos livres de cloros totais, como aqueles empregando ozono e peróxido de hidrogénio, são apresentados como alternativas viáveis e eficazes.

É importante que este processo reduza drasticamente o número kappa, que infere sobre o teor de lenhina presente, de acordo com a indústria este número precisa de ser inferior a 17 (Neiva *et al.*, 2015). A aplicação desses processos pode também levar a uma diminuição da viscosidade das fibras e a uma redução do grau de polimerização da celulose, desta forma é importante ajustar os diferentes parâmetros para produzir uma pasta com baixo teor de lenhina mas sem causar a degradação da celulose.

O tratamento de ozono (Z) é realizado num reator acoplado a um gerador de ozono, dois analisadores, e um medidor de caudal. Esta fase funciona com concentrações de ozono de 0,2% a 0,6%, sendo este um poderoso agente oxidante para a lenhina (López, 2003; Shatalov & Pereira, 2008). Antes do tratamento com ozono, as pastas precisam de ser tratadas com ácido oxálico a 20°C durante 30 minutos. As pastas devem possuir 7% de matéria seca e serão tratadas com 4% de ácido oxálico. O tratamento é dado num recipiente rotativo devidamente preparado para o efeito (López, 2003).

O peróxido de hidrogénio (P) é um agente oxidante que ganhou grande importância dentre os processos de branqueamento devido ao interesse por tratamentos na ausência de cloro. Antes da etapa do peróxido, pode ser necessária uma etapa de pré-deslenhinificação com oxigénio e uma decomposição inicial do peróxido em solução alcalina para garantir a formação dos intermediários reativos, como o anião hidroxiperóxido ( $\text{HOO}^-$ ) e radicais ( $\text{OH}\cdot$  e  $\text{O}_2\cdot$ ) que seguirão à degradação da lenhina por reações radicalares em cadeia (Potůček & Milichovský, 2000). O peróxido de hidrogénio é menos específico do que outros químicos e os radicais formados podem resultar na degradação da celulose, no entanto, o oxidante tem uma excelente capacidade de branqueamento (Potůček & Milichovský, 2000; Requejo *et al.*, 2012).

Inicialmente, é necessário ajustar o teor de pasta a 10% com uma solução aquosa de hidróxido de sódio 0,07M misturado com peróxido de hidrogénio a 5% e manter a agitação a 70°C durante 40 minutos. A pasta é separada num funil Buckner, lavada com água destilada, e seca à temperatura ambiente durante 24 horas. Este processo deve ser repetido pelo menos duas vezes (Mussatto *et al.*, 2008).

O processo de extração (E) ocorre em condições alcalinas, utilizando principalmente hidróxido de sódio, por vezes enriquecido com peróxido de hidrogénio. Devido às condições alcalinas da extração, os grupos carbonilo da celulose e hemicelulose são removidos, o que leva a um maior grau de despolimerização (Pouyet *et al.*, 2014).

### **2.2.6. Processos de obtenção de micro/nanocelulose**

Os métodos de obtenção de MC e NC incluem o tratamento químico, oxidativo, mecânico e enzimático das fibras de celulose, sendo a combinação de diversos métodos possível consoante a escala e aplicação pretendida. Os primeiros métodos aplicados para a produção de nanocelulose

foram os métodos mecânicos, recorrendo a pressões elevadas, levavam à rutura das fibras, dando origem à sua microfibrilação (Barbash & Yaschenko, 2021).

#### **2.2.6.1. Processos mecânicos**

Os métodos mecânicos utilizados para a produção de MC/NC incluem homogeneização, moagem, microfluidização, tratamentos ultrassônicos, moagem de esferas e *criocrushing*. Estes métodos são, no entanto, caracterizados por elevados custos energéticos, especialmente o homogeneizador de alta pressão que pode atingir o consumo de 25kW/kg. Para evitar estes custos, as fibras são frequentemente sujeitas a pré-tratamentos com produtos químicos alcalinos e outros oxidantes ou a tratamentos enzimáticos. Esses tratamentos visam alterar, a um certo grau, a estrutura da fibra, tornando-a mais acessível e suscetível aos tratamentos seguintes (Barbash & Yaschenko, 2021).

A refinação é um tratamento mecânico no qual a pasta sofre alterações morfológicas e estruturais causadas por forças de compressão e cisalhamento. Estes métodos provocarão a rutura das fibras, dando origem a fibrilação interna e externa, até atingir a micro/nano-escala.

O refinador PFI mil é um equipamento de refinação mecânica utilizado na pasta de celulose, no qual ocorre rotação de um rolo com barras e simultaneamente a rotação do recipiente onde se encontram as fibras, no mesmo sentido de movimento. A aplicação de cargas proveniente da ação rotacional e o número específico de rotações irá levar a diferentes graus de refinação (de Assis *et al.*, 2019).

A celulose obtida a partir destes métodos é denominada celulose microfibrilada (MFC). Entre os métodos mecânicos, o homogeneizador de alta pressão é o mais recorrente, em que as fibras são submetidas a uma pressão elevada constante até atingirem um diâmetro de 100 nm (Zhou *et al.*, 2021).

#### **2.2.6.2. Hidrolise ácida**

O tratamento com ácido é um dos mais estudados para produzir celulose nanocristalina, que tem o objetivo degradar as zonas amorfas da celulose, clivando as ligações glicosídicas estabelecidas entre as unidades de D-glucose. Diversos ácidos podem ser utilizado, sendo o ácido sulfúrico o mais comum devido à sua eficácia e acessibilidade, uma vez que o ácido clorídrico tem uma capacidade de dispersão limitada no solvente, levando à sua flotação (Mariano *et al.*, 2014). O

ácido sulfúrico reage com os grupos hidroxilo na superfície da celulose através da esterificação para formar ésteres sulfatados, que são carregados negativamente e criam uma camada eletrostática sobre os nanocristais, causando a sua dispersão na água. Esta repulsão eletrostática compromete, contudo, a estabilidade térmica das nanopartículas. Para neutralizar as cargas na superfície das partículas utiliza-se uma base como o hidróxido de sódio (Roman & Winter, 2004; Tang *et al.*, 2022). O tamanho da nanopartícula de celulose será determinado pelo tempo de hidrólise. Normalmente, o ácido sulfúrico a 64% é utilizado durante 30 a 120 minutos a temperaturas elevadas (Zhou *et al.*, 2021).

A fim de encontrar soluções mais ecológicas, estudos têm sido desenvolvidos com ácidos mais fracos e/ou orgânicos, tais como o ácido maleico e oxálico, uma vez que podem ser facilmente recuperados e reutilizados após a produção CNC. Contudo, são necessários tempos de reação mais longos devido ao pKa mais elevado destes ácidos, e podem ser necessárias modificações das fibras para alcançar a mesma eficiência de hidrólise. Assim, o gasto de energia e os custos de produção são mais elevados (Tang *et al.*, 2022).

#### **2.2.6.3. Hidrólise Enzimática**

A hidrólise enzimática é um método que irá reduzir o tamanho das fibras de celulose pela ação de enzimas, como a celulase e a xilanase ou a combinação destas (Morais *et al.*, 2020), que provocam a clivagem da celulose, resultando em frações da molécula de celulose com menor peso molecular (Barbash & Yaschenko, 2021). O tratamento enzimático requer reagentes mais caros e condições de processo restritas, tais como uma temperatura controlada e intervalo de pH, de modo a não desnaturar as enzimas. O método enzimático é frequentemente utilizado como um pré-tratamento para os métodos mecânicos, minimizando os custos de energia necessários para obter a nanocelulose (Zhou *et al.*, 2021). O produto resultante do tratamento enzimático apresenta características distintas, tais como maior maciez, volume de fibra e resistência à tração (Morais *et al.*, 2020).

### **2.3. Desenvolvimento de Aplicações**

#### **2.3.1. Papel *Tissue***

O papel *tissue* possui atualmente um amplo mercado e cada vez mais otimizado de acordo com as necessidades do consumidor. Este tipo de papel é caracterizado pela alta pureza, uma vez que

entra em contato direto com partes sensíveis do corpo humano. Os produtos contribuem para o bem estar, conforto e higiene das populações, entre estes os mais conhecidos estão o papel higiênico, guardanapos e máscaras faciais e dérmicas (Costa Vieira *et al.*, 2023)

O papel *tissue* trata-se de uma matriz 3D constituída por fibras de celulose, podendo estas serem virgens ou recicladas. Os *tissues* são produzidos a partir de fibras curtas, obtidas quase sem refinação, uma vez que a refinação aumenta a rigidez e resistência do papel, perdendo assim a suavidade (Foelkel, 2009). Este tipo de papel é constituído principalmente por fibras de eucalipto devido a sua dimensão, adquirindo assim uma sensação de maciez e suavidade. As fibras de pinho, mais longas em comparação às de eucalipto, irão caracterizar uma maior rugosidade ao papel.

De acordo com a aplicação, é necessário utilizar uma mistura de fibras curtas e longas ou micro/nanocelulose, uma vez que estas fibras irão contribuir para uma estrutura mais resistente. Um estudo de Morais *et al.*, 2021 indica que a aplicação de até 1% de fibras longas ou micro/nanocelulose não irá comprometer a suavidade do papel, conseguindo duplicar o módulo de elasticidade do material.

### **2.3.2. Materiais Multi-Estruturados**

Após a obtenção e caracterização das fibras, estas serão projetadas para o desenvolvimento de materiais multicamadas capazes de reter e libertar controladamente as moléculas ativas presentes no óleo e chá caracterizado, para aplicações dérmicas (Nicu *et al.*, 2021). Deste modo, é necessário entender quais as características necessárias para cada camada de material e qual as fibras predominantes de cada secção do *tissue*.

A camada em contacto com a pele necessita de uma suavidade superior (Morais *et al.*, 2021), sendo também necessário possuir uma elevada porosidade para conduzir as moléculas ativas até a zona de libertação, no caso, a pele. A camada responsável pela retenção dos componentes irá ser desenvolvida utilizando uma combinação de *hardwood* (HW) com fibras de cannabis para adquirir uma estrutura mais resistente e porosa, as fibras podem ser sujeitas a refinação, a fim de obter uma porosidade inferior, conseqüentemente as moléculas irão possuir um tempo de libertação superior. Embora estudos apresentem uma porosidade de 87,5% como suficiente para a retenção de determinadas moléculas (Rostamitabar *et al.*, 2021). Estes fatores irão sofrer alterações de acordo com o fluxo de moléculas ativas pretendidas para a aplicação.

A camada exterior de natureza hidrofóbica, impermeável ao ar tem como objetivo impedir a propagação das moléculas retidas na camada anterior, será produzida a partir da alteração da estrutura química e física das fibras de celulose a fim de atingir a hidrofobicidade pretendida, ou recorrer ao uso de outros materiais barreira (Samyn, 2013).

### **2.3.3. DDS de base celulósica para aplicações dérmicas**

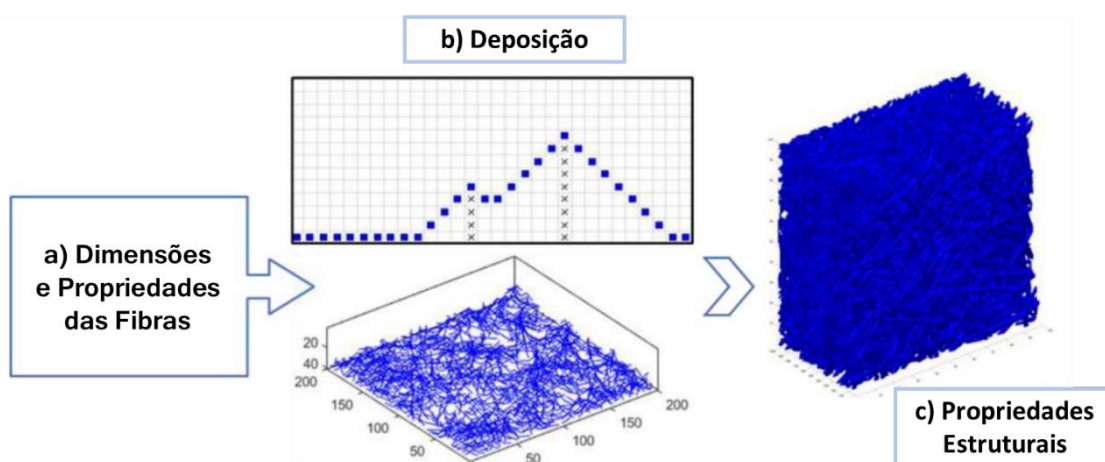
Os sistemas de entrega de fármacos de base celulósica são responsáveis pela retenção das moléculas de interesse no desenvolvimento de aplicações dérmicas. O desenvolvimento de sistemas de entrega biodegradáveis tem captado imensa atenção, principalmente para a biomedicina. Dentre eles, os sistemas de entrega a base de nanocelulose possuem inúmeras vantagens, dentro delas a sua biocompatibilidade, elevada área de superfície, a sua escala nano, atribuindo a esta um elevado poder de reter diversos compostos, sejam eles sintéticos ou naturais (Dash & Ragauskas, 2012).

Os tipos de celulose inovadores referem-se principalmente à micro e nanocelulose. Nos sistemas de entrega, a celulose possui diversas rotas de ação, possuindo aplicações orais, dérmicas, intravenosas entre outras. A MC é amplamente utilizada devido ao tamanho das microfibras e dos grupos presentes na superfície da celulose que irão adsorver os compostos através de forças electrostáticas, mantendo assim os compostos de interesse retidos, podendo controlar a sua libertação a partir de mudanças de temperatura ou pH (Sun *et al.*, 2019).

A NC, tal como a nanocelulose cristalina (CNC) e a celulose nanofibrilada (NFC), estão a ser alvo de estudos na sua utilização como sistemas de entrega, devido a sua alta carga negativa, elevada área superficial e excelentes propriedades mecânicas. Devido à elevada hidrofiliabilidade da CNC, a libertação de uma molécula ativa pode ocorrer rapidamente no decorrer de um dia (Sun *et al.*, 2019). Testes de dissolução afirmam que a cinética de libertação das moléculas a partir de sistemas de NFC, estão diretamente ligadas a fatores como a solubilidade do composto no sistema de entrega e a sua respetiva afinidade (Kolakovic *et al.*, 2012), sendo possível assim controlar a libertação/difusão de um fármaco a partir de uma matriz de NC.

### 2.3.4. Modelação e simulação computacional de estruturas 3D de celulose

Em 2011, um método de simulação computacional foi validado, representado na Figura 2.4, que prevê estruturas de celulose 3D a partir da manipulação do volume, comprimento, flexibilidade, entre outros fatores provenientes dos dados experimentais obtidos das fibras, a partir de uma sequência de voxéis numa divisão cartesiana (Curto *et al.*, 2011).



**Figura 2.6:** Esquema da simulação computacional das estruturas celulósicas (Adaptado de Morais & Curto, 2022).

De acordo com a Figura 2.6, em a) são introduzidas no sistema as propriedades estruturais e dimensionais das fibras, ocorrendo em b) deposição aleatória das fibras formando uma matriz 3D de celulose. Em c) está representada a matriz 3D obtida tendo em conta os parâmetros estruturais requeridos (Morais & Curto, 2022b).

A partir da simulação de estruturas 3D de base celulósica é possível, tendo em consideração as características das fibras, prever, manipular e otimizar estruturas fibrosas. Seguindo uma metodologia por camada podemos utilizar esta ferramenta para otimizar individualmente as diversas camadas dos DDS. Isto é, na camada em contacto com a zona alvo, a otimização de parâmetros como a espessura, distribuição das fibras, porosidade, área relativa de ligação, favorecerão a suavidade e maciez. Consecutivamente, a camada intermédia será melhorada, tendo em conta a retenção e libertação controlada das moléculas de interesse ao longo do tempo. Por

fim, na camada externa, teremos como objetivo o impedimento das moléculas sejam perdidas no meio ambiente, sendo todos estes fatores importantes para o desenvolvimento deste produto (Morais, 2017)

# **Capítulo III**

## **Materiais e Métodos**

### 3. Materiais e Métodos

Neste capítulo encontram-se todos os materiais, reagentes e equipamentos utilizados ao longo deste trabalho, acompanhados das suas marcas e modelos. São descritas as metodologias aplicadas, desde a produção do chá à obtenção das estruturas fibrosas, retenção dos compostos ativos e análises de caracterização das matrizes desenvolvidas, bem como dos compostos identificados neste estudo.

#### 3.1. Materiais

Os chás utilizados neste trabalho (Figura 3.1) são provenientes da Fábrica da Gorreana, empresa produtora de chá nos Açores. Os dados de fabricação e siglas de denominação adotadas estão representados na Tabela 3.1.



**Figura 3.1:** Diferentes tipos de chás da Fábrica da Gorreana utilizados neste estudo (Retirado de Gorreana, 2015).

**Tabela 3.1:** Tipos de chá utilizados, dados de fabricação e respetiva sigla adotada.

Chá	LOTE	Prazo de Validade	Sigla
<b>Chá Preto Orange Pikoe</b>	46306	02/05/2024	<b>OP</b>
<b>Chá Preto Pikoe</b>	33300	27/04/2024	<b>P</b>
<b>Chá Preto Broken Leaf</b>	41182	01/01/2024	<b>BF</b>
<b>Chá Verde</b>	43341	07/06/2024	<b>V</b>

O mentrasto, referenciado sob a sigla PP, foi utilizado em uma mistura junto à folha de canábis, para melhorar as propriedades sensoriais e terapêuticas do chá obtido. As folhas de *Ageratum*

*conyzoides* L. foram colhidas no jardim da Universidade da Beira Interior e lavadas com água destilada antes do processamento.

Dois conjuntos experimentais de fibras de cânhamo foram disponibilizados com objetivos distintos. Os conjuntos foram denominados por fibras de cânhamo de tipo 1 e tipo 2. O Tipo 1 foi fornecido por um parceiro industrial, e processado para fins papaleiros. Enquanto para o tipo 2, fornecidos pelo departamento têxtil da equipa FibEnTech, desenvolveram-se processamentos com o objetivo de obter fibras de maior comprimento para aplicações têxteis.

As pastas celulósicas utilizadas no decorrer deste trabalho foram obtidas a partir do processamento kraft. Uma delas constituída por fibras branqueadas de eucalipto, *hardwood* (HW), e uma segunda pasta não-branqueada de pinho ou *softwood* (SW).

Foi também utilizada uma amostra de papel do tipo *tissue*, proveniente da indústria, selecionado por possuir uma elevada suavidade e compatibilidade para aplicações dérmicas. Este papel foi processado e caracterizado de modo a servir de referência para as matrizes desenvolvidas neste estudo.

### **3.1.1. Equipamentos**

As pesagens foram realizadas numa balança analítica Mettler, modelo Toledo AG104. O teor de matéria seca (TMS) for determinado utilizando uma balança de IV marca Mettler, modelo LJ16 Moisture Analyzer.

As determinações espectrofotométricas foram efetuadas utilizando um espectrofotómetro Helios Omega UV-Vis.

Para a determinação química das estruturas fibrosas utilizou-se o FTIR-ATR Thermo-Nicolet IS10 e o EDX da Bruker 129 eV.

Utilizou-se o Microsoft Office Excel 2007 e o Microsoft Office PowerPoint 2007, para fins de análise estatística e como formatador de imagens, respetivamente.

Todas as amostras, quando necessário, foram moídas utilizando um moinho de bolas CryoMill®, utilizando uma frequência de 25 KW, com 4 bolas por 10 minutos.

As propriedades óticas, como a brancura e opacidade do papel foram avaliadas utilizando o equipamento Color Touch 2, da marca Technidyne modelo ISO.

Utilizou-se o MorFi® Fiber e o microscópio ótico Nikon para avaliar o comprimento, largura, grau de fibrilação e a presença de finos ou fibras cortadas nas respectivas amostras.

Na determinação dos componentes voláteis e caracterização dos compostos presentes no chá, utilizou-se o cromatógrafo gasoso da marca Agilent Technologies, modelo 7890 A, acoplado a um espectrómetro de massas da marca Agilent Technologies, modelo 5975C inert XL MSD com Triple-Axe detector.

## **3.2. Métodos**

### **3.2.1. Determinação da concentração do chá da Gorreana**

Desenvolveram-se curvas de calibração a partir leituras de absorbância no UV/Vis de soluções de chá de concentrações conhecidas para cada um dos quatro tipos de chá utilizados. Um dos objetivos da determinação da curva de calibração encontra-se na identificação do teor de chá em uma eventual amostra desconhecida através da aplicação da lei de Lambert-Beer.

#### **3.2.1.1. Lei de Lambert -Beer**

A lei de Lambert-Beer, dada pela Equação 3.1, estabelece uma relação entre a absorbância (ou transmitância) de luz por uma amostra e sua concentração. Sua aplicação permite determinar a concentração (c) de uma amostra desconhecida, a partir da medida de absorbância (A), em função da absorvidade molar ( $\epsilon$ ), uma grandeza da espécie absorvente, e do percurso ótico (b), dado pelo comprimento da célula em cm (Doe & Smith, 2013).

$$A = \epsilon bc \quad \text{Equação 3.1}$$

A técnica baseia-se na incidência de um feixe de luz sobre a amostra, onde parte dos fótons são absorvidos e a restante é transmitido e detetado pelo equipamento. Deste modo o espectrofotômetro compara a intensidade do feixe de energia que é incidido com aquele que atinge o detetor, dando origem a um espectro de absorbância das espécies presentes na amostra.

O espectrofotômetro Helios Omega UV-Vis utilizado efetua o varrimento nas regiões UV-Vis, possuindo como limites os comprimentos de onda de 200-800nm, efetuando a leitura a partir de duas lâmpadas distintas, uma de deutério que lê de 200 a 325 nm e a de tungstênio é utilizada para os valores de comprimento de onda superiores a 325 nm. A seleção da lâmpada é efetuada automaticamente pelo espectrofotômetro consoante o comprimento de onda selecionado.

### **3.2.1.2. Determinação das condições ideais para o Chá da Gorreana**

A partir dos resultados apresentados por Hajiaghaalipour *et al.*, 2016, obtido a partir da análise de diferentes tipos de chás, as condições ideais de preparo para obter uma quantidade máxima de compostos fenólicos totais (TPC) encontra-se numa infusão a 90°C por 5 a 7 minutos. As análises apresentadas pelo autor mostram que os valores dos polifenóis atingiram o teor máximo aos 7 minutos de infusão a 90 °C, sendo estes superiores aos obtidos a partir da infusão a frio (20°C) por duas horas. De acordo com Saklar *et al.*, 2015, as condições ideais para maximizar a quantidade de catequinas e parâmetros sensoriais é de cerca de 3-5 minutos a 85 °C . Com base nestes estudos desenvolveu-se a metodologia para preparo dos chás alvos deste estudo.

### **3.2.1.2. Teor de matéria seca (TMS)**

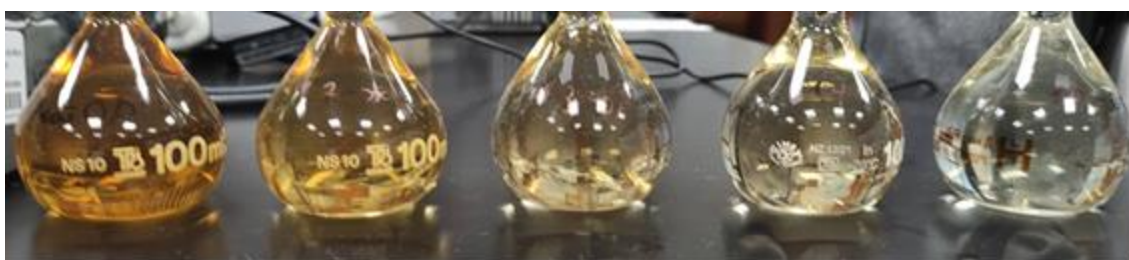
O teor de matéria seca dos chás foi determinado a partir da análise em balança de infra-vermelho, marca Mettler, modelo LJ16 Moisture Analyzer. Os valores de TMS encontram-se representados na Tabela 3.2.

Para o preparo da solução inicial de chá, seguiu-se com a pesagem de aproximadamente 2g de folhas, onde calculou-se a massa seca a partir dos dados de TMS. As massas utilizadas para a preparação de cada solução de chá encontram-se na Tabela 3.2.

As soluções foram preparadas utilizando-se de 500 mL de água destilada a 95°C, e infusão de 5 minutos. Tendo as quatro soluções iniciais como soluções de partida, prosseguiu-se para diluições em balões de 100 mL (01:10; 01:20; 01:50; 1:100 e 1:125), conforme exemplificado na Figura 3.2. Posteriormente fez-se a determinação da curva de calibração pela leitura das absorbâncias por espectrometria UV-Vis.

**Tabela 3.2:** Teor de matéria seca do chá.

Chá	Teor de matéria seca (%)	Massa total (g)	Massa o.d. (g)	Concentração inicial (g/L)
Chá Preto <i>Orange Pikoe</i> (OP)	93,93	2,038	1,892	3,78
Chá Preto <i>Pikoe</i> (P)	93,06	2,034	1,893	3,79
Chá Preto <i>Broken Leaf</i> (BL)	96,96	2,067	2,004	4,01
Chá Verde (V)	93,98	2,054	1,93	3,86

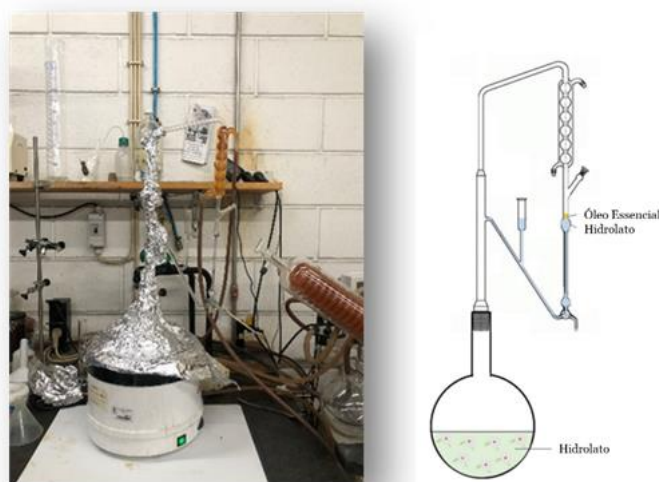
**Figura 3.2:** Diluições e cor representativa do chá preto da Gorreana *Orange Pikoe*.

Inicialmente fez-se um varrimento de 200-800 nm para identificação da banda de maior absorção. Após esta etapa, onde identificou-se um pico característico a 271,5 nm para as amostras de chá preto e a 273 nm para o chá verde, seguiu-se para as demais leituras, nestes comprimentos de onda, em triplicata.

### 3.2.2. Hidrodestilação

Para a produção de óleos essenciais, um dos processos mais comumente e tradicionalmente utilizados é a hidrodestilação (Manayi *et al.*, 2014). Neste estudo, utilizou-se um destilador de Clevenger (Figura 3.3). Um dos parâmetros a ter em conta neste procedimento é o tempo de destilação que irá ditar o rendimento e concentração de compostos, bem como a atividade biológica do óleo extraído.

O balão é aquecido até a temperatura de ebulição da água, que percorre o sistema em inúmeros ciclos durante 2 h de hidrodestilação.



**Figura 3.3:** No lado esquerdo, encontra-se o destilador de Clevenger utilizado na realização da extração dos óleos essenciais. Do lado direito, encontra-se a representação esquemática do destilador de Clevenger. Imagem adaptada de Figueiredo *et al.*, 2020.

### 3.2.2.1. Hidrolato

O hidrolato, subproduto da hidrodestilação, é frequentemente considerado um resíduo e descartado junto com os detritos vegetais da planta (Rodrigues *et al.*, 2022). Este é obtido a partir do aquecimento e condensação da água destilada presente no sistema e principalmente no balão onde ocorre o aquecimento. É composto, principalmente, pelo solvente utilizado na destilação (neste caso, a água) e compostos hidrossolúveis, bem como alguns compostos voláteis que, em sua maioria, coincidem com aqueles identificados na composição do óleo essencial resultante (Rodrigues *et al.*, 2022).

Manayi *et al.*, 2014 identificou no hidrolato da hidrodestilação de *Lythrum salicaria* L. cerca de 60% mais compostos do que no óleo essencial obtido, representando assim um elevado valor e poder de aplicação. Deste modo, pretende-se efetuar a respetiva caracterização dos compostos presentes no hidrolato de cada amostra de chá após a sua obtenção por hidrodestilação a fim de avaliar possíveis aplicações.

### **3.2.2.2. Hidrodestilação *Cannabis sativa* L. e *Ageratum conyzoides* L.**

Para garantir uma extração mais eficiente e rentável, um estudo prévio da melhor zona da planta a ser utilizada deve ser executado. Nesse sentido, procedeu-se à utilização das folhas da *Ageratum conyzoides* L. e da *Cannabis sativa* L.. Ambas as plantas não sofreram nenhum tipo de alteração após a sua colheita (preservação do teor de humidade natural da planta, cerca de 70-75 % de humidade relativa).

Utilizou-se uma massa inicial de 100g de biomassa, com a proporção de 70/30 de *Cannabis sativa* L. e *Ageratum conyzoides* L., respetivamente, em 2 L de água destilada. As proporções de biomassa e água para destilação foram descritas por Leonardi *et al.*, 2012.

Foi efetuada uma segunda hidrodestilação (2 L água/2 h) contendo 50,18 g de flor de *Cannabis sativa* L. (TMS de 92,06%) de modo a caracterizar os compostos presentes e rendimentos de extração, exclusivamente desta planta.

### **3.2.2.3. Hidrodestilação Chá verde da Gorreana**

Este processo de hidrodestilação sofreu algumas alterações quanto às proporções de biomassa e água para destilação, mantendo-se o período de extração de 2 h. Adicionou-se 200g de chá verde em 750 mL de água destilada a fim de avaliar a formação de óleo essencial e dos compostos presentes no resíduo sólido do hidrolato (extrato).

#### **3.2.2.3.1. Metil Esterificação**

Devido a presença de vários ácidos carboxílicos no extrato, recorreu-se a esterificação com diazometano e éter etílico em excesso para transformar os ácidos carboxílicos em ésteres metílicos, libertando nitrogénio. A reação ocorreu a temperatura ambiente por 48 horas. Recorrendo a esta metodologia os éteres resultantes podem ser mais facilmente separados e identificados por GC-MS (Ngan & Toofan, 1991).

### **3.2.3. Análise dos voláteis por *solid-phase microextraction* (SPME)**

A técnica analítica denominada micro extração em fase sólida foi recentemente desenvolvida para a deteção de compostos voláteis, apresentando baixo custo, e sem o uso de solventes orgânicos, sendo este um dos principais problemas dos métodos utilizados anteriormente ao seu

desenvolvimento. Trata-se de uma técnica baseada no coeficiente de distribuição dos analitos entre a matriz da amostra e a fase gasosa. Esta técnica utiliza uma fibra revestida com um polímero adsorvente polar ou apolar para reter os compostos voláteis de uma determinada amostra. (Gao *et al.*, 2017). O método totalmente autónomo denominado *Headspace-Solid-phase microextraction* (HS-SPME) foi empregado neste estudo, onde os compostos voláteis presentes no hidrolato foram retidos na microfibras presente no interior do aparelho (Figura 3.4), recolhidos a fim de identificá-los e compará-los aos compostos contidos no óleo extraído da biomassa.

Turkmen *et al.*, 2007, realizou a microextração de fase sólida de um tipo distinto de chá proveniente da *Camellia sinensis* L. a 80°C por um período de 3 a 5 minutos. A fim de determinar a temperatura ideal a realizar a extração, preformou-se ensaios com diferentes tempos e temperaturas de processo. Através dos resultados, notou-se que com o aumento da temperatura maior a eficiência de extração e mais compostos puderam ser identificados.

Com base na otimização realizada anteriormente, as extrações dos compostos voláteis presentes no chá verde da Gorreana, ocorreram a 50°C durante 5 minutos. Foi utilizada uma fibra apolar de 100 µm composta por polidimetilsiloxano (PDMS).



**Figura 3.4:** Técnica *Solid Phase Micro Extraction* utilizada para extrair os compostos voláteis.

### 3.2.4. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS)

Na determinação dos compostos presentes no chá e nos óleos extraídos, utilizou-se a técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) que permite a caracterização dos compostos presentes numa mistura complexa, com uma boa repetibilidade, resolução e eficiência (Bartle & Myers, 2002). A espectrometria de massa (MS) é uma técnica bastante utilizada nas mais diversas áreas devido a sua elevada sensibilidade, seletividade e exatidão. O equipamento é constituído por três elementos principais: a fonte de ionização, o analisador de massa, e o detetor (Awad *et al.*, 2015).

Foi utilizado hélio como fase móvel, sendo a fase estacionária composta por dimetilpolissiloxano com 5% de grupos fenilo (DB-5) com 0,25 micrómetros de espessura numa coluna com 30 m de comprimento e 0.25 mm de diâmetro. As condições de temperatura utilizadas nas respetivas análises efetuadas estão representadas na Tabela 3.3.

**Tabela 3.3:** Temperatura das respetivas divisões dentro dos aparelhos utilizados.

Aparelho	Divisão	Temperatura (°C)
GC	Injetor	250
	Temperatura Inicial do Forno	40
MS	Interfase	280
	Fonte	230
	Quadrupolo	180

Nas análises efetuadas, foi utilizado um caudal de hélio de 1 ml/min, a temperatura inicial do forno foi de 40°C (5 min.) e ocorreu um aumento gradativo de 5°C por minuto até atingir os 250°C (5 min.). A análise decorreu durante um total de 52 minutos. No decorrer deste tempo, os compostos presentes na amostra a caracterizar são eluídos de acordo com a sua afinidade à fase estacionária, gerando assim um tempo de retenção para cada composto.

### 3.2.5. Desenvolvimento e otimização das estruturas celulósicas 3D

#### 3.2.5.1. Pastas de celulose

Nesta etapa foram utilizadas duas pastas celulósicas distintas, constituídas por fibras de eucalipto branqueadas (HW) e fibras de pinho não branqueadas (SW) obtidas industrialmente pelo processo kraft, e uma amostra de papel industrial (PI), do tipo *tissue*.

A fim de avaliar as características das estruturas, desenvolveram-se matrizes 3D celulósicas com as pastas em estudo individualmente. Foram também efetuadas misturas em diferentes proporções (50:50; 80:20; e 90:10.) de *hardwood* e *softwood*, respetivamente.

As pastas (SW, HW e PI) foram caracterizadas quanto morfologia de suas fibras e propriedades das estruturas 3D. A partir destes dados, tais amostras serviram como referência às fibras e matrizes desenvolvidas no decorrer deste estudo.

##### 3.2.5.1.1. Determinação do teor de matéria seca das pastas

O teor de matéria seca (TMS) representa a quantidade de material seco de uma amostra. Deste modo a amostra é seca a 105 °C sob condições controladas até a remoção completa da água presente na amostra.

As pastas celulósicas foram analisadas numa balança de infravermelho da marca Mettler, modelo LJ16 Moisture Analyzer a fim de determinar o seu teor de humidade de acordo com a norma **ISO 5263-1:2004**.

Na Tabela 3.4 seguinte encontram-se os valores obtidos do teor de sólidos das duas amostras.

**Tabela 3.4** Teor de matéria seca e de humidade da pasta a caracterizar.

Pastas	Tempo (min)	Temperatura (°C)	TMS (%)	Teor de humidade (%)
<i>Hardwood</i> (HW)	20	105	93,7	6,3
<i>Softwood</i> (SW)			92,8	7,2
Pasta <i>Tissue</i> Industrial (PI)			100,0	0,0

### 3.2.5.1.2. Produção das estruturas celulósicas

Conhecendo o TMS das pastas de celulose, 30g de pastas secas foram desintegradas em 2L de água deionizada a 30000 rotações, utilizando um desintegrador de acordo com a norma **ISO 5263-1:2004**.

Foi utilizado um refinador PFI-mill para refinar as pastas de eucalipto (HW) e pinho (SW) a 1000, 3000 e 6000 rotações, de modo a avaliar as propriedades e efeitos da refinação nas diferentes pastas. Posteriormente, foram produzidas estruturas fibrosas de HW e SW separadamente. Ambas as pastas foram sujeitas as mesmas condições de refinação a fim de estabelecer parâmetros de comparação entre elas, de acordo com a norma **ISO 5264-2:2011**.

Para além das refinações mencionadas, foi também realizada uma refinação a 12000 rotações para obtenção de fibras de celulose microfibrilada, e avaliar assim suas propriedades e morfologia. Na preparação desta amostra, realizou-se a hidratação das fibras de eucalipto numa solução de NaOH a pH 12 pelo período de 24 horas, de modo a provocar um maior grau de fibrilação das fibras, anteriormente ao processo de refinação. As refinações efetuadas encontram-se referidas na Tabela 3.5.

**Tabela 3.5:** Refinações aplicadas e respetiva sigla de identificação.

<b>Refinações</b>	<b>Sigla - <i>Hardwood</i></b>	<b>Sigla- <i>Softwood</i></b>
Sem refinação	HW	SW
1000	HW_MT_1	SW_MT_1
3000	HW_MT_3	SW_MT_3
6000	HW_MT_6	SW_MT_6
12000 a pH 12	HW_MT_12_pH12	-

Antes da produção de estruturas 3D de celulose as suspensões fibrosas foram homogeneizadas em agitador rotativo. Adicionou-se 4 litros de água desionizada a fim de atingir a consistência pretendida. As estruturas produzidas baseiam-se na formação de folhas laboratoriais, seguindo a norma **ISO 5269-1:2005**.

Após a obtenção das estruturas fibrosas estas foram acondicionadas em ambiente controlado, de acordo com as condições mencionadas na norma **ISO 187:2022** até a sua caracterização.

### 3.2.5.1.3. Avaliação da morfologia das fibras

As fibras obtidas e apresentadas neste estudo, foram inicialmente avaliadas por microscopia ótica, de modo a avaliar seus comprimentos e larguras, identificar a presença de fibrilação e a existência de fibras cortadas.

Como as propriedades morfológicas das fibras influenciam as propriedades estruturais e mecânicas das matrizes produzidas, todas as pastas foram analisadas no equipamento MORFi® para determinação do comprimento médio ponderado em comprimento e largura das fibras, grau de fibrilação, percentagem de fibras cortadas e dobradas, entre outros. Foram utilizadas 0,2 gramas de massa seca para as fibras caracterizadas como *hardwood* e 0,3 gramas de massa seca no caso das fibras de pinho ou *softwood* de modo a salvaguardar a existência de 20.000 fibras a analisar.

### 3.2.5.1.4. Grau Schopper-Riegler

O método Schopper-Riegler tem como finalidade determinar o grau drenabilidade de uma pasta de fibras de celulose. De acordo com a norma **ISO 5267-1:1999** foi determinado o grau Schopper, utilizando 2g de cada suspensão fibrosa com água destilada a  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

### 3.2.5.1.5 Avaliação das propriedades físicas e mecânicas das estruturas de celulose

As estruturas produzidas foram caracterizadas iniciando-se pelo cálculo da gramagem de acordo a norma **ISO 536:2019**, densidade e espessura (**ISO 534:2011**), determinando assim, a porosidade das diferentes estruturas, presente na equação 3.2 (Morais & Curto, 2022a).

$$\text{Porosidade} = 1 - (\text{Densidade da Folha} / \text{Densidade da Celulose}) \quad \text{Equação 3.2}$$

$$\text{Densidade da Celulose} = 1,5 \text{ g/cm}^3$$

Foram avaliados os índices de tração e módulos de elasticidade das estruturas produzidas de acordo com a norma **ISO 1924-2:2008**.

De forma a avaliar as propriedades de resistência mecânica, foi determinado o índice de tração das estruturas fibrosas, que é expresso em newton, metro por grama (Nm/g), e que traduz a resistência máxima à tração até à deformação permanente de um dado material. Foi também

determinado o módulo de Young para todos os tipos de folhas, este também é conhecido por módulo de elasticidade e é expresso em Pascal (Pa), tratando-se de uma propriedade mecânica que mede a rigidez de um material. Quanto maior o módulo de Young maior será a força necessária para deformar o material testado.

#### **3.2.5.1.6. Brancura ISO do papel**

Atualmente tende-se a optar por papel com um teor de brancura inferior, uma vez que para obter um papel extremamente branco são necessários imensos tratamentos para remover a lenhina e outros compostos que dão cor ao papel, isto a um custo maior e necessidade de químicos, o que leva a um grande impacto ambiental (Jablonský & Šima, 2022).

O método utilizado para a obtenção da brancura foi executado com base na norma **ISO 2470-1:2016**.

#### **3.2.5.1.7. Opacidade do papel**

A opacidade é uma das principais características óticas que irá alterar consoante a espessura do papel (Main *et al.*, 2014). Esta irá variar de acordo com o tipo de pasta a analisar e o grau de refinação aplicado sendo normalmente inferior para graus de refinação superiores. O aumento da densidade fibrosa irá contribuir para um papel mais opaco devido a formação de uma estrutura mais interligada, dificultando a passagem da luz (Foelkel, 2009). Um material é considerado opaco quando não permite a passagem da luz, não sendo possível ver a partir do mesmo. Foram utilizadas as condições descritas na norma **ISO 2471:2008** para a determinação da opacidade das estruturas produzidas.

#### **3.2.5.1.8. Colorímetro CIELab**

O espaço de cor CIELab também conhecido como  $L^*a^*b^*$  trata-se de um método de análise da cor de uma respetiva amostra a partir da sua luminosidade ( $L^*$ ) e das quatro cores elementares representadas por  $a^*$  e  $b^*$  (**ISO 5631-1:2022**).

Este método foi desenvolvido pela *International Commission on Illumination* (CIE) e as medições foram realizadas no equipamento Color Touch 2, da marca Technidyne modelo ISO.

### 3.2.6. Obtenção das fibras de cânhamo

Neste tópico são abordadas as metodologias aplicadas para a obtenção das fibras de cânhamo. Foram utilizados dois conjuntos experimentais: fibras de cânhamo de tipo 1 desenvolvido para fins papeleiros e fibras de cânhamo tipo 2 com o objetivo de obter um elevado comprimento para aplicações têxteis.

#### 3.2.6.1. Preparação das amostras

Os conjuntos experimentais foram sujeitos aos mesmos processos de preparação das amostras. Os caules primários foram separados dos caules secundários manualmente para posterior processamento e obtenção das fibras separadamente. Outra variante aplicada foi a moagem das amostras, as propriedades das fibras obtidas foram posteriormente comparadas com as amostras não-moídas, cortadas com 2 a 3 centímetros de comprimento consoante ao procedimento exposto por Moonart & Utara, 2019.

Para a moagem dos caules foi utilizado um moinho da marca Retsch Mühle, (Figura 3.5) até atingirem dimensões na ordem de 0,5-2 cm.



**Figura 3.5:** Processo de moagem dos caules de cânhamo.

Durante o processo de moagem a perda de massa das amostras resultou em um rendimento de 84,69%.

#### 3.2.6.2. Condições reacionais do cozimento

A primeira etapa para a obtenção das fibras de cânhamo foi o cozimento. Este, dividiu-se em duas etapas, de acordo com a metodologia desenvolvida por Barbash *et al.*, 2022: 1) a impregnação ou

rampa de aquecimento, que decorre por 90 minutos e trata-se do aumento da temperatura até a temperatura de reação (140°C), 2) o cozimento, que se inicia após atingir a temperatura de reação, que permanece constante por 180 minutos, totalizando um tempo de residência de 270 minutos.

Para o conjunto de fibras do tipo 1, foi utilizada uma temperatura de cozimento de 140°C a fim de aumentar o grau de desfibrilação dos caules, reduzindo assim a fração não fibrilada no cozimento, comumente denominada por incozidos. Na obtenção das fibras de cânhamo tipo 2, escolheu-se uma temperatura inferior, efetuando-se o cozimento a 120°C de modo a preservar o comprimento das fibras. As restantes condições reacionais não foram alteradas para as fibras do tipo 1 e tipo 2, estando descritas na Tabela 3.6.

**Tabela 3.6:** Condições reacionais e composição do licor de cozimento.

Parâmetros	Cozimento		
Consistência	1:10*		
Carga Alcalina %	20	40	80**
Concentração (M)	0,5	1	2
Massa de NaOH (g)	1,871	3,742	7,485

\*Proporção sólido:líquido (caules:solução de NaOH)

\*\* Não realizado no cozimento das fibras tipo 2

### 3.2.6.3. Branqueamento

O processo de branqueamento é utilizado para promover a remoção da lignina residual não eliminada durante o cozimento. O branqueamento das fibras de cânhamo ocorreu utilizando uma solução 12% de peróxido de hidrogénio durante 2 horas a 50°C. Após a reação de branqueamento, as fibras foram lavadas e armazenadas em local refrigerado até à sua caracterização.

### 3.2.6.4. Caracterização das fibras de cânhamo obtidas

As fibras de cânhamo tipo 1 e tipo 2 foram analisadas por microscopia ótica a fim de avaliar seu comprimento e largura. As fibras de cânhamo tipo 1 foram analisadas no equipamento MORFi® seguindo os mesmos parâmetros descritos anteriormente para as fibras de eucalipto, pinho e papel *tissue*. Devido ao elevado comprimento obtido pelas fibras provenientes do tipo 2, recorreu-se a sua medição com o auxílio de uma régua, não sendo possível avaliar suas características morfológicas no mesmo equipamento.

### 3.2.6.5. Produção de matrizes celulósicas 3D por incorporação das fibras de cânhamo

As fibras de cânhamo tipo 1 moídas foram utilizadas em uma mistura às fibras de papel *tissue* industrial (PI) com o objetivo de avaliar o desenvolvimento de possíveis reforços nas estruturas produzidas causados pela incorporação das fibras longas de cânhamo. As estruturas de gramagem 60 g/m<sup>2</sup> foram produzidas utilizando 1 e 10% de fibras de cânhamo na sua composição final. Realizou-se ainda uma refinação de 1000 revoluções à pasta contendo 10% de fibras de cânhamo. As siglas das estruturas obtidas e suas respectivas composições estão representadas na Tabela 3.7.

**Tabela 3.7:** Composição e siglas das estruturas produzidas contendo fibras de cânhamo.

Sigla	Composição
99:1_PI:HP	99% Papel <i>tissue</i> industrial + 1% Fibras tipo 1 moídas
90:10_PI:HP	90% Papel <i>tissue</i> industrial + 10% Fibras tipo 1 moídas
90:10_PI:HP_1000	90% Papel <i>tissue</i> industrial + 10% Fibras tipo 1 moídas, refinadas a 1000 revoluções no PFI mill.

### 3.2.7. Espectroscopia FTIR-ATR

A espectroscopia FTIR é o método de caracterização, não destrutivo que consiste em incidir luz infravermelha (IV) na superfície da amostra de modo a identificar a partir do espectro absorvância vs comprimento de onda (cm<sup>-1</sup>) a sua estrutura e compostos presentes. A função ATR (técnica de reflexão total atenuada) permite a análise de amostras sólidas e líquidas.

As estruturas de HW e SW analisadas foram inseridas no equipamento sem necessidade de pré-tratamento. Os espectros foram adquiridos utilizando-se dos parâmetros apresentados na Tabela 3.8.

**Tabela 3.8:** Características de utilização do FTIR-ATR.

Características do FTIR-ATR	
Nº de scans	127
Resolução	4 cm <sup>-1</sup>
Comprimento de onda	600-4000 cm <sup>-1</sup>

### **3.2.8. Microscopia Eletrônica de Varrimento (SEM)**

O Microscópio Eletrônico de Varrimento (SEM) trata-se de uma metodologia de microscopia eletrônica aplicada para obter imagens de alta-definição da amostra alvo. De modo a evitar acumulações eletrostáticas na superfície, as amostras devem ser eletricamente condutoras e ligadas ao suporte. A partir desta metodologia foi possível analisar as propriedades morfológicas das estruturas produzidas bem como outras características destas, como os diâmetros e porosidades.

As amostras foram introduzidas em um suporte de alumínio para, em seguida, serem cobertas por ouro a partir do Sputter Quorum Q15 OR ES (Quorum Technologies, United Kingdom), para melhorar a sua condutividade. Após o revestimento as amostras são analisadas no SEM utilizando um detector Bruker operando a 20kV com ampliações distintas.

### **3.2.9. Retenção das moléculas ativas na suspensão fibrosa**

A retenção das moléculas irá ocorrer no formador de folhas, produzindo inicialmente uma folha com 60 g/m<sup>2</sup> de gramagem como base para a matriz de estudo. Uma segunda mistura de fibras foi então adicionada junto à 500 mL de solução de moléculas ativas composta pelo chá verde da Gorreana (2 g/L) e pela flor de canábis (2 g/L) previamente preparada, conforme indicado a seguir. Desse modo, observou-se a retenção do chá na estrutura fibrosa, formando assim um material composto por 2 camadas, cada uma com a gramagem de 60 g/m<sup>2</sup>.

#### **3.2.9.1. Preparação das amostras**

As flores de canábis previamente congelada foi moída no moinho de bolas CryoMill®, utilizando uma frequência de 25 KW, com 4 bolas por 10 minutos, como está representado na sequência de imagens representada na Figura 3.6.



**Figura 3.6:** Processo de moagem das flores de canábis.

O chá verde por sua vez foi adicionado de acordo com a recorrente preparação apresentada anteriormente, utilizando uma massa de 2 g de folhas por litro de solução.

### **3.2.9.2. Avaliação da retenção das moléculas de interesse**

A avaliação da retenção das moléculas irá ocorrer por métodos óticos, uma vez que os fitoterpenos presentes imitem na região do visível, sendo possível averiguar a sua presença. O método utilizado CIELab, sob o qual fez-se uma comparação da coloração apresentada pela matriz celulósica antes e após a retenção.

### **3.2.9.3 Espectroscopia de Raio-X por Dispersão de Energia**

O EDX é uma técnica de identificação elementar que utiliza raios-X emitidos pela amostra que fornece informações qualitativas e quantitativas, permitindo a identificação dos elementos incluídos numa amostra e as suas proporções relativas. Neste método é utilizado um feixe de acelerador de elétrons para ionizar os átomos na câmara de valência da amostra. Os elétrons de cada elemento químico, com diferentes níveis de energia, são ejetados e repostos quando sujeitos à radiação de feixe. O detetor SEM quantifica esta diferença, permitindo que todos os componentes da amostra sejam reconhecidos.

Através do EDX fez-se a análise elemental do DDS contendo as moléculas de interesse, a fim de revelar a composição química da amostra. As amostras foram introduzidas em um suporte de alumínio e inseridas no microscópio eletrónico (SEM).

### **3.2.10. Simulação computacional das estruturas de celulose**

Posteriormente à produção e caracterização das estruturas fibrosas produzidas, deu-se início aos estudos de simulação computacional. Foram efetuados 6 casos de estudo, tendo como base os resultados obtidos laboratorialmente. Para tal foram utilizadas as três matérias-primas em estudo: as fibras de *Eucalyptus globulus*, ou *hardwood* (HW), as fibras de *softwood* (SW) e as fibras de cânhamo tipo 1 obtidas experimentalmente. Este dispositivo permite a simulação de materiais fibrosos porosos como redes aleatórias planares utilizando os diâmetros e propriedades das fibras. Os estudos computacionais foram efetuados utilizando o MATLAB® (R2019a).

No simulador, utilizou-se como dados de entrada os valores de comprimento adquiridos experimentalmente pelas análises das fibras. Para além deste parâmetro, deve-se considerar a flexibilidade da fibra real e da simulada. No simulador este fator varia de um a quatro. Sendo o valor 1, uma fibra rígida e o valor 4 uma fibra muito flexível. Estes parâmetros são essenciais para determinar a eficiência do DDS a desenvolver e avaliar posteriormente estes valores com os adquiridos experimentalmente (Morais, 2017). Para HW e SW utilizou-se uma flexibilidade de 3, enquanto para as fibras de cânhamo, uma flexibilidade de 2, e micro/nanocelulose, 4.

Simulou-se estruturas e calculou-se as propriedades estruturais, tais como porosidade, área relativa de ligação (RBA), espessura e número de cruzamentos por fibras. Estes resultados permitem analisar a mudança das propriedades das estruturas produzidas. Embora estes dados não tenham sido analisados nas simulações efetuadas neste trabalho, tenciona-se utilizá-lo no desenvolvimento de trabalhos futuros, a fim de minimizar esforços experimentais.

# **Capítulo IV**

## **Resultados e Discussão**

## 4. Resultados e Discussão

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos neste estudo, a iniciar pela caracterização dos chás utilizados, a determinação da sua concentração pela lei de Lambert-Beer, obtenção e caracterização do óleo de cânabis, caracterização das folhas do chá verde, bem como a identificação e quantificação das moléculas obtidas em cada um dos processos de extração previamente descritos.

Para além disso, a obtenção e caracterização das fibras de cânhamo de acordo com os mesmos métodos de cozimento, discussões frente às propriedades das diferentes fibras obtidas e por fim uma breve comparação destas com as fibras de *hardwood* e *softwood* avaliadas neste estudo.

O desenvolvimento de estruturas 3D de fibras de celulose tem como objetivo reter os compostos obtidos nos diferentes chás em estudo e dos produtos provenientes de cânabis, sendo estas estruturas otimizadas de acordo com as características requeridas para as aplicações pretendidas a este sistema.

O papel tipo *tissue*, ao qual incorporou-se fibras de cânhamo como agente de reforço à matriz, foi avaliado de acordo com os métodos aplicados para as restantes matrizes 3D desenvolvidas.

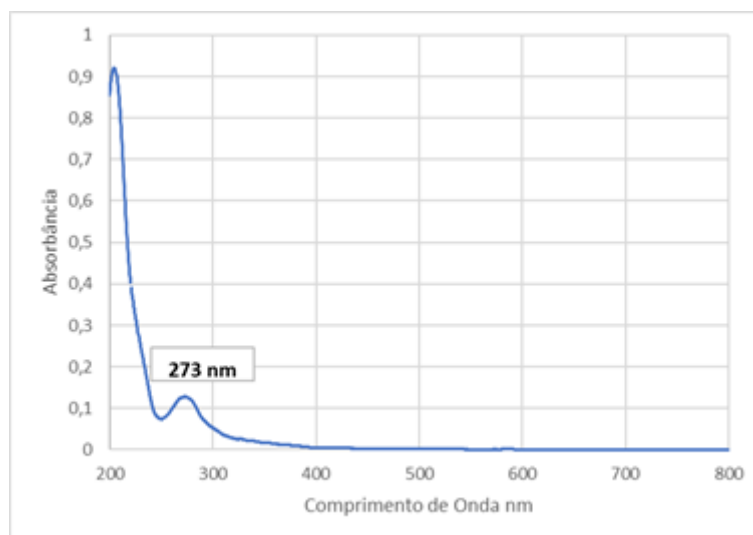
### 4.1 Caracterização do chá da Gorreana

#### 4.1.1. Definição da reta de calibração da concentração do Chá Verde

Através do varrimento do espectro UV-Vis do chá verde da Gorreana obteve-se um pico de absorção a 273 nm (Figura 4.1), o que não condiz com a coloração amarela/laranja apresentada pelo chá, que de acordo com a literatura possuiria máxima absorção a 420 nm (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006).

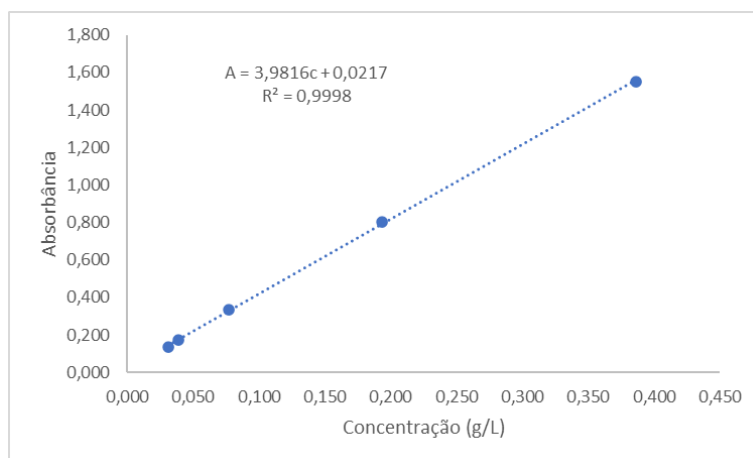
Estudos apontam que algumas bebidas, como o vinho branco, podem não apresentar, apesar da coloração amarela evidente, um pico característico em seu espectro de absorbância. Isso se deve, em sua maioria, aos compostos polifenólicos, dentre eles os flavonoides, que possuem máxima absorção em comprimentos de onda que variam de 270 a 350 nm, a depender do estado de

oxidação dos compostos. Além disso, os ácidos orgânicos, que também podem estar presentes no chá verde, absorvem a 254 nm (Cristea *et al.*, 2021; Ribereau-Gayon *et al.*, 2006). Deste modo, o pico de absorção obtido aos 273nm justifica-se pela ocorrência de polifenóis na amostra.



**Figura 4.1:** Espectro de absorvância UV-VIS, para o chá verde.

Por meio das leituras de absorvância aos 273nm de soluções de chá verde a diversas diluições, contruiu-se a curva de calibração, cuja equação encontra-se na Figura 4.2. As curvas de calibração para os demais chás estão representadas nos anexos B.1, B.2 e B.3. Por meio delas é possível identificar a concentração correspondente de uma determinada amostra de chá e conseqüentemente identificar quais os compostos presentes.



**Figura 4.2:** Curva de calibração para o chá verde.

#### 4.1.2. Análise dos compostos presentes no Chá Verde

O extrato adquirido após o processamento por hidrodestilação do chá verde, foi recuperado e devidamente concentrado, resultando em um rendimento de 8,41%. Devido aos elevados teores de ácidos carboxílicos no extrato, recorreu-se a sua esterificação. A partir da análise no GC-MS obteve-se, maioritariamente, os compostos descritos na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1:** Compostos maioritários obtidos a partir da análise do extrato do chá verde.

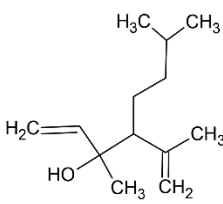
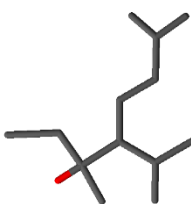
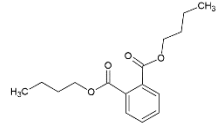
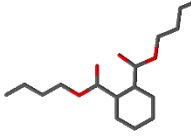
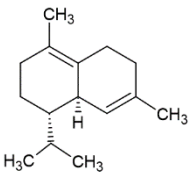
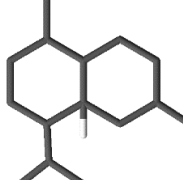
Compostos	Teor (%)	Estrutura 2D	Estrutura 3D
Ácido palmítico	25,5		
Cafeína	12,8		
Icosanoato de metilo	2,1		
Palmitato de metilo	1,8		

Pela análise dos compostos obtidos, pode-se afirmar que a esterificação foi parcialmente eficiente, pois ainda que tenha sido possível a identificação de diversos ésteres, como os apresentados acima, observa-se um elevado teor de ácido palmítico (25,5%) e outros ácidos carboxílicos. O

ácido palmítico e seus derivados são característicos pela sua elevada ação antioxidante e fonte de vitamina A e é utilizado frequentemente em suplementos alimentares.

A análise dos compostos voláteis foi realizada em dois níveis de temperatura. A análise feita a temperatura ambiente (21,6°C) gerou picos pouco resolutos e os dados obtidos foram insuficientes para a determinação dos compostos (Anexo C, Figura C.2). Da análise efetuada a 50°C obteve-se um maior número de compostos, cujo cromatograma encontra-se exposto na Figura C.3 do Anexo C. Na Tabela 4.2. estão representados os compostos maioritários obtidos. No Anexo C, Tabela C.1, está representada uma versão completa dos compostos identificados.

**Tabela 4.2:** Compostos maioritários obtidos a partir da análise dos voláteis presentes no chá verde a 50°C.

Composto	Teor (%)	Estrutura 2D	Estrutura 3D
$\beta$ -Linalol	26,0		
Ftalato de dibutilo	11,6		
$\delta$ -Cadineno	10,6		

O principal composto identificado, o  $\beta$ -linalol é amplamente empregado em fragrâncias e presente em diversos óleos essenciais de frutos cítricos e plantas, como a lavanda. Seus benefícios como analgésico e anti-inflamatório são amplamente aplicados na medicina, enquanto estudos atuais exploram suas propriedades ansiolíticas e antimicrobianas (Saeed *et al.*, 2023). A temperatura ambiente, o composto maioritário identificado foi o ftalato de dibutilo (51,2%), composto também identificado na extração a temperatura de 50°C (11,6%) embora em menor proporção em comparação aos demais componentes identificados.

## 4.2. Óleos essenciais extraídos

Da hidrodestilação de *Cannabis sativa* e dos mentrastos obteve-se 0,17mL de óleo, representando um rendimento de 0,17% (V/m), o que vai ao encontro do reportado na literatura, sendo esse percentual uma variável dependente da espécie de planta e as zonas consideradas na extração. A hidrodestilação com as flores de *Cannabis sativa* resultou em um rendimento de 1,08% (V/m). Esse resultado sugere que o óleo presente na planta *Cannabis sativa* encontra-se, em sua maioria, na zona específica das flores.

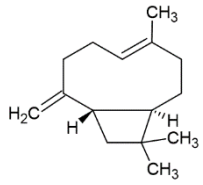
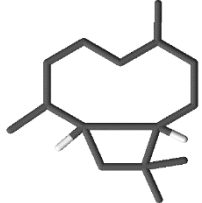
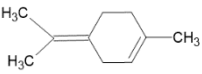
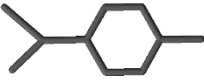
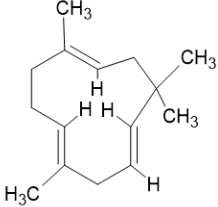
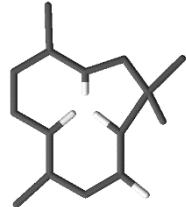
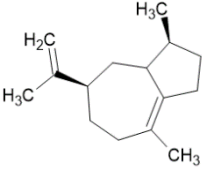
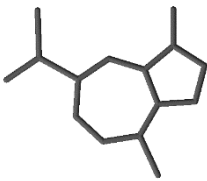
Na hidrodestilação do chá verde da Gorreana, a quantidade de óleo obtido foi insuficiente para análise, o que pode estar relacionado aos processos de secagem aos quais as folhas de chá foram sujeitas, uma vez que estudos afirmam a presença de óleo essencial em folhas verdes desta mesma planta (Rehman *et al.*, 2008).

### 4.2.1 GC-MS dos compostos presentes no óleo essencial de canábis/mentrastos e hidrolato

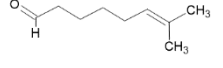
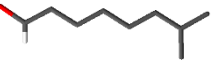
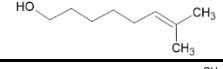
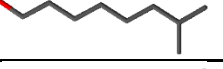
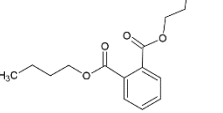
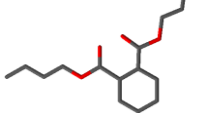
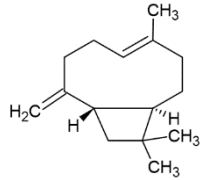
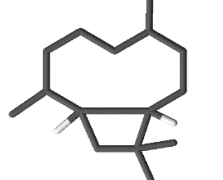
Com base da análise do óleo essencial por GC-MS, conseguiu-se separar os compostos presentes no óleo, dentre estes os principais encontram-se representados na Tabela 4.3, sendo possível verificar no anexo D.1 e D.2 os restantes componentes presentes no óleo e hidrolato, respetivamente. Em D.3 está presente o cromatograma obtido pela análise do óleo essencial de canábis e mentrasto.

A extração dos compostos voláteis presentes no hidrolato resultante da hidrodestilação de 70% *Cannabis sativa* L. e 30% *Ageratum conyzoides* L. (mentrasto) realizou-se por SPME, que posteriormente foram analisados por GC-MS, sendo os seus principais compostos representados na Tabela 4.4.

**Tabela 4.3:** Compostos principais obtidos na análise do óleo essencial de cânabis e mentrastos.

Compostos	Teor (%)	Estrutura 2D	Estrutura 3D
$\beta$ Cariofileno	14,3		
$\alpha$ Terpinoleno	10,8		
$\alpha$ Humuleno	8,1		
$\delta$ Guaieno	4,7		

**Tabela 4.4:** Compostos principais obtidos na análise do hidrolato da canábis e mentrastos.

Compostos	Teor (%)	Estrutura 2D	Estrutura 3D
Citronelol	10,3		
$\beta$ citronelol	8,9		
Dibutilftalato	4,3		
$\beta$ Cariofileno	3,9		

A partir da análise de ambas as fases obtidas na hidrodestilação pode-se averiguar a presença de alguns compostos em comum em ambas as fases, como o  $\delta$  guaieno,  $\beta$  cariofileno e  $\alpha$  humuleno. Através da análise dos compostos voláteis presentes na fase gasosa do hidrolato identifica-se que este possui um número de compostos bastante superior aos mais de 60 compostos identificados no óleo essencial.

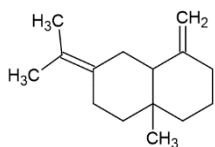
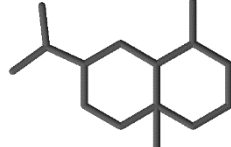
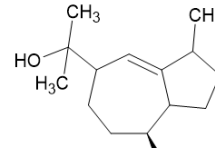
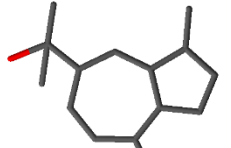
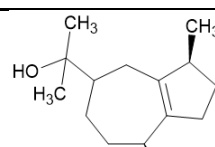
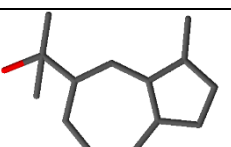
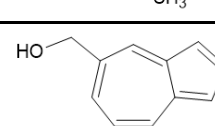
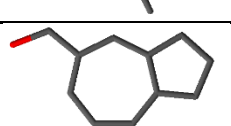
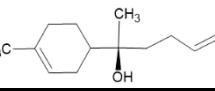
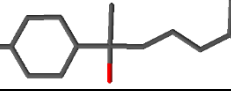
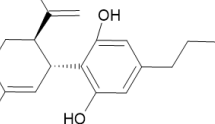
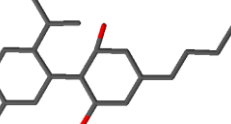
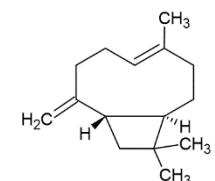
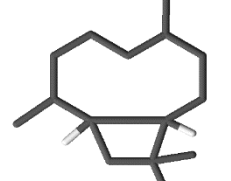
Pesquisas afirmam que o  $\beta$  cariofileno possui efeito no sistema nervoso central, sendo este eficaz no tratamento da depressão e minimizando o estresse oxidativo ligado a diversas áreas cerebrais (Cardoso, 2018). Segundo o descrito por Bonin *et al.*, 2020 o  $\alpha$  terpinoleno é eficaz contra a inibição patogénica de diversos microorganismos. O  $\alpha$  humuleno por sua vez é um sequisterpeno frequentemente identificado nos óleos essenciais e possui um grande potencial anti-inflamatório. Deste modo, os diversos compostos identificados possuem inúmeras propriedades que trarão valor acrescentado ao produto desenvolvido.

#### 4.2.2 Caracterização do óleo de canábis isolado

A caracterização do óleo essencial de canábis por GC-MS foi desempenhada de modo a avaliar a possibilidade da utilização de seus compostos em aplicações dérmicas, retendo-os numa matriz

de fibras celulósicas. Os principais compostos identificados encontram-se na Tabela 4.5. No Anexo D, Tabela D.3, está representada uma versão completa dos compostos identificados.

**Tabela 4.5:** Compostos principais obtidos na análise do óleo essencial proveniente da canábis.

Compostos	Teor (%)	Estrutura 2D	Estrutura 3D
$\gamma$ Selineno	10,9		
$\gamma$ Eudesmol	8,3		
Guaiol	8,2		
5 Azulenemetanol	7,5		
$\alpha$ Bisabolol	6,8		
<i>Trans</i> Canabidiol	6,8		
$\beta$ Cariofileno	5,8		

Para além dos compostos acima referidos também foram encontrados mais compostos em comum com o óleo resultante da mistura de canábis e mentrasto, dentre eles, os isómeros  $\alpha$

pineno e o  $\beta$  pineno em pequenas quantidades (Tabela D.3), ambos classificados como monoterpenos, bastante característicos pela sua ação miorelaxante (Jucá, 2007).

### 4.3. Obtenção e caracterização das fibras de cânhamo tipo 1

Para a obtenção das fibras tipo 1 foi utilizado um método de extração alcalino, no qual os caules do cânhamo foram sujeitos a um cozimento utilizando diferentes concentrações de NaOH, a 140°C e uma etapa de branqueamento com peróxido de hidrogénio (12% V/V). No esquema seguinte (Figura 4.3) estão ilustradas as diferentes etapas do processo.



**Figura 4.3:** Etapas realizadas para a obtenção das fibras de cânhamo.

### 4.3.1. Rendimento da Extração

Após o branqueamento, foi determinado o teor de matéria seca das fibras a fim de conhecer os rendimentos obtidos no processo de cozimento, tendo em conta os incozidos. Deste modo foi possível avaliar a concentração de NaOH ideal para obter um maior rendimento de fibras e o método de preparação das amostras mais eficiente para preservar as fibras. Na Tabela 4.6 estão representados os rendimentos obtidos para cada ensaio realizado.

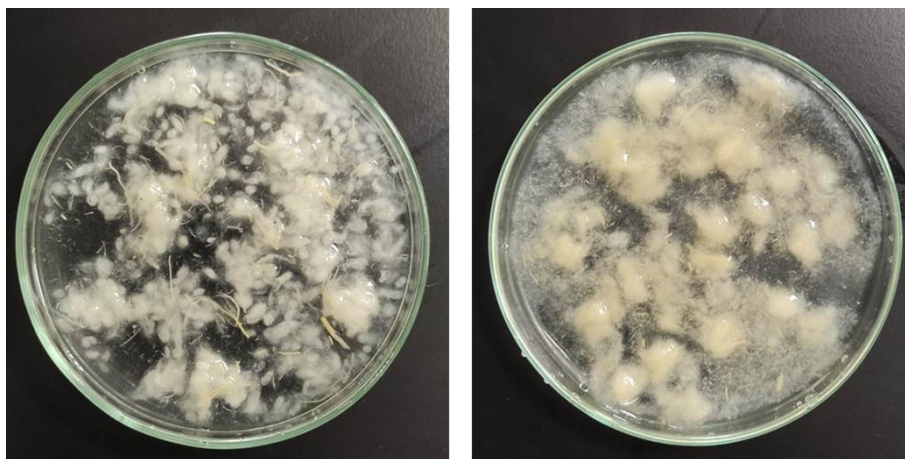
**Tabela 4.6:** Rendimentos obtidos na produção das fibras de cânhamo.

Amostras	Concentração de NaOH	Massa Inicial (g)	Massa Húmida (g)	TMS (%)	Rendimento (%)
Caules Cortados	0,5M	9,86	18,8	25,03	47,72
	1M	9,95	15,95	22,05	35,35
	2M	9,71	13,88	22,99	32,86
Caules Moídos	1M	12,04	22,2	21,92	40,42
	2M	12,48	20,42	19,04	31,15

Pela análise dos resultados de rendimento acima expostos nota-se que uma maior concentração de NaOH contribuirá para o decréscimo do rendimento do processo, o que está de acordo com o esperado, uma vez que o cozimento alcalino com NaOH, também designado por cozimento à soda, tem por objetivo remover a lenhina presente na biomassa, e o aumento da concentração de NaOH promoverá uma maior taxa de deslenhificação da amostra, e com isso, observa-se uma redução do rendimento.

Comparando os métodos de preparação das amostras, os caules cortados obtiveram um rendimento levemente superior em relação ao obtido para os caules moídos. Entretanto, por considerar os incozidos, esse rendimento mostra-se superestimado, uma vez que a matéria-prima moída apresenta maior área de superfície para contato com o licor de cozimento, permitindo assim sua impregnação e desfibrilação do material lenhocelulósicos. As observações experimentais permitem a conclusão de que a moagem dos caules foi mais efetiva na obtenção de fibras, com menor quantidade de incozidos. Para que seja avaliada a qualidade das fibras geradas (Figura 4.4) para cada processo de preparo de amostras seguiu-se para as análises de caracterização morfológica.

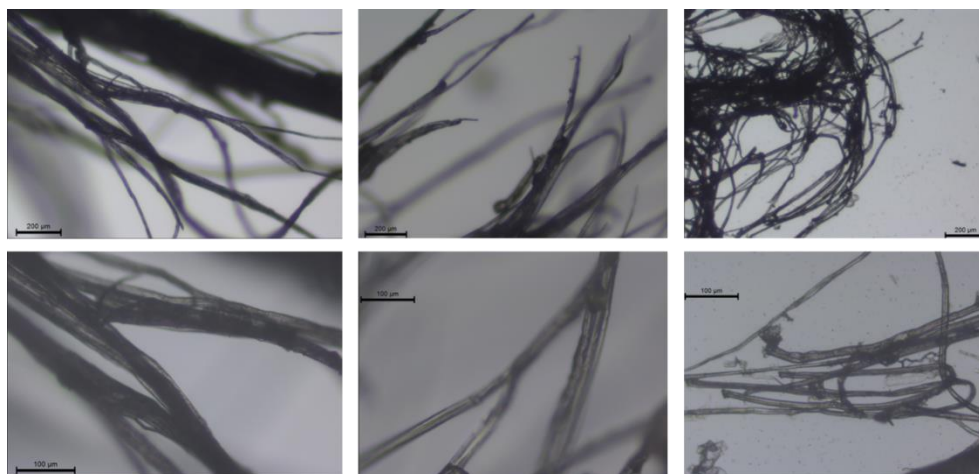
Ainda, a nível industrial, é importante analisar os rendimentos obtidos a temperaturas mais baixas, para rentabilizar os custos energéticos, o que mais uma vez favorece a extração das fibras a partir dos caules moídos, o que pode permitir a redução da temperatura do cozimento sem grandes prejuízos em termos de rendimento.



**Figura 4.4:** Fibras resultantes dos caules cortados (à esquerda) e moídos (à direita).

#### **4.3.2. Caracterização por microscopia ótica**

De modo a verificar a eficiência do processo alcalino, avaliou-se as fibras obtidas nas diferentes amostras de acordo com suas características de superfície, como a presença de fibras cortadas e seu comprimento. Na Figura 4.5 segue um compêndio das imagens obtidas.



**Figura 4.5:** Imagens das fibras de cânhamo obtidas por microscopia ótica.

Para a obtenção das imagens foram utilizadas duas objetivas diferentes, a primeira linha de imagens a 40x e a segunda a 100x. A primeira coluna corresponde aos caules cortados sujeitos a um cozimento de 1M em NaOH, as outras duas colunas correspondem as amostras moídas utilizando uma concentração de NaOH de 1M e 2M, respetivamente.

É possível verificar que as fibras obtidas a partir das amostras moídas possuem, em média, fibras mais curtas em comparação com as cortadas manualmente. Com o aumento da concentração de NaOH é possível verificar um certo grau de degradação, sendo possível verificar a presença de fibras cortadas ou finos.

### **4.3.3. Caracterização morfológica**

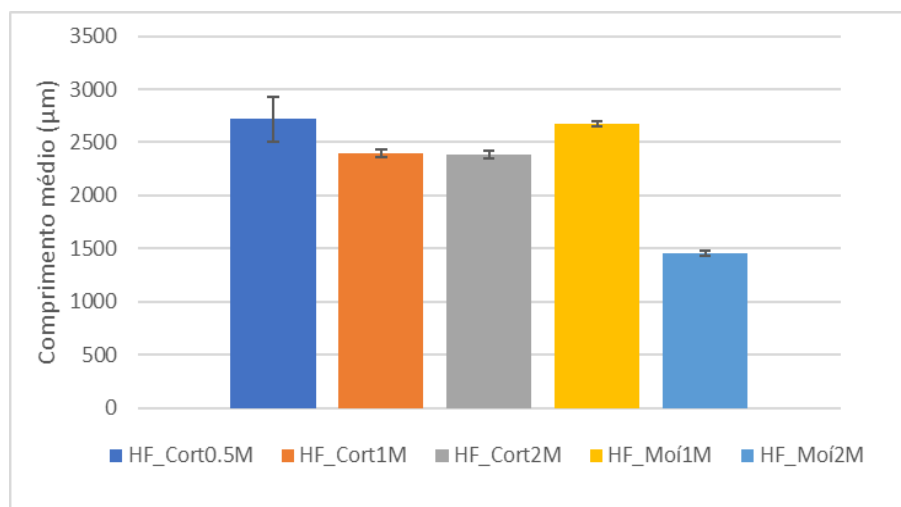
As fibras de cânhamo obtidas foram analisadas no MorFi a fim de conhecer o comprimento médio, largura, distribuição das fibras, fibrilação, fibras dobradas e cortadas, entre outros. Esta análise teve como objetivo identificar as mudanças nas fibras consoante os diferentes processos desde a preparação das amostras até as diferentes concentrações utilizadas no cozimento. Como trata-se de uma fibra pouco estudada e em crescente procura de informações, os testes morfológicos foram realizados em triplicata e encontram-se disponíveis na Tabela 4.7 com os respetivos desvios padrão.

**Tabela 4.7:** Propriedades físicas e morfológicas das fibras de cânhamo (HF) cortadas (Cort) e moídas (Moí).

	HF_Cort 0.5M	HF_Cort 1M	HF_Cort 2M	HF_Moí 1M	HF_Moí 2M
Comprimento médio (mm)	2,72±211	2,39±36	2,38±37	2,68±23	1,46±26
Fibra-Largura média (µm)	24,2±0,12	24,2±0,33	19,6±0,05	22±0	23,7±0,19
Massa Linear (mg/m)	0,18±0,03	0,14±0,01	0,19±0,01	0,17±0,00	0,18±0,02
Fibra-Fibrilação (%)	1,12±0,03	1,17±0,07	0,94±0,02	1,04±0,02	1,51±0,04
Fibras Cortadas (%)	46,48±0,36	46,3±0,35	36,6±0,55	42,1±0,31	44,34±0,59
Fibras Dobradas (%)	43,77±0,91	41,9±0,43	51,05±0,10	50,6±0,42	47,52±0,20
População fibrosa ×10 <sup>6</sup> (milhões/g celulose seca)	7,32±1,06	8,8±0,31	7,10±0,42	7,31±0,0	9,97±1,28

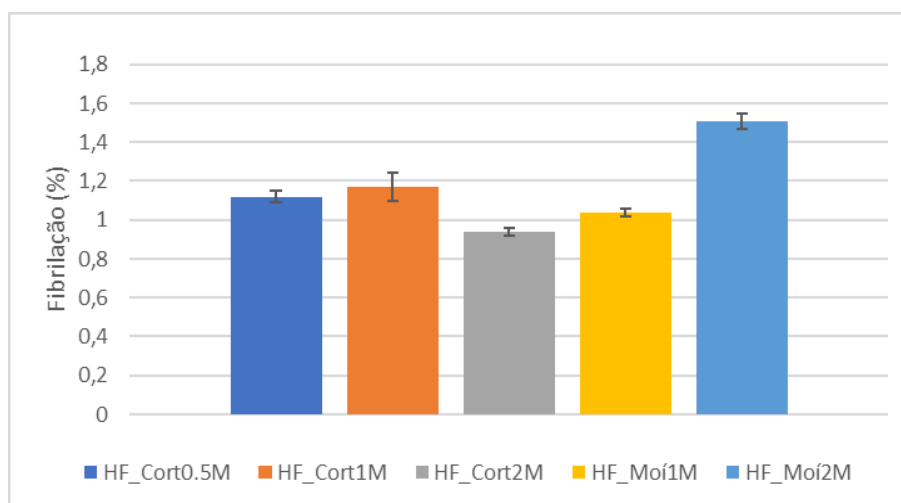
Shahzad, (2012) avaliou o comprimento, largura, e outras características físicas e mecânicas das fibras de cânhamo. Verificou que o comprimento médio das fibras era de 8,3-14 mm e a largura média era de 17-23 µm. As larguras obtidas a partir das análises das fibras de cannabis estão na mesma gama, mas os comprimentos obtidos foram, três vezes menores que os documentados (Shahzad, 2012).

O comprimento médio das fibras está ilustrado na Figura 4.6 e apresentam valores semelhantes em ambas as amostras (cortadas e moídas) quando cozidas numa menor concentração de NaOH. Duplicando a concentração de reagente, observa-se uma redução de 45% no comprimento das fibras para as amostras moídas, indicando uma degradação significativa das fibras durante o cozimento. Para as amostras cortadas, o comprimento médio das fibras permanece estável com o aumento da concentração.



**Figura 4.6:** Comprimento médio pesado em comprimento das fibras de cânhamos com os respectivos desvios padrão.

Em ambas as amostras, a largura da fibra (Tabela 4.7) mantém-se estável até uma concentração de 1M. Devido à crescente deterioração das fibras durante o cozimento, as fibras obtidas a partir da amostra cortada sofreram uma redução na largura com a concentração mais elevada no cozimento. Uma das causas potenciais do aumento da largura das fibras derivadas da amostra móida pode ser o facto de ter um grau de fibrilação mais elevado, como se vê na Figura 4.7.

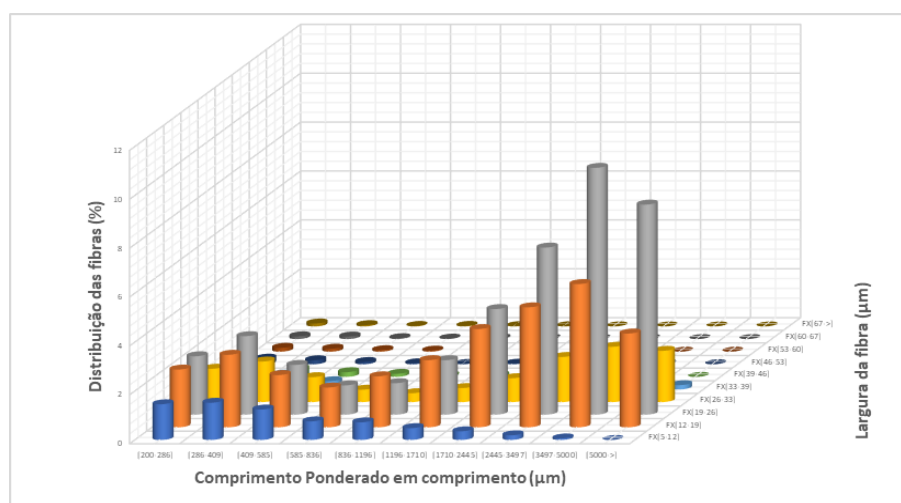


**Figura 4.7:** Grau de fibrilação das fibras de cânhamo.

Embora o grau de fibrilação das amostras cortadas não tenham sofrido grandes alterações com o aumento da concentração de NaOH durante o cozimento, é crucial salientar o aumento considerável do grau de fibrilação para a amostra moída cozida a 2M, sendo até superior a valores de fibras refinadas para este propósito (Morais *et al.*, 2021). Deste modo, a aplicação destas condições pode eventualmente minimizar custos para a obtenção de celulose microfibrilada.

Como as aparas de cânhamo são menores quando a amostra é moída, ao utilizar uma maior concentração de NaOH pode-se aumentar o grau de fibrilação das fibras sem utilizar técnicas de refinamento desenvolvidas para o efeito. Como resultado, as amostras feitas com estas fibras tendem a dar origem a estruturas com uma durabilidade superior e um menor grau de porosidade (Morais *et al.*, 2019).

A distribuição das fibras pelas classes de comprimento e largura são disponibilizadas nas Figuras 4.8, 4.9 e 4.10, onde pode-se elucidar sobre os efeitos das condições de cozimento e preparo de amostra sobre as características morfológicas do material.

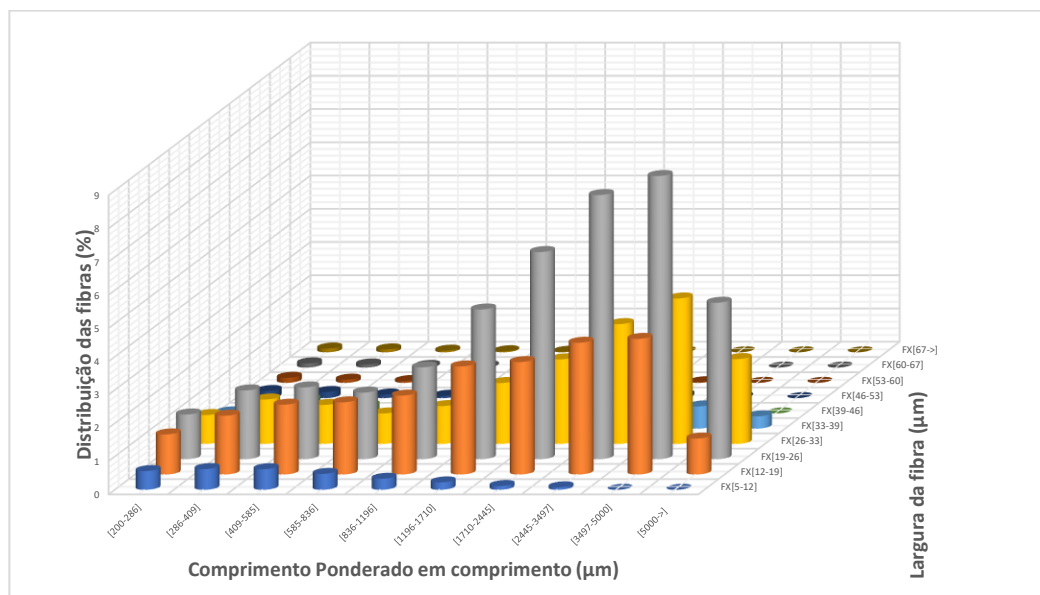


**Figura 4.8:** Distribuição das fibras cortadas obtidas por 1M de NaOH.

A partir da análise da Figura 4.8, a distribuição das fibras obtidas encontra-se principalmente nas escalas maiores de comprimento, principalmente nos intervalos 3497-5000 µm e comprimentos superiores a 5000 µm, o que demonstra os elevados comprimentos atingidos por estas fibras. A largura obtida destas fibras é mais constante em comparação com os diversos comprimentos

identificados, focando-se em escalas menores, principalmente entre 12-19  $\mu\text{m}$  e 19-26  $\mu\text{m}$ , sendo praticamente nula a presença de fibras com larguras superiores a 33  $\mu\text{m}$ .

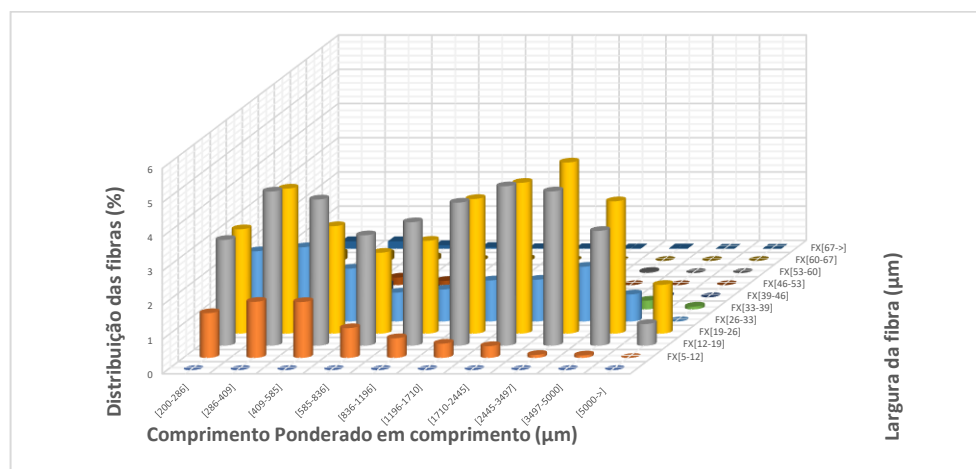
Na Figura 4.9 está representado a distribuição das fibras de cânhamo moídas obtidas a partir da mesma concentração de NaOH no licor de cozimento utilizada acima (1M).



**Figura 4.9:** Distribuição das fibras moídas obtidas por 1M de NaOH.

A partir da imagem da distribuição das fibras obtidas pela amostra moída sujeita à mesma concentração de reagente que a amostra cortada já apresentada é possível verificar que a distribuição é bastante similar para as duas amostras nesta concentração de NaOH, deste modo conclui-se que as fibras são preservadas durante a etapa de moagem e que não ocorre a sua degradação, mantendo-se uma elevada população de fibras de maior comprimento.

Para avaliar a deterioração das fibras com o aumento da concentração de NaOH no cozimento, a Figura 4.10, que corresponde à distribuição das fibras obtidas a partir da amostra moída.



**Figura 4.10:** Distribuição das fibras obtidas a partir da amostra moída utilizando maior concentração de NaOH.

Observa-se que grande parte das fibras de maior comprimento foram degradadas, levando a uma uniformidade dos intervalos de comprimento apresentados. Ainda, nota-se, comparativamente à Figura 4.7, um número bastante superior de fibras nos intervalos iniciais de comprimento (200-1196  $\mu\text{m}$ ). A largura das fibras, todavia sofre poucas alterações, sendo as fibras principalmente distribuídas pelos mesmos intervalos identificados anteriormente.

#### 4.4. Obtenção e caracterização das fibras de cânhamo tipo 2

Neste subtópico serão obtidas e avaliadas as fibras de cânhamo provenientes de outra fornecedora, possuindo como finalidade a sua utilização para fins têxteis. Visando a aplicação pretendida, os processos de extração foram otimizados para preservar o comprimento das fibras, de modo a obter fibras longas. O cozimento aplicado para obter as fibras decorreu igualmente por 180 minutos, embora tenha sido utilizado uma temperatura de 120°C. Foram utilizadas as concentrações mais baixas de licor de cozimento, 0,5 e 1M, de modo a evitar a degradação das fibras. As fibras obtidas irão ser caracterizadas e comparadas com as restantes. A preparação das amostragens ocorreu de forma similar as fibras tipo 1.

#### 4.4.1 Obtenção das fibras tipo 2 provenientes dos caules cortados

Os caules cortados de maior diâmetro foram denominados caules primários enquanto, que os caules mais finos (menor diâmetro) foram denominados caules secundários. Ambos os tipos de fibras obtidas, dos caules primários e secundários, apresentaram um baixo desfibrilamento, dado pelo baixo rendimento e elevado teor de incozidos. Este facto, indica, ao contrário do esperado, que as dimensões dos caules não interferem no poder de difusão do licor de cozimento. Nas amostragens analisadas, observou-se o fácil desfibrilamento das camadas externas dos caules, embora o interior dos mesmos permaneça-se inalterado, cuja estrutura mostrou-se mais rígida. Na Figura 4.11. estão representadas as fibras antes e após os processos de cozimento e branqueamento, estando presente no primeiro conjunto de imagens os caules primários e no segundo os caules secundários.



**Figura 4.11:** Processos de obtenção das fibras de cânhamo.

Na Tabela 4.8 seguinte, estão representados os rendimentos das fibras de cânhamo obtidas das amostras cortadas.

**Tabela 4.8:** Rendimentos obtidos para os caules de cânhamo cortados.

Amostras	Concentração de NaOH	Massa inicial (g)	Massa Final (g)	Rendimento (%)	Teor de Fibras (%)	Teor de Incozidos (%)
Caules Primários	1 M	20,2	13,12	64,95	20,61	79,39
Caules Secundários	0,5 M	20	14,19	71,27	23,6	76,4
	1 M	10,1	4,86	48,22	19,61	80,39

Os resultados indicam uma similaridade entre as condições efetuadas, adquirindo um rendimento ligeiramente superior a concentrações inferiores de licor de cozimento. Comparar ambos os ensaios efetuados a 1M de NaOH no licor de cozimento, obteve-se um teor de fibras semelhante para ambos os caules em estudo, concluindo que a sua separação não leva a uma melhora no rendimento, sugerindo que um processamento conjunto possa aplicado.

Em comparação com os resultados obtidos para fibras tipo 1, consolida-se a redução da concentração do licor de cozimento como um fator determinante na extração das fibras.

#### 4.4.2. Obtenção das fibras tipo 2 provenientes dos caules moídos

A fim de comparar os resultados obtidos para os caules cortados, recorreu-se ao cozimento das amostras moídas, efetuando a separação dos caules primários e secundários como descrito anteriormente. Na Tabela 4.9 estão presentes os rendimentos obtidos. Os teores de fibras e incozidos não foram determinados por dificuldades na separação do material.

**Tabela 4.9:** Rendimentos obtidos para os caules de cânhamo moídos.

Amostras	Concentração de NaOH	Massa seca inicial (g)	Massa seca Final (g)	Rendimento (%)
Caules Primários	1M	10,05	5,55	55,2
Caules Secundários	0,5M	20,04	12,97	64,71
	1M	20,05	11,56	57,66

Observou-se um rendimento inferior ao aumentar a concentração de NaOH no cozimento, resultado semelhante ao apresentado anteriormente para os caules cortados. Apesar do rendimento superior do cozimento dos caules secundários moídos a NaOH 1M, comparativamente aos caules cortados sob mesmas condições de cozimento, os rendimentos inferiores obtidos utilizando os caules moídos demonstram que existe uma perda de massa mais

acentuada no decorrer do cozimento. Isso se dá devido às pequenas dimensões do material de partida, mais suscetível à ação do licor de cozimento, que irá provocar a remoção de compostos como a lenhina e hemicelulose da estrutura fibrosa a uma extensão superior à ocorrida para os caules cortados.

De modo geral, os rendimentos sugerem, assim como já discutido anteriormente, que o processo não é rentavelmente favorecido pela separação dos caules primários dos secundários. Além disso, a diminuição da temperatura de cozimento de 140°C, utilizada para as fibras de tipo 1, para 120°C, para fibras tipo 2, levou à preservação das fibras de cânhamo, explicito nos rendimentos superiores obtidos.

#### 4.4.3. Caracterização das fibras de cânhamo tipo 2

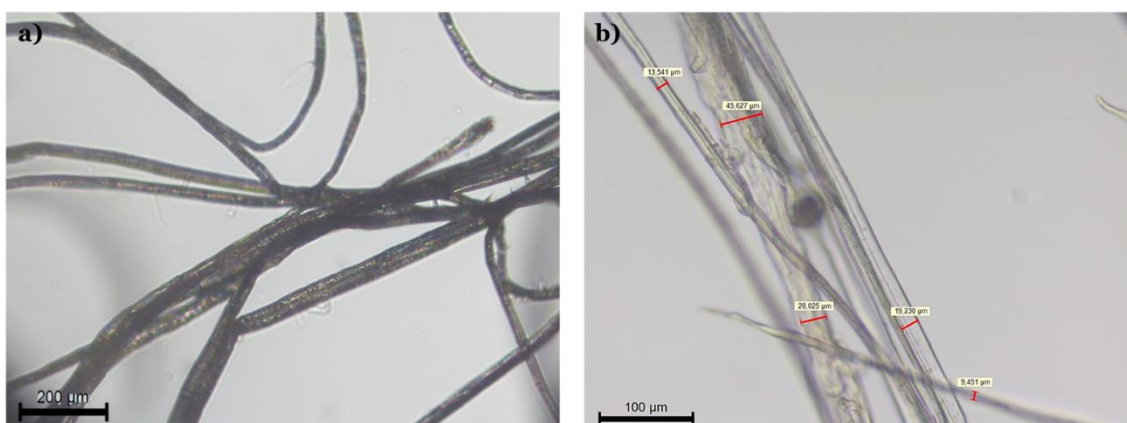
As fibras tipo 2 tinham por objetivo a manutenção de seu comprimento elevado, explorando sua destinação a aplicações têxteis, característica esta que pode ser verificada na Figura 4.12, que apresenta as fibras obtidas já branqueadas. Estas foram avaliadas quanto ao seu comprimento e largura, por microscopia ótica.



**Figura 4.12:** Fibras obtidas pelos caules cortados primários (NaOH 1M), à esquerda, e secundários (NaOH 0,5 M), à direita.

Na análise morfológica das fibras de cânhamo microscopia ótica (Figura 4.13) obteve-se uma largura média de 20,1  $\mu\text{m}$ , com fibras até 50  $\mu\text{m}$ , mostrando uma grande variedade de diâmetros. Os diâmetros das fibras obtidos foram superiores aos esperados, entretanto, de acordo com (Gregoire *et al.*, 2019) estas características não diminuem o potencial destas fibras, sendo necessário averiguar a sua rentabilidade numa escala industrial.

Devido ao elevado comprimento das fibras, recorreu-se à medição a partir de uma régua centimétrica, obtendo-se um comprimento médio de 5-10 cm. O comprimento máximo obtido foi de 15,5 cm, o que sugere que as fibras possuem utilidade têxtil, conforme pretendido.

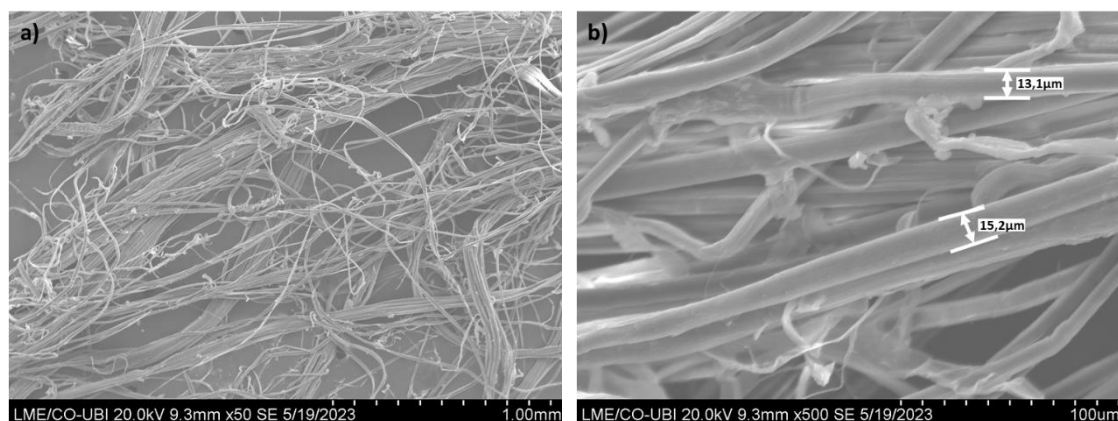


**Figura 4.13:** Imagens de microscopia ótica das fibras de cânhamo tipo 2, proveniente dos caules cortados a) primários ampliadas 40x, e b) secundários amplificadas 100x (NaOH 1M).

Tendo por base as imagens adquiridas, observa-se que o diâmetro das fibras não é afetado pelas diferentes condições de cozimento ou separação dos caules, não sofrendo grande variação entre as amostras obtidas.

#### 4.4.4. SEM das fibras de cânhamo tipo 2

As fibras de cânhamo do tipo 2 foram submetidas às análises de microscopia. Na Figura 4.14, estão representadas as imagens obtidas a 50x e 500x respetivamente.



**Figura 4.14:** Imagens SEM obtidas a partir das fibras de cânhamo sujeitas a ampliações de 50x (a) e 500x (b).

Na Figura 4.14 a) é possível verificar o elevado comprimento das fibras obtidas e alguns aglomerados. É possível identificar a largura das fibras, sendo estes valores semelhantes aos obtidos pela análise das fibras de cânhamo tipo 1 no MorFi. Para além disso, é possível verificar que as fibras não possuem fibrilação nem finos na superfície, o que comprova que os tratamentos aplicados não provocaram degradação da estrutura superficial das fibras.

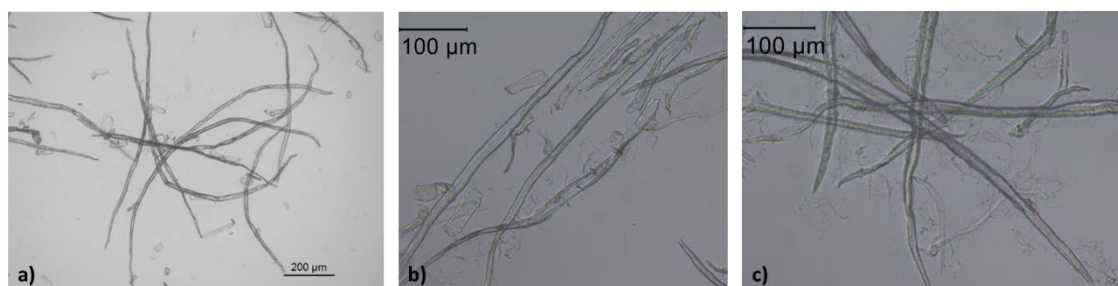
## 4.5. Avaliação das propriedades das estruturas de referência

### 4.5.1. Avaliação das fibras de Eucalipto e Pinho no microscópio ótico

A partir da análise das fibras das pastas branqueadas de eucalipto (Figura 4.15), e não branqueadas de pinho (SW) (Figura 4.16), utilizando o microscópio ótico, foi possível avaliar as fibras quanto ao seu comprimento, largura, grau de fibrilação, teor de fibras cortadas dobradas, entre outras características. As fibras de pinho possuem um comprimento superior as fibras de eucalipto, isto deve-se sobretudo à origem da matéria-prima (*softwood*) em estudo. Os processos de branqueamento aplicados às fibras de eucalipto, pode ter contribuído para a diminuição do grau de polimerização das fibras, levando diminuição do seu comprimento.

Para além disso as fibras de pinho possuem uma largura superior às fibras de eucalipto. É possível verificar a presença de finos nas fibras de *hardwood*, sendo estes produzidos a partir do

processamento da madeira, o que poderá contribuir para o decréscimo da resistência das estruturas produzidas. Ainda nas Figuras 4.15 e 4.16 estão representados os graus de refinação aplicados às fibras em estudo. As imagens correspondem às seguintes condições: a) sem refinação, b) com 3000 refinações e c) 6000 de revoluções.



**Figura 4.15:** Análise microscópica das fibras *hardwood* com o aumento da refinação.

É possível identificar o aumento do grau de fibrilação com o aumento do grau de refinação aos quais as pastas foram sujeitas. A largura das fibras sofre poucas alterações com a aplicação do refinamento mecânico. Relativamente ao comprimento das fibras, irá ocorrer a sua redução com o aumento das refinações.



**Figura 4.16:** Análise microscópica das fibras *softwood* com o aumento da refinação.

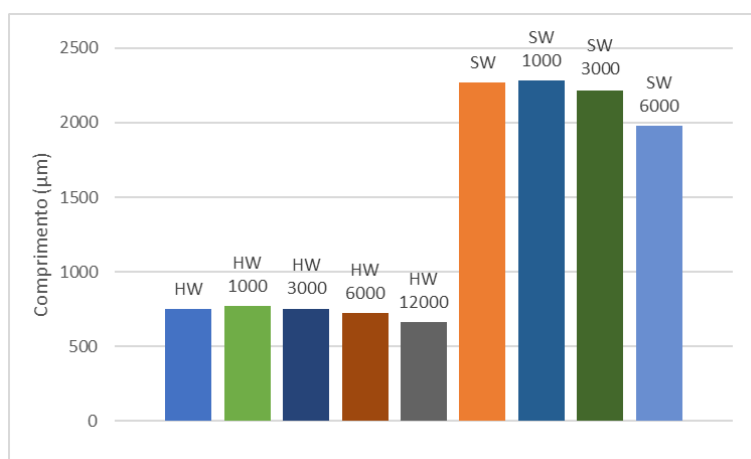
Identificou-se em c) um grau de fibrilação superior (*softwood* refinada a 6000 revoluções), contudo em b), esta apresenta pouca fibrilação. Nas fibras apresentadas, ocorreu a diminuição do comprimento, mantendo uma largura uniforme com o decorrer das refinações.

Comparando as fibras de eucalipto e pinho, a *softwood*, necessitam de um maior grau de refinação para atingir o mesmo grau de fibrilação das fibras obtidas de *hardwood*, possuindo assim visivelmente um menor grau de fibrilação a 3000 revoluções que as fibras de eucalipto. A 6000

refinações, já é possível visualizar um maior grau de fibrilação, embora ainda inferior ao obtido para as fibras de eucalipto.

#### 4.5.2. Avaliação da morfologia das fibras

As fibras branqueadas de *hardwood* apresentaram um comprimento médio de 749  $\mu\text{m}$ , inferior ao apresentado para as fibras provenientes de pinho (*softwood*) não branqueadas, com um comprimento médio de 2270  $\mu\text{m}$ , quando não sujeitas a refinação. Esse resultado está alinhado ao encontrado na literatura, sendo as fibras de *hardwood* mais curtas e finas em comparação às de *softwood* (Imken *et al.*, 2021). No anexo E, nas Tabelas E.1 e E.2 estão representadas as características de cada pasta e os dados referentes ao seu comprimento, largura, fibrilação, fibras dobradas e cortadas e população fibrosa, para a pastas não refinadas e refinadas. Na Figura 4.17 estão representados os comprimentos médios ponderados em comprimento das pastas de celulose caracterizadas ao longo deste estudo e a sua evolução com o aumento da refinação.



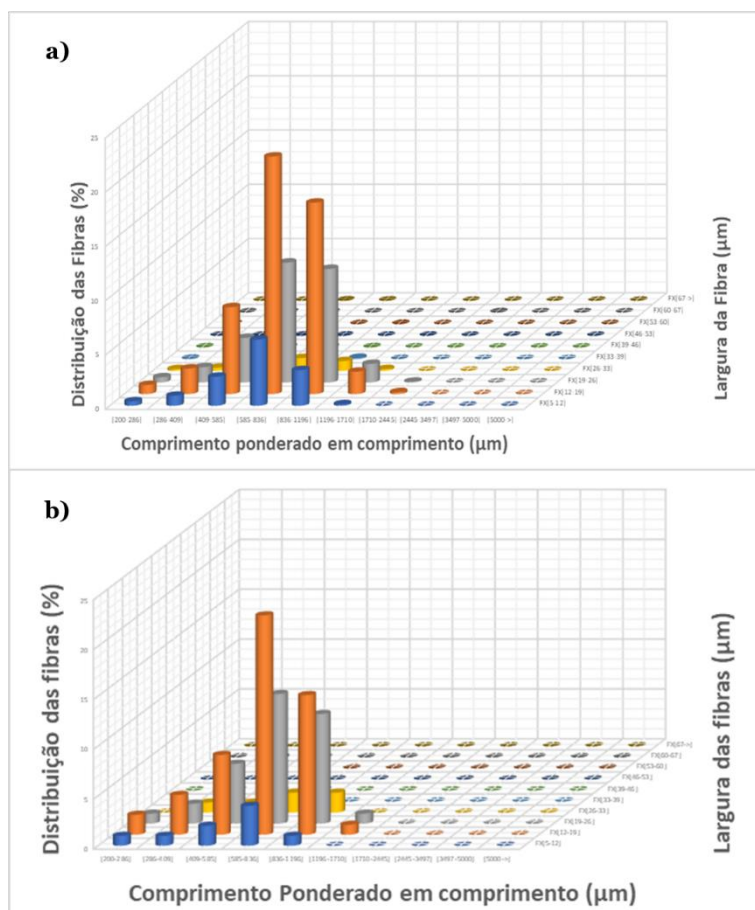
**Figura 4.17:** Comprimento médio das fibras de celulose de *hardwood* (HW), *softwood* (SW) sob tratamento mecânico a 1000, 3000, 6000, e 12000 revoluções.

Com base nos resultados, observa-se que os comprimentos de ambas as fibras diminuem com o aumento dos níveis de refinação aplicados, embora exista uma maior diminuição do comprimento nas fibras de *softwood*. Isto deve-se, principalmente, ao elevado comprimento inicial apresentado por estas fibras chegando a possuir 3 vezes maior comprimento que as fibras de eucalipto, de modo que o efeito do processo mecânico aplicado se torna mais evidente. A largura das fibras encontra-se identificada no anexo E.1 e E.2. Inicialmente, as fibras de pinho não branqueadas

possuem uma largura superior ( $27,2 \mu\text{m}$ ) às pastas de eucalipto branqueadas ( $15,5 \mu\text{m}$ ), e este parâmetro pouco se alterou com as refinações aplicadas.

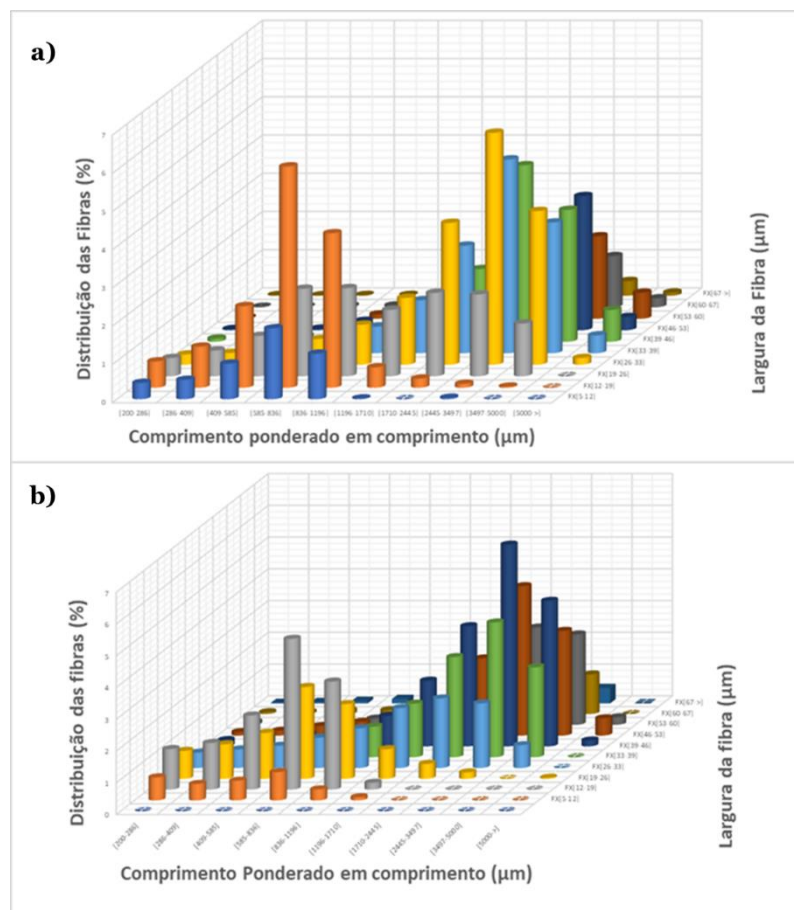
Nas pastas obtidas por mistura de *hardwood* e *softwood* evidencia-se o aumento do comprimento e largura das fibras à medida que a fração de *softwood* aumenta. O inverso é observado quando no aumento da fração de *hardwood*.

Nas figuras abaixo pode-se comparar a distribuição das fibras de eucalipto branqueada (Figura 4.18) e de pinho não branqueadas (Figura 4.19) em percentagem consoante os intervalos de comprimento e largura sem refinação e sujeitas a 6000 revoluções.



**Figura 4.18:** Percentagem de fibras consoante o intervalo de comprimento e largura para a fibra de *hardwood* a) sem refinação e b) refinada a 6000 revoluções.

A distribuição das fibras de eucalipto a 6000 revoluções apresenta-se principalmente nos menores intervalos de comprimento, possuindo grande parte das suas fibras nas gamas de comprimento de 585-1196  $\mu\text{m}$  e largura entre 12-26  $\mu\text{m}$ , comportamento também observado para a amostra sem refinação, o que indica que o processo não teve grande efeito nas dimensões da fibra.



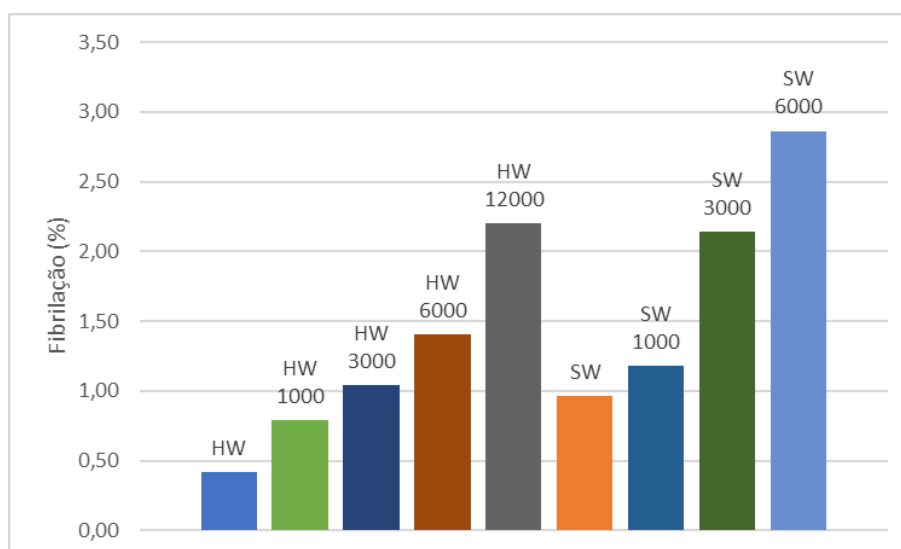
**Figura 4.19:** Percentagem de fibras consoante o intervalo de comprimento e largura para a fibra de *softwood* a) sem refinação e b) refinada a 6000 revoluções.

As fibras de pinho, por sua vez, apresentam uma variação maior quanto a distribuição das fibras, possuindo a maior quantidade relativa de fibras a comprimentos de 2445-5000  $\mu\text{m}$  em ambos os casos. Quanto à largura observa-se um pequeno incremento com a refinação, variando da escala de 26-46  $\mu\text{m}$  para 39-60  $\mu\text{m}$ .

Comparativamente às fibras de cânhamo tipo 1 obtidas, seu comprimento no intervalo de 1450-2720  $\mu\text{m}$  e largura na escala de 20-24  $\mu\text{m}$  aproximam-se das características morfológicas identificadas para as fibras de *softwood*, de comprimento médio de 2270  $\mu\text{m}$  e largura média de 27,2  $\mu\text{m}$ .

Estes resultados sugerem que as fibras de *softwood* podem ser substituídas pelas fibras de cânhamo, uma vez que apresentam características similares. As estruturas podem ser ainda otimizadas pela inclusão das fibras de cânhamo devido a seu elevado grau de fibrilação (sem refinação), que melhora as propriedades mecânicas da estrutura.

O grau de fibrilação das fibras de referência em estudo (SW e HW) foi um dos parâmetros que mais sofreu alteração mediante refinação. Na Figura 4.20 seguinte, estão representadas a evolução do grau de fibrilação destas fibras.



**Figura 4.20:** Grau de fibrilação das fibras de *hardwood* (HW), *softwood* (SW) sob refinação a 1000, 3000, 6000, e 12000 revoluções.

É possível visualizar um aumento do grau de fibrilação para ambos os tipos de fibras, atingindo o maior valor ao maior grau de refinação: (HW, 12000 e SW, 6000). Identificou-se um valor de 2,86% para as fibras de pinho a 6000 revoluções e 2,20% para as fibras de eucalipto obtidas a

12000 revoluções. Estas últimas possuem menor grau de fibrilação devido à maior rigidez estrutural apresentada por fibras de *hardwood* em comparação com às de *softwood*, de mais rápida e fácil fibrilação (He *et al.*, 2018).

Os resultados demonstraram que a morfologia das fibras tem uma influência significativa nas propriedades observadas no papel, especialmente do tipo *tissue*. As pastas no mercado destinadas a tal aplicação, com uma combinação de fibras longas com baixo teor de finos e rugosidade elevada, podem proporcionar um maior “*bulk*” e absorção de água. Fibras longas, com uma parede exterior fina, podem transferir força sem sacrificar significativamente a suavidade. Enquanto fibras mais curtas, possuindo menor rugosidade e menor conteúdo de finos, podem proporcionar mais suavidade (de Assis *et al.*, 2019). Neste sentido, uma combinação entre as fibras analisadas de *softwood* e *hardwood* com menores graus de fibrilação (teor de finos) pode resultar em estruturas cujo as características de resistência e suavidade requeridas para o papel *tissue* sejam atingidas pela sinergia de suas propriedades.

#### 4.5.3. Avaliação da drenabilidade da pasta utilizando o Grau Schopper-Riegler

O método Schopper-Riegler (°SR) tem como finalidade determinar o grau drenabilidade de uma pasta de fibras de celulose. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 4.10.

**Tabela 4.10:** Grau Schopper-Riegler das pastas sujeitas a diferentes refinações.

Amostras	°SR	Massa (g)
SW_MT_1	13	1,99
SW_MT_3	22	2,10
SW_MT_6	52	1,97
HW_MT_1	25	2,00
HW_MT_3	40	2,04
HW_MT_6	73	1,78
HW_MT_12	100	2,08

Este método não é recomendado para fibras extremamente curtas, como é o caso da *hardwood* refinada a 12000 revoluções, uma vez que os resultados mais fiáveis do °SR se encontram entre 10 e 90, e o resultado obtido apresentou-se no limite de medição do método.

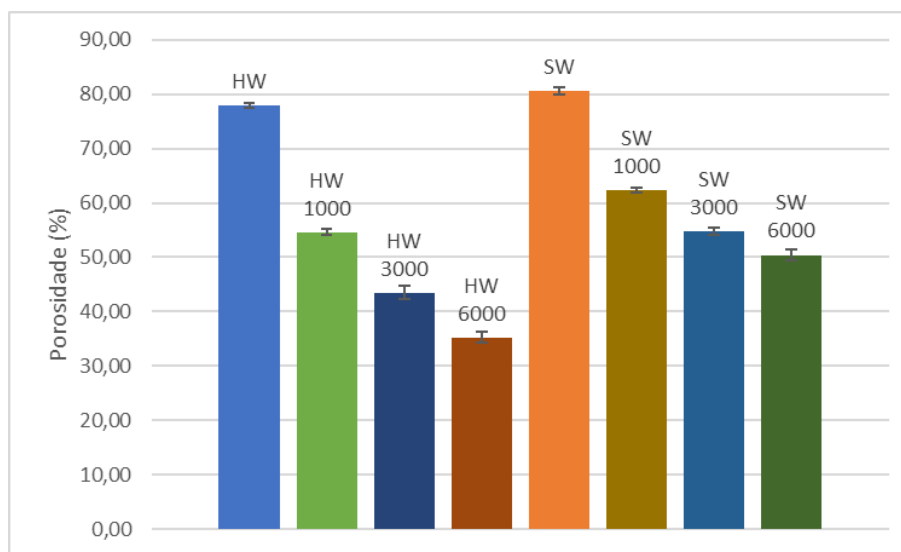
É possível observar que o grau Schopper aumenta com o incremento do grau de refinação das pastas, deste modo, os dados obtidos alinham-se com a teoria envolvida no processo de refinação. O aumento da fibrilação das pastas provoca um aumento da área superficial da fibra capaz de absorver água, representando assim uma maior drenabilidade a medida que o grau de refinação aumenta.

#### **4.5.4. Avaliação das propriedades estruturais e mecânicas**

As estruturas produzidas sem refinação apresentam algumas semelhanças quanto à densidade. A porosidade apresentada pelas fibras de *hardwood* branqueada (77,96%) é ligeiramente inferior às fibras de *softwood* não branqueada (80,59%), como é visível na Figura 4.14. Em relação às propriedades óticas, estas possuem seu maior diferencial quanto ao teor de brancura, obtendo 71,54% para a pasta branqueada e 24,94% para a pasta não branqueada, em contrapartida, a opacidade é superior para as estruturas não branqueadas. A opacidade obtida por Lal *et al.*, 2013 de 79,2 para a pasta branqueada, possui similaridade com o obtido nas estruturas de *hardwood* sem refinação.

Nas Tabelas E.1 e E.2, no anexo E, encontram-se as respectivas propriedades físicas das estruturas obtidas, sem refinação e com refinação respectivamente para os dois tipos de pasta em estudo. Ainda na tabela E.1, estão representadas as propriedades estruturais das misturas realizadas, encontrando-se em concordância com os resultados obtidos para as pastas individualmente.

Foi aplicada refinação mecânica as fibras em estudo e obtiveram-se melhores propriedades estruturais, dentre elas uma menor espessura. Devido a um maior empacotamento das fibras, causado pela maior área de ligação entre elas, observa-se uma diminuição na porosidade com o aumento do grau de refinação (Figura 4.21).



**Figura 4.21:** Evolução da porosidade à medida que grau de refinação das fibras aumenta.

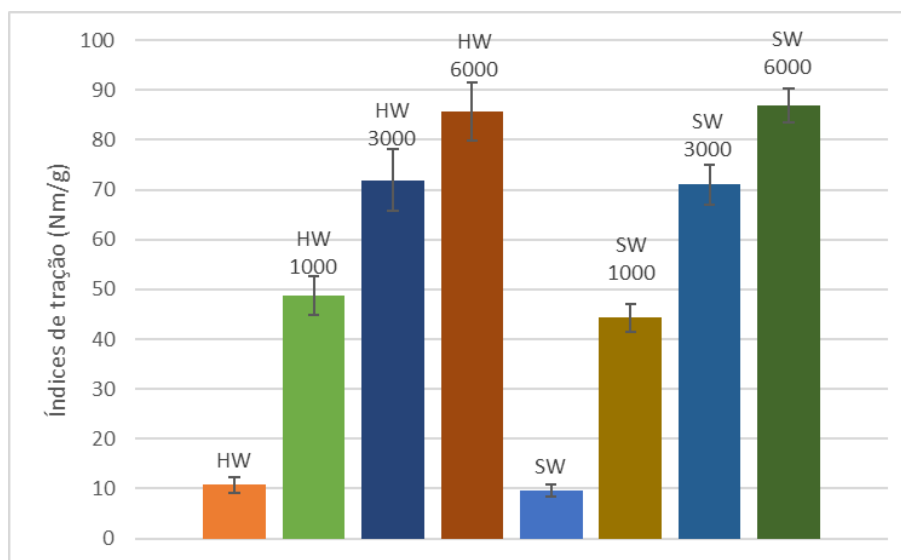
A porosidade é uma das características que mais se altera com a refinação mecânica das fibras. Inicialmente, as estruturas produzidas possuíam uma porosidade bastante elevada em ambas as matérias-primas. Com o aumento da refinação dá-se uma redução, que pode chegar até 30% com apenas 1000 revoluções para as fibras de eucalipto. A porosidade não decresce linearmente com o aumento da refinação aplicada, ocorrendo um decréscimo mais acentuado nas refinações inferiores, e mantendo uma linearidade após estas (redução mais constante do grau de porosidade). O valor mínimo de porosidade obtido foi de 35,2% a 6000 resoluções para as fibras de *hardwood*, valor próximo ao obtido (38,4%) por Martins *et al.*, 2018 para fibras de *E. globulus* microfibriladas.

As estruturas desenvolvidas pelas fibras de pinho, apresentam uma diminuição inferior quanto à sua porosidade em relação as estruturas de eucalipto, com uma diminuição de 22% de porosidade para o primeiro estágio de refinação (1000 resoluções), atingindo 50,4% de porosidade a 6000 resoluções. A redução da porosidade, embora seja benéfica no ponto de vista das propriedades mecânicas, apresenta-se como um efeito adverso quanto à retenção e difusão das moléculas nas estruturas de celulose.

A partir da análise das propriedades mecânicas das estruturas produzidas, adquiriu-se um índice de tração e módulo de elasticidade superiores para as estruturas compostas por eucalipto comparando-as com as obtidas com as fibras de pinho, ambas sem refinação. Isto deve-se

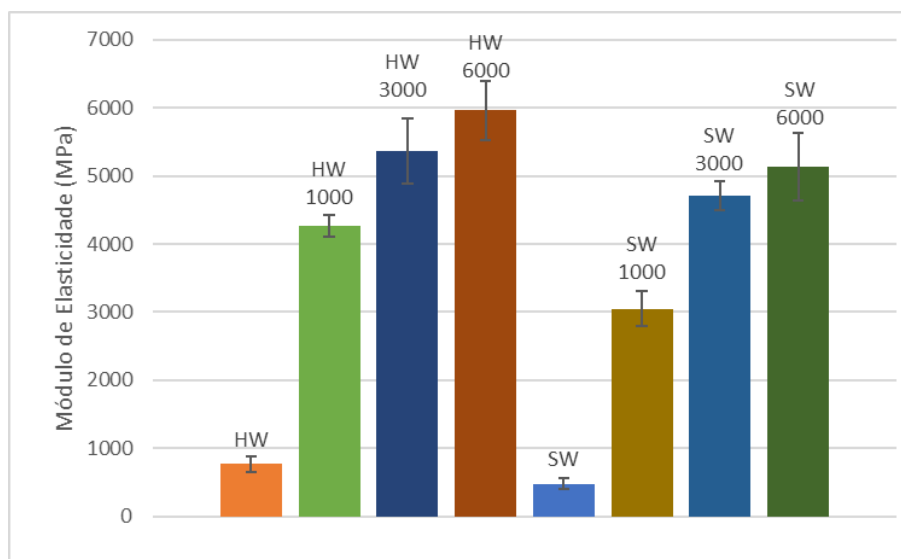
principalmente ao fator destas fibras terem sofrido mais métodos de processamento, como o branqueamento. Para além disso, devido a uma maior presença de finos e fibras cortadas, quando são produzidas as estruturas, ocorre um maior preenchimento dos espaços vazios, levando assim a uma maior compactação das estruturas em comparação com as estruturas compostas por fibras longas de pinho. Ao menor nível de refinação (1000) esse mesmo fenómeno ainda mostra-se influente sobre a resistência da fibra. Contudo, ao atingir um maior grau de fibrilação (3000 e 6000 revoluções), as fibras de SW adquiriram valores de índice de tração similares às HW, mostrando que o processo de refinação tem efeito positivo sobre as SW.

Na Figura 4.22 seguinte estão representados os índices de tração das estruturas produzidas e das respetivas refinações. A partir da Tabela G.1 representada no Anexo G, podemos avaliar os índices de tração e módulos de elasticidade ou Young das fibras em detalhe.



**Figura 4.22:** Índice de tração das estruturas fibrosas.

Na Figura 4.23, estão representados os módulos de elasticidade das estruturas produzidas, foram removidas as ilustrações das misturas produzidas devido a elevada proximidade dos valores adquiridos com obtidos para as estruturas individualmente.



**Figura 4.23:** Módulos de Elasticidade das estruturas fibrosas.

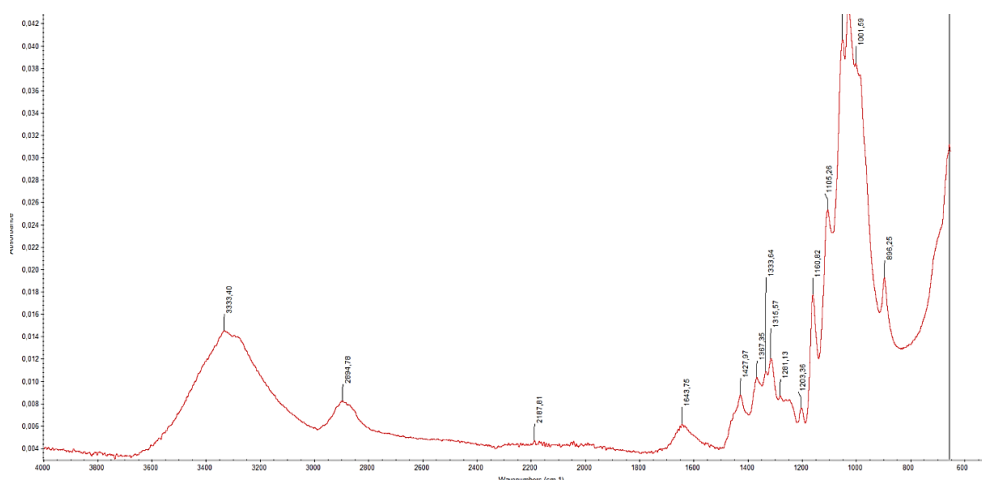
Em relação aos módulos de elasticidade obtidos, as estruturas produzidas a partir de fibra branqueada de eucalipto, apresentaram um módulo maior, contudo, esta diferença diminui com a refinação das fibras. Obteve-se um aumento de 5,5 vezes no módulo de elasticidade das estruturas de *hardwood* e cerca de 6,3 vezes para as estruturas provenientes de fibras de pinho, ambas com apenas 1000 revoluções no PFI. O aumento do módulo de elasticidade segue para os seguintes graus de refinação.

De modo geral, observa-se o aumento da resistência a tração e do módulo de elasticidade das estruturas produzidas, mantendo uma resistência superior para as estruturas produzidas a partir de *hardwood* em comparação com as estruturas obtidas a partir de *softwood*. Com as refinações, as fibras aumentaram a sua força no entanto, através da densificação do papel, a sua suavidade e absorção de água diminuiu consoante o aumento da fibrilação da superfície das fibras (de Assis *et al.*, 2019).

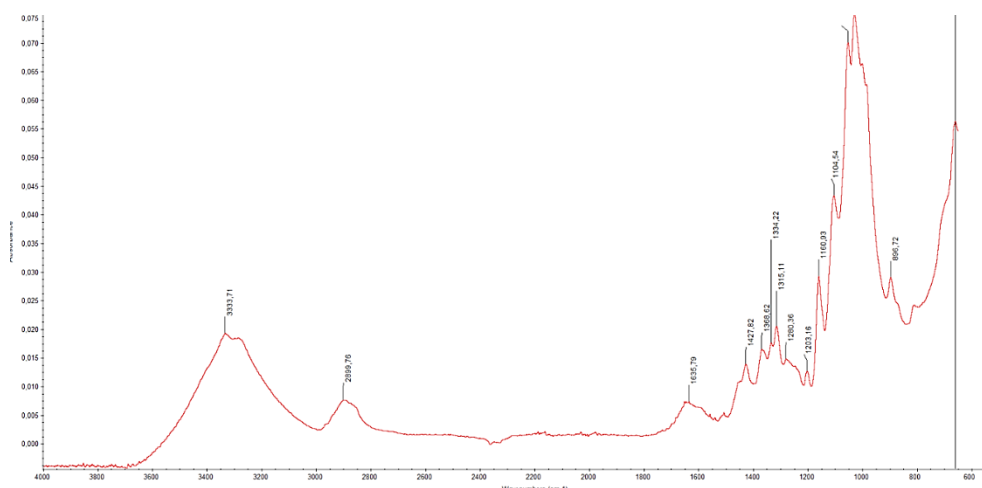
#### 4.5.5. Espectroscopia FTIR-ATR

As Figuras 4.24 e 4.25 apresentam os espectros FTIR-ATR para as folhas obtidas a partir das pastas de *hardwood* e *softwood*, respetivamente.

Nos espectros podemos encontrar duas regiões distintas, a zona informativa de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 2700  $\text{cm}^{-1}$  onde encontram-se o estiramento das ligações O-H e C-H e a região da impressão digital de 1800  $\text{cm}^{-1}$  a 800  $\text{cm}^{-1}$  na qual são representadas algumas vibrações e estiramentos de diferentes grupos presentes na moléculas que compõem a madeira (Carrillo *et al.*, 2018). A zona informativa é pouco explorada, pois tanto a celulose como a hemicelulose e a lignina possuem picos similares neste mesmo comprimento de onda devido a semelhanças em suas composições (Aguayo *et al.*, 2020).



**Figura 4.24:** Espectro FTIR-ATR da folha obtida a partir da pasta de *hardwood* branqueada.



**Figura 4.25:** Espectro FTIR-ATR da folha produzida a partir da pasta de *softwood* não branqueada.

Através da análise dos espectros acima é possível verificar o estiramento da ligação O-H a  $3333\text{ cm}^{-1}$  referentes aos grupos hidroxilo da celulose, hemicelulose e lenhina, e da água em ambas as amostras. A  $2894\text{ cm}^{-1}$  para a amostra de *hardwood* e  $2899\text{ cm}^{-1}$  para a amostra de *softwood*, correspondem ao estiramento da ligação C-H, podendo corresponder a grupos CH presentes nas moléculas de celulose, hemicelulose e lenhina.

As bandas a  $1643\text{ cm}^{-1}$  e  $1635\text{ cm}^{-1}$  encontram-se na zona de estiramento C=C, correspondente aos anéis aromáticos presentes na lenhina. Embora a banda observada para a amostra branqueada apresente menor intensidade, a diferença não é significativa em comparação à amostra não branqueada. Esse fato pode ser justificado pela presença, ainda que em menor quantidade, de lenhina na amostra de *hardwood* (branqueada), ou ainda de uma contribuição do estiramento C=O presente na hemicelulose, que ocorre próximo aos  $1700\text{ cm}^{-1}$ . O espectro da Figura 4.24 apresenta um pico, ainda que discreto, aos  $1500\text{ cm}^{-1}$  que, assim como o citado anteriormente, também pode ser atribuído ao estiramento C=C do anel aromático da lenhina. A evidência dessa banda mostra-se como o único diferencial entre os espectros nesta zona de impressão digital, contudo, não pode ser conclusivo devido a sua baixa intensidade.

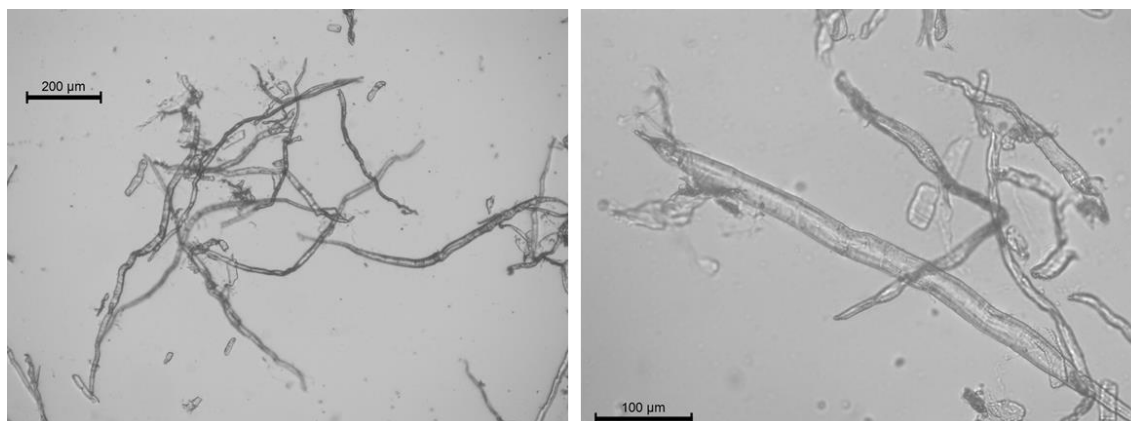
Analisando a zona correspondente a impressão digital, podemos verificar uma semelhança expressiva de ambos os espectros. Os picos a  $1427\text{ cm}^{-1}$  de ambos representam a vibração das ligações  $\text{CH}_2$  da celulose tipo I. As bandas a  $1367\text{ cm}^{-1}$  e a  $1368\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas à vibração C-H, característica da celulose I, II e hemicelulose. A  $1160\text{ cm}^{-1}$  encontra-se o estiramento da ligação C-O-C típico da celulose I e II. A banda a  $896\text{ cm}^{-1}$  de ambos os espectros correspondem a vibração C-H da celulose II e amorfa.

## **4.6. Avaliação das características do papel *tissue* industrial**

Neste subtópico foram avaliadas as propriedades do papel *tissue* escolhido para o sistema final de retenção das moléculas de interesse, bem como algumas misturas efetuadas com as fibras de cânhamo obtidas e algumas considerações finais sobre a percentagem ideal de cada uma delas.

### **4.6.1. Morfologia das fibras**

As fibras do papel *tissue* industrial (PI) foram analisadas separadamente a partir de microscopia ótica e as imagens geradas seguem na Figura 4.26.



**Figura 4.26:** Fibras de PI no microscópio ótico, com 40x (esquerda) e 100x (direita) de ampliação.

Da análise das figuras acima, observa-se que as fibras possuem um comprimento reduzido em comparação com as fibras de cânhamo obtidas anteriormente, sendo possível notar uma grande presença de finos e fibras cortadas, contribuindo assim para a diminuição do comprimento médio das fibras. É possível verificar na segunda imagem alguma fibrilação, que irá contribuir para uma maior interação entre as fibras quando estas se encontram sobrepostas em uma matriz celulósica.

Através do MorFi analisou-se as fibras do papel *tissue* industrial (PI) e de duas misturas contendo 99% de fibras de PI e 1% de fibras de cânhamo (HP), e outra com 90% de PI e 10% de HP. A segunda mistura foi sujeita a uma refinação de 1000 revoluções (90:10\_PI:HP\_1000).

Na Tabela 4.11 seguinte seguem as características obtidas, dados que serão utilizados na programação computacional para simular as estruturas e posteriormente obter informações adicionais sobre estas.

**Tabela 4.11:** Propriedades morfológicas do PI e das fibras cânhamo.

Fibra Nome	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Massa linear (mg/m)	Curvatura (%)
PI	724	17,4	0,0832	15,332
99:1_PI:HP	702	17,6	0,0839	15,117
90:10_PI:HP	744	18	0,0814	14,918
90:10_PI:HP_1000	753	18,5	0,0862	11,658

Os comprimentos obtidos para todas as amostras coincidem com a faixa de dimensões encontrada para as fibras de *hardwood* (720-780  $\mu\text{m}$ ). Os demais parâmetros também apresentaram valores com grande similaridade com aqueles obtidos para as fibras de eucalipto, possuindo apenas uma maior torção das fibras, o que irá contribuir para uma estrutura menos interligada, provocando um incremento nas propriedades de volume e porosidade das estruturas produzidas (Foelkel, 2009).

Com o aumento da fração de fibras de cânhamo tipo 1 dá-se o aumento do comprimento e da largura (em menor escala) das fibras, sendo o maior valor obtido com 10% de fibras de cânhamo. Frente aos parâmetros relacionados à dimensão, as fibras refinadas não apresentaram a redução esperada no comprimento, indicando um baixo nível de refinação no processo realizado e possivelmente devido à heterogeneidade das amostras utilizadas para produção das estruturas.

Um discreto aumento da massa linear é observado para a estrutura refinada, sendo este fator determinante para a maciez do papel. Outro efeito observado diz respeito à redução da curvatura das fibras, o que sugere uma menor porosidade no material (a ser caracterizado e discutido adiante). Deste modo foi possível adquirir melhores propriedades para esta estrutura através da mistura de fibras de PI e cânhamo e sua refinação com melhorias nos aspectos essenciais pretendidos para a aplicação em estudo.

#### **4.6.2. Propriedades físicas e óticas**

A caracterização foi efetuada de acordo com os métodos padrão descritos anteriormente no Capítulo 3. Na Tabela 4.12 estão representadas as propriedades do papel em estudo para as respectivas gramagens: a 30 g/m<sup>2</sup> (PI\_30) e 60 g/m<sup>2</sup> (PI\_60). Além das folhas contendo apenas papel *tissue*, realizou-se duas misturas, uma de modo a avaliar o comportamento e características das fibras após este processo.

**Tabela 4.12:** Características físicas e óticas das estruturas produzidas pelo papel industrial.

	PI_30	PI_60	99:1_PI:H P	90:10_PI: HP	90:10_PI: HP_1000
Gramagem (g/m <sup>2</sup> )	30,79	62,79	62,86	64,04	58,48
Desvio Padrão	0,26	0,5	0,32	2,15	0,658
Espessura (mm)	0,087	0,168	0,168	0,181	0,119
Desvio Padrão	0,005	0,005	0,009	0,027	0,007
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	0,35	0,37	0,37	0,35	0,49
Desvio Padrão	0,02	0,01	0,01	0,03	0,01
Porosidade (%)	76,36	75,12	75,02	76,15	66,69
Desvio Padrão	1,01	0,46	0,63	210	0,81
Brancura (%)	56,81	71,35	71,15	69,51	61,69
Desvio Padrão	0,49	0,23	0,18	0,55	0,69
Opacidade	66,47	82,19	82,13	82,89	76,83
Desvio Padrão	0,45	0,23	0,32	0,83	0,9

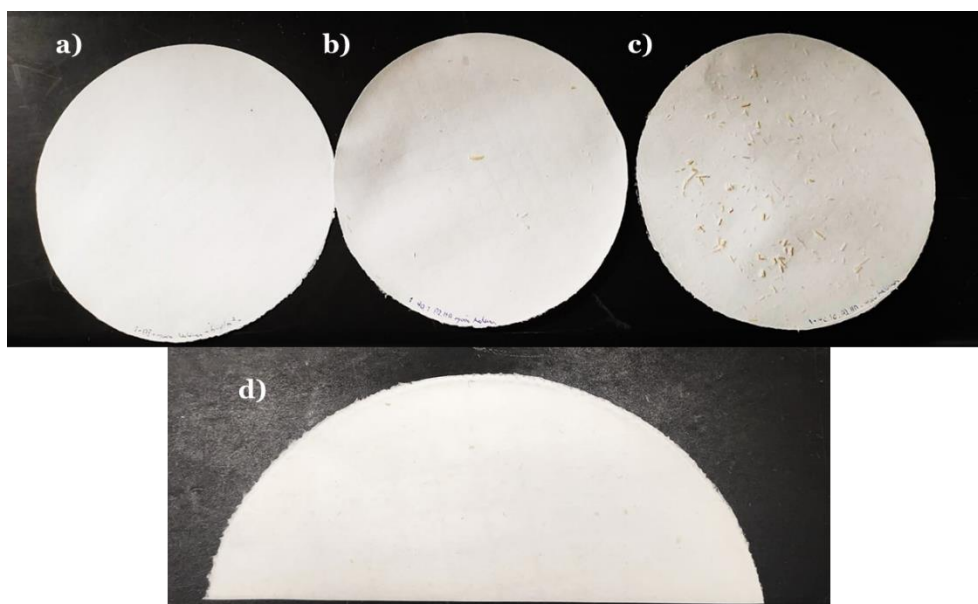
Os resultados adquiridos para o papel *tissue* industrial a 60 g/m<sup>2</sup> são semelhantes ao obtido para as estruturas de *hardwood* sem refinação à mesma gramagem. A porosidade das estruturas apresentou variação apenas na amostra que sofreu um processo de refinação, evidenciado por uma redução de aproximadamente 11,2% comparado ao resultado apresentado pela matriz PI\_60. Este resultado mostra-se adverso frente à aplicação pretendida, pois uma maior porosidade permite um aumento da retenção de moléculas ativas. Entretanto, o valor de porosidade obtido (66,69%) a 1000 resoluções encontra-se acima do máximo (63%) reportado por Martins *et al.*, 2018 para sistemas de entrega de fármacos feitos a partir de celulose microfibrilada.

Alinhado a esse fator, após a refinação, obteve-se uma estrutura mais densa, indicada pelo aumento de 0,36 g/cm<sup>3</sup> para 0,50 g/cm<sup>3</sup> na densidade da folha. O aumento da flexibilidade das fibras e diminuição da espessura da estrutura resultantes da aplicação da refinação por métodos mecânicos levou a uma maior densificação da estrutura, evidenciada na Tabela 4.12, onde 90:10\_PI:HP\_1000 apresenta uma espessura quase 30% inferior à matriz referência (PI\_60). Este resultado mostra-se positivo, pois, de acordo com o estudo realizado por Hallik *et al.*, 2015, os poros presentes em estruturas menos espessas tendem a apresentar menor diâmetro. A diminuição da dimensão dos poros pode relacionar-se com uma maior área de superfície para

retenção de ativos e contribuir para a sua cinética de liberação, aumentando o tempo de retenção das moléculas junto à matriz celulósica.

Obteve-se uma redução da brancura devido à incorporação de fibras de cânhamo (dos iniciais 71,35% para 69,51%), ainda mais pronunciada após refinação (61,69%). A opacidade das estruturas aumentou com maior gramagem, mantendo-se aos 82 aos diferentes teores de fibras de cânhamo introduzidos, sofrendo uma redução de 7,3% após refinação.

Na Figura 4.27, é possível verificar a diminuição do grau de brancura e da suavidade das folhas obtidas com o aumento da percentagem de fibras de cânhamo da segunda folha. As estruturas a 10% de cânhamo apresentam-se menos uniformes nesta imagem, fator que foi melhorado após o processo de refinação.



**Figura 4.27:** Estruturas obtidas a partir das fibras de PI e misturas com as fibras de cânhamo.

a) PI\_60; b) 99:1\_PI:HP; c) 90:10\_PI:HP e d) 90:10\_PI:HP\_1000.

### 4.6.3. Propriedades mecânicas

A produção de matrizes celulósicas por meio da mistura de fibras de cânhamo ao papel *tissue* de referência teve por objetivo aumentar, dentre outros fatores, as propriedades mecânicas das estruturas, garantindo maior resistência durante sua aplicação pelo consumidor final. Na Tabela

4.13 estão representados os módulos de elasticidade e do índice de tração obtidos para as estruturas produzidas.

**Tabela 4.13:** Propriedades mecânicas das estruturas de PI e cânhamo.

	PI_30	PI_60	99:1_PI:HP	90:10_PI:HP	90:10_PI:HP_1000
<b>Índice de tração (Nm/g)</b>	15	30,8	14,5	10,7	50,0
Desvio Padrão	1	1,4	0,072	0,077	3,4
<b>Módulo de Elasticidade (MPa)</b>	1719,81	1650,43	856,82	731,7	2318,94
Desvio Padrão	59,85	76,04	58,09	75,3	185,79

A partir da análise da tabela acima, observa-se que a incorporação das fibras de cânhamo sem refinação resultou em estruturas pouco uniformes, o que resultou em um prejuízo na interação entre os compostos da matriz e contribuiu para um decréscimo do índice de tração e módulo de elasticidade das estruturas, isto é, a força necessária para deformar o material reduziu de 2 a 3 vezes com a incorporação de 1% e 10% de fibras de cânhamo.

Após aplicar a refinação mecânica de 1000 revoluções, obteve-se uma estrutura mais uniforme, capaz de suportar uma força superior (50,0 Nm/g) para atingir a deformação permanente do material em estudo comparativamente ao PI puro de mesma gramagem. O aumento da interação entre as fibras de papel *tissue* e cânhamo também apresentou um aumento da força necessária para provocar a deformação do material, isto é, observou-se um incremento da resistência deste pelo aumento do módulo de elasticidade de 1650,43 MPa (PI\_60) para 2318,94 MPa (90:10\_PI:HP\_1000).

Deste modo, identifica-se que a incorporação das fibras de cânhamo à matriz celulósica 3D sob refinação podem servir como reforço à estrutura, otimizando assim suas propriedades mecânicas.

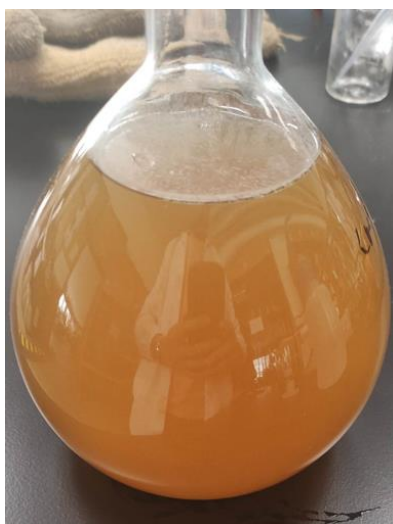
## 4.7. Retenção das moléculas ativas em matriz celulósica

O protótipo de DDS dérmico foi desenvolvido utilizando as fibras de origem industrial de papel tipo *tissue*, tido como material de referência devido as suas características compatíveis à aplicação pretendida. O principal objetivo desta etapa do estudo consistiu em obter uma estrutura de base

celulósica capaz de substituir os sistemas de entrega de fármacos atuais provenientes de fontes não biodegradáveis.

O chá formulado para impregnação (Figura 4.28) contendo 1g de chá verde de *Camellia sinensis* L. e 1g de flores de *Cannabis sativa* L. apresenta compostos de propriedades antioxidantes, como o ácido palmítico, de ação anti-inflamatória e analgésica, como o  $\beta$  linalol, e a cafeína, um poderoso agente estimulante, dentre outros. Esses compostos, quando inseridos em um sistema de entrega atribuem ao produto elevado valor de mercado. A capacidade de retenção das moléculas ativas identificadas é fator determinante para a avaliação da efetividade da matriz desenvolvida.

Num sistema industrial, a solução impregnada é reutilizada, recorrendo a sua recirculação e respetivo enriquecimento com as novas moléculas ativas, constituindo assim um sistema fechado.



**Figura 4.28:** Solução de chá verde e canábis.

Na Figura 4.29, está representada a estrutura fibrosa composta pelas fibras da pasta *tissue* obtida da indústria, utilizando uma gramagem de 120 g/m<sup>2</sup> antes e após a impregnação das moléculas ativas.



**Figura 4.29:** Estrutura fibrosa obtida antes (à esquerda) e após (à direita) a impregnação com as moléculas ativas do chá.

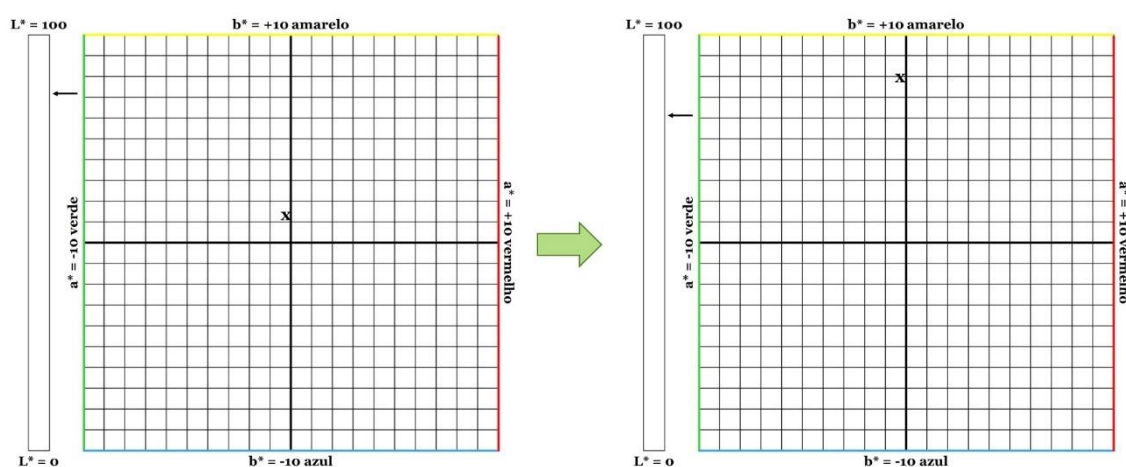
Após a impregnação das estruturas foi possível identificar o odor dos terpenos característico da flor de cânabis, e uma coloração que difere bastante da original. Para a identificação da variação da cor apresentada, tal como da retenção das moléculas, efetuou-se ensaios das propriedades óticas da estrutura.

A brancura da folha com as moléculas impregnadas foi de 51,9%, inferior ao valor adquirido para as folhas iniciais, antes da impregnação (75,12%). Este resultado sugere, de maneira indireta, que as moléculas ativas de polifenóis e ácidos orgânicos presentes no chá, e responsáveis por sua coloração encontram-se retidas na estrutura. Alguns estudos apresentam metodologias semelhantes de detecção de compostos em papel usando métodos colorimétricos baseados na variação de cor do substrato, processando as imagens digitalizadas através de *softwares* de medição de intensidade colorimétrica como o *Image J* (Sahu *et al.*, 2021; Tarara *et al.*, 2022).

Cristea *et al.*, 2021, estudou a oxidação de compostos ativos, como polifenóis, carotenoides e ácidos orgânicos, utilizando os parâmetros de cor CIELab. O referido método de espaço de cores CIELab foi utilizado para análise da variação na coloração da matriz. A Figura 4.30 mostra a comparação da amostra do papel *tissue* industrial antes e após a impregnação e retenção das moléculas. Na Tabela 4.14 estão representadas as coordenadas obtidas para as respectivas amostras.

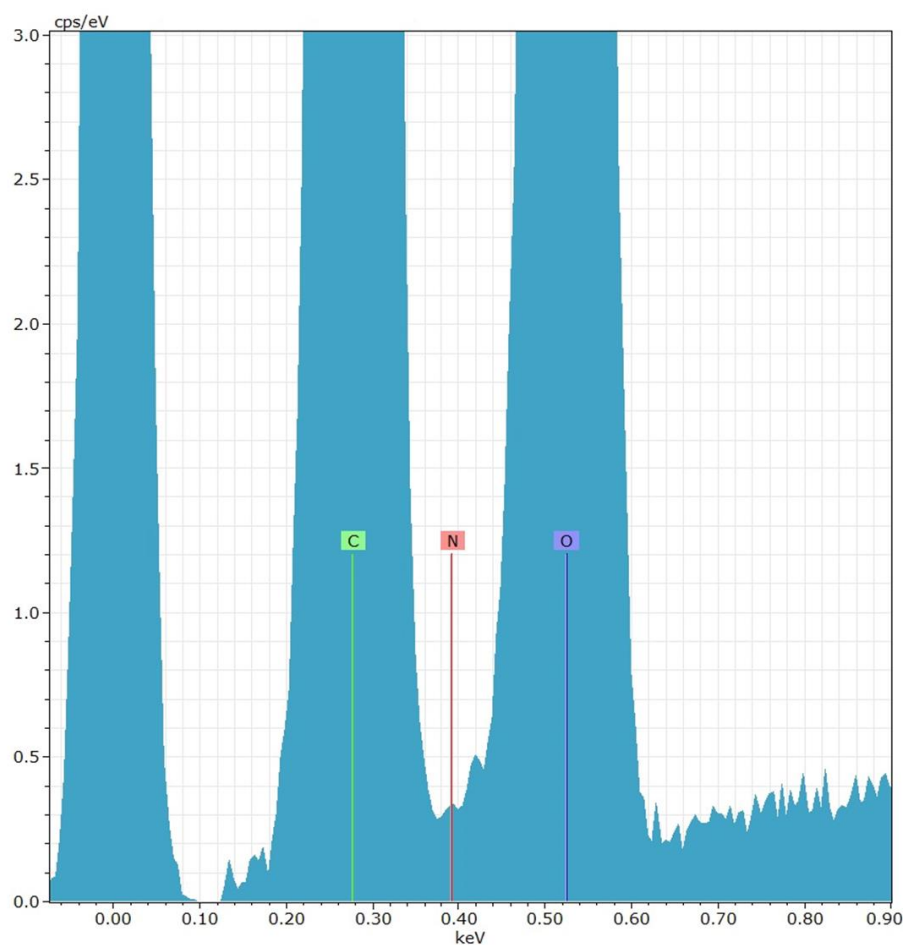
**Tabela 4.14:** Coordenadas das amostras e os respectivos desvio padrão.

		L*	a*	b*
Papel <i>Tissue</i> Industrial	Média	88,43	-0,4	1,33
	Desvio Padrão	0,123	0,032	0,179
PI + Chá Verde +Flor de Canábis	Média	82,89	-0,43	8,12
	Desvio Padrão	0,499	0,062	0,189

**Figura 4.30:** Análise da cor predominante das estruturas no sistema CIELab.

Foi possível verificar uma projeção para a zona amarela do gráfico, em concordância com a coloração obtida para as soluções de chá nas medições do espectro de absorção na região do UV-Vis, assim como da solução utilizada para impregnação. A intensificação do amarelo foi de 6 vezes em relação a amostra inicial, de acordo com os dados da Tabela 4.14. As restantes cores sofreram poucas alterações, mantendo-se na mesma escala.

A análise elementar da matriz celulósica por EDX foi realizada como uma alternativa à identificação da efetividade da retenção das moléculas ativas. O DDS produzido é composto exclusivamente por fibras de celulose, sendo esta composta por moléculas que contém carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O). Dentre as moléculas ativas, o único composto diferencial identificado é a cafeína, que possui o elemento nitrogênio (N). Deste modo, tencionou-se identificar a cafeína na superfície do DDS por EDX (Figura 4.31).



**Figura 4.31:** Espectro da análise por EDX da amostra de papel *tissue* impregnada com chá verde e de canábis.

O pico evidenciado próximo aos 0,40 KeV é caracterizado como proveniente do nitrogénio, entretanto, por se tratar de um método de análise de superfície e pela baixa incidência de compostos nitrogenados na amostra, não foi possível considerar tal deteção significativa, sendo mais evidente a ocorrência de elementos constituintes da celulose e dos restantes ativos como carbono e oxigénio. Para além disso, foi identificado em menor escala em zona não apresentada na figura acima o elemento alumínio, que pode corresponder aos sais deste metal comumente presentes no solo e caracterizados em culturas biológicas, como as de estudo. Um fator importante observado foi a ausência de metais pesados, principalmente mercúrio, que poderia inviabilizar a aplicação da matriz para fins medicinais.

#### 4.7.1. Retenção do Hidrolato na estrutura de Micro/nanocelulose

Devido à sua baixa densidade e morfologia típica, caracterizada principalmente pela elevada área de superfície, a micro/nanocelulose apresenta-se como um material ideal para melhorar as propriedades mecânicas de estruturas celulósicas, sendo comumente utilizadas como aditivos de reforço (Silva *et al.*, 2020; Wulandari *et al.*, 2016).

Com o objetivo de analisar, em caráter de exploração, a estrutura fibrosa e o poder de retenção da micro/nanocelulose, produziu-se uma matriz a partir da refinação mecânica da *hardwood* a 12.000 revoluções, que devido ao seu reduzido comprimento, apresenta condições favoráveis para retenção de moléculas. Neste processo foi utilizado 500 mL de hidrolato, proveniente da hidrodestilação de canábis e hortelã. A impregnação das moléculas ativas ocorreu num funil de Büchner com o auxílio de uma bomba de vácuo.

Foram realizados 2 ensaios, no primeiro a amostra foi duplamente filtrada maximizando a retenção das moléculas presentes no hidrolato. O segundo ensaio foi obtido utilizando apenas uma filtração, ambos os ensaios estão representados na Figura 4.32.

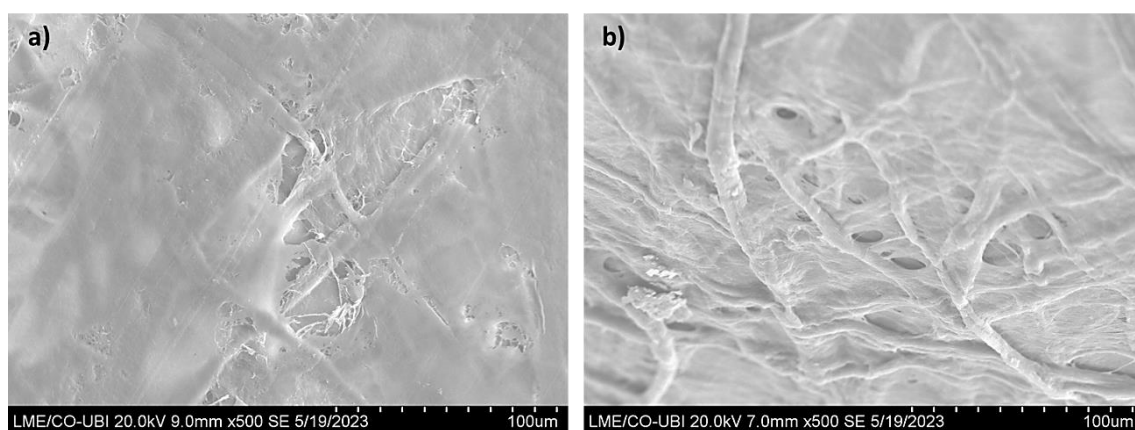


**Figura 4.32:** Retenção das moléculas do hidrolato na micro/nanocelulose.

Apesar do aspeto geral das folhas, é possível verificar uma intensificação da coloração característica do hidrolato no ensaio de dupla filtração, deste modo, utilizando um método semi-contínuo, a impregnação das moléculas pode atingir um desempenho superior, reduzindo o desperdício de moléculas ativas e minimizando os gastos de água vinculados a este processo.

Recorreu-se à microscopia eletrónica de varrimento para verificação da conformação, distribuição e características superficiais e morfológicas das fibras após uma exaustiva refinação mecânica para obtenção da estrutura de micro/nanocelulose. A análise das imagens geradas permitiu avaliar o potencial da fibra na sua utilização como aditivo no desenvolvimento de DDS e identificar, a um certo grau, características necessárias para o desenvolvimento das simulações computacionais para as estruturas, que serão apresentadas futuramente.

Na Figura 4.33 estão representadas as imagens obtidas, em a) o plano inferior (X, Y) da estrutura obtida e em b) o corte transversal (plano Z), correspondendo à espessura.

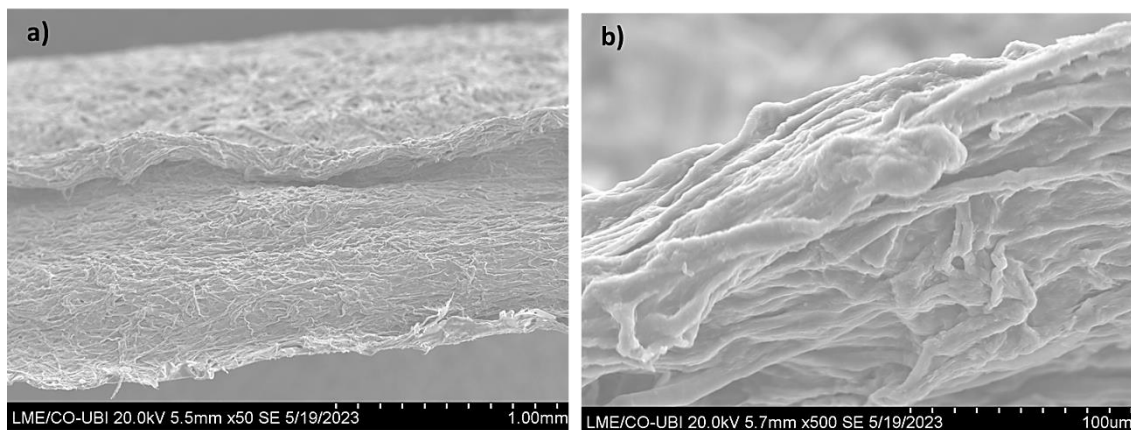


**Figura 4:33:** Imagens SEM obtidas a partir das fibras de micro/nanocelulose sujeitas a ampliações de 500 vezes.

A partir da análise da Figura 4.33 a), é possível verificar uma extensa área ordenada, de elevado grau de ligação entre as fibras. A estrutura produzida possui baixa porosidade, constituindo uma matriz de fibras totalmente homogénea. Da análise da Figura 4.33 b), na qual está representado o plano “Z” ou a espessura da matriz desenvolvida, é possível verificar uma menor homogeneidade, embora ainda possua pouquíssimos espaços vazios, comprovando a elevada área de ligação entre as fibras, uma vez que estas possuem um grau de fibrilação extremo, não sendo por vezes possível identificar as fibras isoladamente.

#### 4.7.2. Sistema de entrega de moléculas de micro/nanocelulose

Adicionalmente prosseguiu-se à análise do sistema de entrega desenvolvido contendo as moléculas ativas do hidrolato (Figura 4.34), de modo a avaliar possíveis alterações na estrutura produzida a partir do corte transversal (plano Z).



**Figura 4.34:** Imagens SEM obtidas a partir da análise da espessura do DDS produzido de micro/nanocelulose sujeitas a ampliações de 50 vezes em a) e 500 vezes em b).

Na Figura 4.34 a), é possível identificar a separação das duas estruturas produzidas, na camada superior, a estrutura constituída por micro/nanocelulose, não tão ordenada e linear como a estrutura inferior, constituída pelo papel de filtro, mais organizada devido ao elevado processamento requerido para este tipo de material. Na Figura 4.34 b), encontra-se a imagem da espessura do DDS (camada da micro/nanocelulose), na qual é possível verificar o colapso das fibras, devido ao elevado grau de refinação aplicado, em linha ao descrito previamente, antes da impregnação do hidrolato. Deste modo, verifica-se que a presença das moléculas ativas não altera consideravelmente a estrutura produzida.

## 4.8. Modelação e Simulação computacional das fibras e das estruturas

### 4.8.1. Modelação e Simulação das estruturas obtidas experimentalmente

A partir dos resultados obtidos pela caracterização das fibras em estudo, selecionaram-se as variáveis de entrada importantes para a construção do modelo 3D. Uma vez que, no simulador o comprimento das fibras é representado por voxéis é necessário converter as dimensões reais. Na Tabela 4.15, estão representadas as conversões utilizadas na simulação. Nestas simulações foi considerado um comprimento de 20  $\mu\text{m}$  por cada voxel, podendo este valor ser alterado. Através do estabelecimento dos parâmetros de modelação iniciou-se a simulação das diversas estruturas produzidas laboratorialmente.

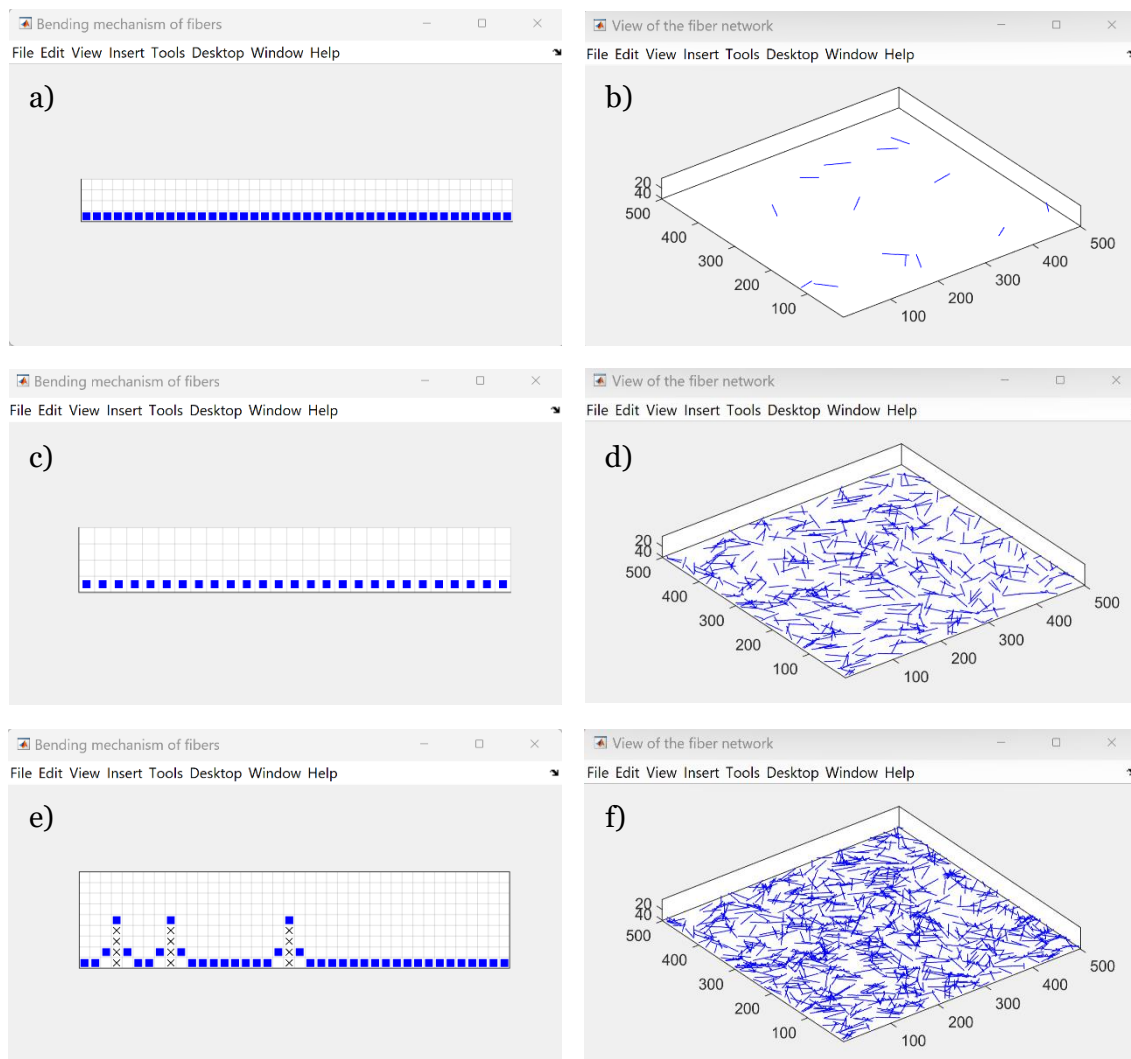
**Tabela 4.15:** – Conversão do comprimento médio ponderado em comprimento ( $\mu\text{m}$ ) em voxéis para as fibras de *hardwood* (HW), *softwood* (SW), cânhamo tipo 1 (HP) e micro/nanocelulose (HW\_MT\_12000).

Material Fibroso	Comprimento médio ponderado em comprimento ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento de um voxel ( $\mu\text{m}$ )	Input comprimento das fibras (nº voxéis)
HW	800	20	40
SW	2 000		100
HP	2 600		130
HW_MT_12000	600		30

#### 4.8.1.1. Simulação das fibras de *hardwood* sem refinação

As primeiras estruturas produzidas foram projetadas numa dimensão 3D cartesiana (500 por 500), utilizando uma flexibilidade da fibra de 3 para as fibras de *hardwood* e *softwood*, sendo este valor *standart* comprovado na literatura para esse tipo de fibras (Niskanen & Alava, 1994). Foram projetadas 750 fibras e o comprimento utilizado encontra-se estimado na Tabela 4.16. Na

Figura 4.35, está representado passo a passo a formação da matriz tridimensional obtida a partir da distribuição aleatória das fibras no eixo x e y.



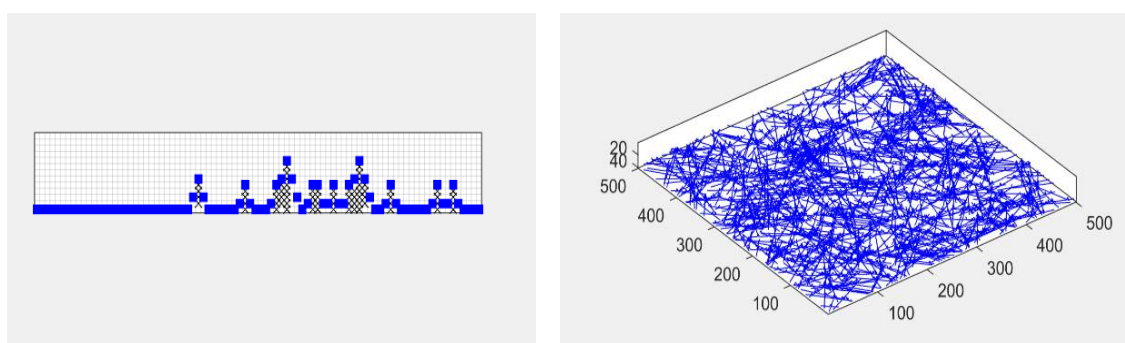
**Figura 4.35:** Esquemática da implementação das simulações em MATLAB para as fibras de eucalipto sem refinação.

A representação computacional é repartida em três momentos distintos na deposição das fibras, nomeadamente no início, a meio e no final. A presente simulação, tenciona replicar as fibras de *hardwood*, com um comprimento de 40 vóxeis. Em a), c) e e), observa-se a deposição das fibras em vóxeis, estando representado nestas figuras a sobreposição da nova fibra a azul sobre as

restantes já depositadas simbolizadas pelo “x” e em b), d), e f) consta o desenvolvimento da estrutura 3D com a deposição das fibras até atingir o número de fibras pretendido, obtendo a estrutura finalizada (f).

#### 4.8.1.2. Simulação das fibras de *softwood* sem refinação

Na Figura 4.36 está representada a simulação da estrutura composta pelas fibras de pinho, utilizando 100 voxéis de comprimento e flexibilidade de 3, totalizando 750 fibras.

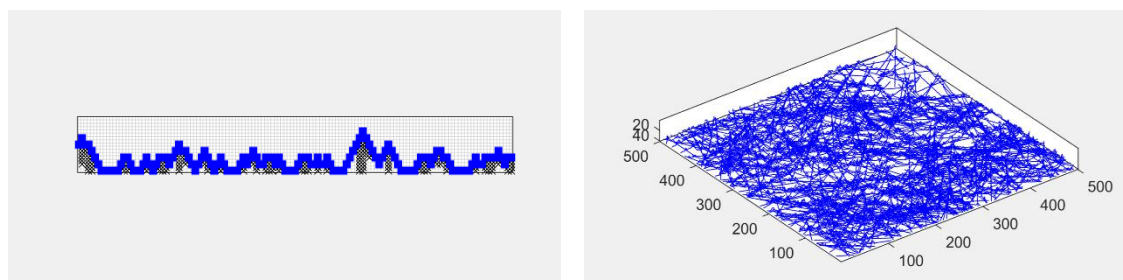


**Figura 4.36:** Esquematização das simulações das fibras de *softwood* sem refinação.

A partir da análise da Figura 4.36, é possível verificar uma área de ligação das fibras bastante superior à obtida na estrutura de *hardwood*, levando à formação de uma estrutura mais densa e interligada.

#### 4.8.1.3. Simulação das fibras de cânhamo

Para projetar a matriz de fibras composta por fibras de cânhamo utilizou-se uma flexibilidade de 2 para este tipo de fibras uma vez que por ter sido sujeita a menos tratamentos que as fibras de *hardwood* e *softwood* esta possui uma flexibilidade inferior. O grau de flexibilidade das fibras aumenta com a quantidade de tratamentos aos quais são sujeitas, logo as fibras de cânhamo possuem uma flexibilidade inferior as fibras provenientes da indústria.

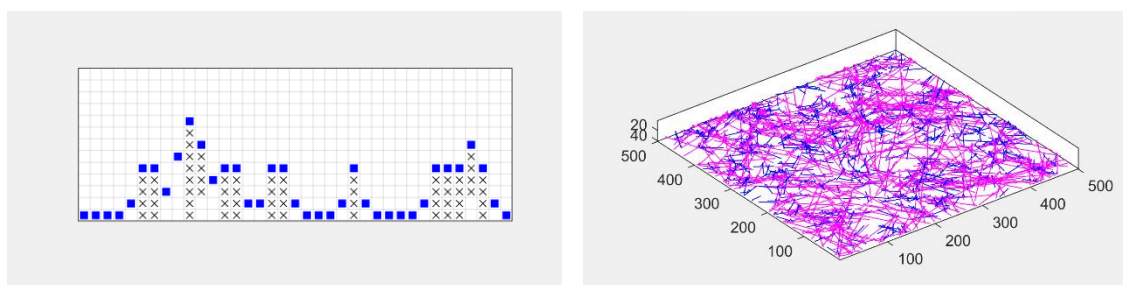


**Figura 4.37:** Simulação da estrutura de fibras de cânhamo.

A presente simulação (Figura 4.37), tenciona replicar a fibra de cânhamo, com um comprimento de 130 vóxeis, como é mencionado na estrutura produzida pela *softwood*, estas apresentam algumas semelhanças como a elevada área de ligação entre fibras devido ao aumento dos pontos de cruzamentos entre fibras, contribuindo para uma melhor resistência da mesma.

#### 4.8.1.4. Simulação da mistura das fibras de cânhamo e *hardwood*

Como este trabalho tem como objetivo utilizar as fibras de cânhamo como um reforço estrutural, a sua combinação com as fibras de *hardwood* engloba o melhor de ambos os tipos de fibras. Na simulação presente na Figura 4.38 está representada a estrutura constituída por 50% fibras de cânhamo e 50% fibras de eucalipto, em número de fibras.

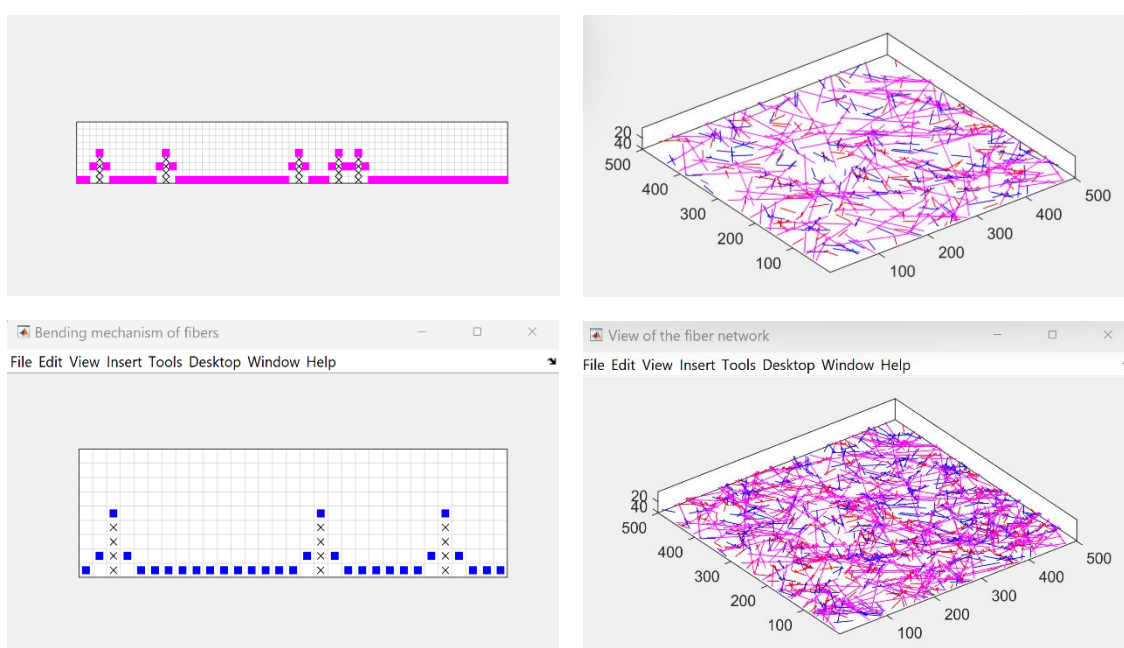


**Figura 4.38:** Esquematização da simulação da mistura das fibras de cânhamo e *hardwood*.

Na Figura 4.38, está representado a azul as fibras de *hardwood* e a rosa as fibras de cânhamo. É possível verificar que as fibras de cânhamo serão responsáveis pelo aumento da área de ligação entre fibras, atribuindo melhores propriedades estruturais à matriz 3D, resultado comprovado experimentalmente.

#### 4.8.2.5. Simulação da mistura das fibras de cânhamo, *hardwood* e um aditivo micro/nanocelulose

Nesta última simulação incorporou-se à mistura efetuada anteriormente um aditivo composto de micro/nanocelulose. Foram utilizados os comprimentos e flexibilidades estabelecidos até então, para as fibras de *hardwood* e cânhamo (Figura 4.39). Para a micro/nanocelulose, devido ao elevado tratamento mecânico realizado, utilizou-se 4 de flexibilidade e um comprimento de 30 vóxeis de acordo com a Tabela 4.16.



**Figura 4.39:** Simulação da estrutura composta pelas fibras de cânhamo, *hardwood* e micro/nanocelulose como aditivo.

Nesta simulação (Figura 4.39), encontra-se replicada a mistura de fibras de *hardwood* (azul) e fibras de cânhamo (rosa) com um aditivo, isto é, celulose micro/nanofibrilada (vermelho). Pela imagem observa-se uma maior concentração de espaços vazios comparativamente à estrutura da Figura 4.37 devido a limitações na visualização das estruturas, que se explica pela presença de fibras com dimensões muito diferentes, que não permitem a modelação adequada da matriz compactada obtida a partir de micro/nanocelulose.

Os resultados obtidos por simulação computacional e armazenados em MATLAB contém a modelação das várias matrizes, cujo as estruturas foram caracterizadas, e a sua porosidade e espessuras computacionais, foram comparadas às estruturas reais produzidas em laboratório. Os resultados obtidos estão de acordo com as imagens obtidas por SEM, e a validação pode ser feita utilizando uma combinação de microscopia eletrónica de varrimento, e de caracterização experimental.

Esta componente do trabalho encontra-se ainda em desenvolvimento, pois é um trabalho que envolve vários elementos da nossa equipa, em que são utilizadas diversas metodologias de tratamento de dados, e que requer várias valências nesta área. Os resultados mais completos irão ser apresentados, tal como previsto, em trabalhos futuros conjuntos dos membros da equipa de investigação da FibEnTech.

Pode concluir-se que os resultados obtidos na formação das estruturas obtidas no laboratório e por simulação constituem informação importante no estudo das diferentes camadas, e na otimização destes sistemas. A junção destes três tipos de fibras permite projetar um material otimizado em relação às suas propriedades estruturais, e que pode posteriormente ser confirmado por validação experimental.

# **Capítulo V**

## **Conclusões e perspectivas futuras**

## 5. Conclusões e perspectivas futuras

Por meio deste trabalho foi possível determinar por espectrofotometria do UV-Vis, a concentração dos chás da Gorreana. Conclui-se a partir do deslocamento do comprimento de onda de absorção, o alto teor de polifenóis e ácidos orgânicos no chá verde. Para além disso, a partir da análise dos compostos presentes no extrato do chá verde, foi possível identificar principalmente o ácido palmítico (25,5%) e seus derivados da reação de esterificação, caracterizado pelo seu poder antioxidante e fonte de vitamina A. A cafeína foi o segundo componente maioritário obtido (12,8%), mundialmente conhecida pela sua ação estimulante. Para além desta análise, os voláteis presentes no chá constataram a presença de  $\beta$  linalol (26,0%), que apresenta propriedades anti-inflamatórias.

A partir da análise do óleo essencial proveniente das plantas de cânabis e mentrastos identificaram-se diversos compostos, dentre eles o  $\beta$  cariofileno (14,3%), caracterizado pelos seus benefícios para o combate do estresse, atuando sob o sistema nervoso central. O óleo essencial proveniente da planta de cânabis apresenta diversos compostos semelhantemente identificados no óleo essencial caracterizado anteriormente. Dentre estes, a elevada presença de monoterpenos, conhecidos pelas suas ações miorelaxantes. Os diversos compostos identificados no chá verde da Gorreana, tal como nos óleos extraídos apresentam propriedades de elevado valor comercial, de modo a acrescentar valor ao produto desenvolvido.

A obtenção das fibras de cânhamo a partir de resíduos da *Cannabis sativa* L. contribui para o melhor reaproveitamento da planta, para além das suas finalidades conhecidas provenientes das suas moléculas ativas, contribuindo assim para uma economia circular. As fibras obtidas, de elevado comprimento, atingiram valores superiores a 2000  $\mu\text{m}$ , sendo possível a substituição das fibras de *softwood* como reforço para estruturas celulósicas, que atualmente são importadas a elevados custos. A partir da refinação a 1000 revoluções das fibras de papel *tissue* industrial (PI), às quais se adicionaram 10% de fibras de cânhamo, foi possível obter um aumento de 62,3% no índice de tração e um aumento de 40,5% no módulo de Young.

A otimização do processo de cozimento à soda ou alcalino com NaOH permitiu a obtenção de fibras de cânhamo com características que potencializam o seu uso como têxteis, com comprimentos elevados de 5-10 cm.

Foi possível a caracterização, manipulação e simulação das fibras de celulose utilizadas como referência neste trabalho, compostas por *hardwood* e *softwood*. A sua modificação estrutural por meio da refinação resultou em fibras com um elevado grau de fibrilação, atingindo 2,20% de fibrilação para as fibras de micro/nanocelulose (HW a 12000 revoluções) e 2,86% para *softwood* obtida pela refinação a 6000 revoluções. Foi possível a diminuição da porosidade de 78,0% para 35,2% nas estruturas de eucalipto branqueadas e um decréscimo de 38,5% nas estruturas obtidas provenientes de fibras de pinho. Esta redução pode representar uma limitação quanto à capacidade de retenção de moléculas ativas pela estrutura celulósica. Contudo, a impregnação realizada na matriz de micro/nanocelulose, demonstra que ainda que com baixa porosidade é possível obter boas taxas de retenção dos ativos em estudo.

A partir da caracterização do papel tipo *tissue* industrial, foi possível verificar que este possui as características necessárias para o desenvolvimento de sistemas de entrega de fármacos, permitindo a retenção das moléculas ativas presentes no chá verde da Gorreana e da flor de canábis nas estruturas fibrosas obtidas a partir deste material, comprovadas a partir de métodos óticos de colorimetria e análise elemental de superfície.

Com o desenvolvimento de DDS de base celulósica, altamente biodegradáveis e biocompatíveis, a utilização de métodos amigos do ambiente para seu desenvolvimento, e a retenção de moléculas ativas de interesse comercial, conclui-se que é possível substituir o uso de materiais provenientes dos combustíveis fósseis sem comprometer as características necessárias para a finalidade desejada. Além disso, provou-se ser possível otimizar as propriedades mecânicas da estrutura ao adicionar reforços através da incorporação de fibras provenientes dos resíduos de *Cannabis sativa* L.

Como perspectivas futuras, pretende-se otimizar o sistema dérmico, determinando as proporções favoráveis dos aditivos compostos por fibras de cânhamo e micro/nanocelulose, de modo a obter um DDS mecanicamente mais resistente sem comprometer as propriedades de porosidade e retenção requeridas e presentes no papel tipo *tissue*. Pretende-se desenvolver a camada externa do penso dérmico a fim de evitar a perda das moléculas ativas e otimizar os métodos de avaliação da retenção das moléculas no sistema 3D de celulose. Além disso, tenciona-se realizar o *scale-up* da obtenção das fibras de cânhamo para a escala piloto, representando um novo desafio e passo importante para a valorização do resíduo e estabelecimento de uma nova rota de aplicações em uma perspectiva circular.

## Bibliografia

- Adnan, M., Ahmad, A., Ahmed, A., Khalid, N., Hayat, I., & Ahmed, I. (2013). *CHEMICAL COMPOSITION AND SENSORY EVALUATION OF TEA (CAMELLIA SINENSIS) COMMERCIALIZED IN PAKISTAN*.
- Aguayo, M. G., Fernández-Pérez, A., Oviedo, C., Reyes, G., & Reyes-Contreras, P. (2020). Relationship between Structural Characteristics of Cellulose Nanocrystals Obtained from Kraft Pulp. *Nanomaterials*, *10*(9), 1775. <https://doi.org/10.3390/nano10091775>
- Ahmed, A. T. M. F., Islam, M. Z., Mahmud, M. S., Sarker, M. E., & Islam, M. R. (2022). Hemp as a potential raw material toward a sustainable world: A review. *Heliyon*, *8*(1), e08753. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08753>
- Aliferis, K. A., & Bernard-Perron, D. (2020). Cannabinomics: Application of Metabolomics in Cannabis (*Cannabis sativa* L.) Research and Development. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 554. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00554>
- Awad, H., Khamis, M. M., & El-Aneed, A. (2015). Mass Spectrometry, Review of the Basics: Ionization. *Applied Spectroscopy Reviews*, *50*(2), 158–175. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.954046>
- Barbash, V. A., Yashchenko, O. V., Yakymenko, O. S., Zakharko, R. M., & Myshak, V. D. (2022). Preparation of hemp nanocellulose and its use to improve the properties of paper for food packaging. *Cellulose*, *29*(15), 8305–8317. <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04773-6>

- Barbash, V., & Yaschenko, O. (2021). Preparation, Properties and Use of Nanocellulose from Non-Wood Plant Materials. Em K. Krishnamoorthy (Ed.), *Novel Nanomaterials*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.94272>
- Bartle, K. D., & Myers, P. (2002). History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9–10), 547–557. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00806-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00806-3)
- Baucher, M., Halpin, C., Petit-Conil, M., & Boerjan, W. (2003). Lignin: Genetic Engineering and Impact on Pulping. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 38(4), 305–350. <https://doi.org/10.1080/10409230391036757>
- Bonin, M., Penteado, A., & Queiroz, S. (2020). *Atividade antimicrobiana de componentes e óleos essenciais frente aos patógenos A. Hydrophila e S. Agalactiae*. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1126359/atividade-antimicrobiana-de-componentes-e-oleos-essenciais-frente-aos-patogenos-a-hydrophila-e-s-agalactiae>
- Bonini, S. A., Premoli, M., Tambaro, S., Kumar, A., Maccarinelli, G., Memo, M., & Mastinu, A. (2018). Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology*, 227, 300–315. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.004>
- Camfield, D. A., Stough, C., Farrimond, J., & Scholey, A. B. (2014). Acute effects of tea constituents L-theanine, caffeine, and epigallocatechin gallate on cognitive function and mood: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*, 72(8), 507–522. <https://doi.org/10.1111/nure.12120>

Cardoso, N. A. (2018). *UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CAMPUS SOBRAL PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA*.

Carrillo, I., Mendonça, R. T., Ago, M., & Rojas, O. J. (2018). Comparative study of cellulosic components isolated from different Eucalyptus species. *Cellulose*, *25*(2), 1011–1029. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-1653-2>

Castro, H. G. de, Oliveira, L. O. de, Barbosa, L. C. de A., Ferreira, F. A., Silva, D. J. H. da, Mosquim, P. R., & Nascimento, E. A. (2004). Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. *Química Nova*, *27*(1), 55–57. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000100011>

Chakar, F. S., & Ragauskas, A. J. (2004). Review of current and future softwood kraft lignin process chemistry. *Industrial Crops and Products*, *20*(2), 131–141. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.04.016>

Ciechańska, D., Wesółowska, E., & Wawro, D. (2009). An introduction to cellulosic fibres. Em *Handbook of Textile Fibre Structure* (pp. 3–61). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845697310.1.3>

Costa Vieira, J., Fiadeiro, P. T., & Costa, A. P. (2023). Converting operations impact on tissue paper product properties – A Review. *BioResources*, *18*(1), 2303–2326. <https://doi.org/10.15376/biores.18.1.Vieira>

Cristea, E., Ghendov-Mosanu, A., Patras, A., Socaciu, C., Pintea, A., Tudor, C., & Sturza, R. (2021). The Influence of Temperature, Storage Conditions, pH, and Ionic Strength on the Antioxidant Activity and Color Parameters of Rowan Berry Extracts. *Molecules*, *26*(13), 3786. <https://doi.org/10.3390/molecules26133786>

- 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. *Materialwissenschaft Und Werkstofftechnik*, 42(5), 370–374. <https://doi.org/10.1002/mawe.201100790>
- Dai, L., & Si, C. (2019). Recent Advances on Cellulose-Based Nano-Drug Delivery Systems: Design of Prodrugs and Nanoparticles. *Current Medicinal Chemistry*, 26(14), 2410–2429. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170711131353>
- Dash, R., & Ragauskas, A. J. (2012). Synthesis of a novel cellulose nanowhisker-based drug delivery system. *RSC Advances*, 2(8), 3403. <https://doi.org/10.1039/c2ra01071b>
- de Assis, T., Pawlak, J., Pal, L., Jameel, H., Venditti, R., Reisinger, L. W., Kavalew, D., & Gonzalez, R. W. (2019). Comparison of wood and non-wood market pulps for tissue paper application. *BioResources*, 14(3), 6781–6810. <https://doi.org/10.15376/biores.14.3.6781-6810>
- Doe, J., & Smith, S. (2013). *Using Absorbance to Determine the Concentration of CuSO<sub>4</sub>*.
- Dotan, A. (2014). Biobased Thermosets. Em *Handbook of Thermoset Plastics* (pp. 577–622). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-3107-7.00015-4>
- Figueiredo, A. C., Pedro, L., & Barroso, J. (2020). *Voláteis e óleos essenciais*. [http://cbv.fc.ul.pt/2017\\_Agrotec\\_25\\_8\\_Voláteis%20e%20óleos%20essenciais.%20Parte%20II\\_II.pdf](http://cbv.fc.ul.pt/2017_Agrotec_25_8_Voláteis%20e%20óleos%20essenciais.%20Parte%20II_II.pdf)
- Foelkel, C. (2009). *Papermaking Properties of Eucalyptus Trees, Woods, and Pulp Fibers*.

- Gao, X., Lv, S., Wu, Y., Li, J., Zhang, W., Meng, W., Wang, C., & Meng, Q. (2017). Volatile components of essential oils extracted from Pu-erh ripe tea by different extraction methods. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S240–S253. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295256>
- Gorreana. (2015). *Processo de Fabrico*. Gorreana. <https://gorreana.pt/pt/processo-fabrico-cha-gorreana/9>
- Gregoire, M., De Luycker, E., Bar, M., Musio, S., Amaducci, S., & Ouagne, P. (2019). Study of solutions to optimize the extraction of hemp fibers for composite materials. *SN Applied Sciences*, 1(10), 1293. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1332-4>
- Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., & Kanthimathi, M. S. (2016). Temperature and Time of Steeping Affect the Antioxidant Properties of White, Green, and Black Tea Infusions: Tea infusion and antioxidant properties.... *Journal of Food Science*, 81(1), H246–H254. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13149>
- Hallik, A., Roosalu, K., Mändar, H., Joosu, L., Marandi, M., & Tamm, J. (2015). Thickness dependence of the porosity of PPy/DDS films. *European Polymer Journal*, 70, 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.07.002>
- Hazekamp, A., Bastola, K., Rashidi, H., Bender, J., & Verpoorte, R. (2007). Cannabis tea revisited: A systematic evaluation of the cannabinoid composition of cannabis tea. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.019>
- He, M., Yang, G., Chen, J., Ji, X., & Wang, Q. (2018). Production and Characterization of Cellulose Nanofibrils from Different Chemical and Mechanical Pulps. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 38(2), 149–158. <https://doi.org/10.1080/02773813.2017.1411368>

- Im, J.-E., Kim, H. Y., Lee, J. D., Park, J.-J., Kang, K.-S., & Kim, K.-B. (2021). Effect of Application Amounts on In Vitro Dermal Absorption Test Using Caffeine and Testosterone. *Pharmaceutics*, 13(5), Art. 5. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050641>
- Imken, A. A. P., Plinke, B., & Mai, C. (2021). Characterisation of hardwood fibres used for wood fibre insulation boards (WFIB). *European Journal of Wood and Wood Products*, 79(4), 915–924. <https://doi.org/10.1007/s00107-021-01698-y>
- ISO 187:1990 "Paper, board and pulps – Standard atmosphere for conditioning and testing and procedure for monitoring the atmosphere and conditioning of samples." (1990). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 534:2011 "Paper and board – Determination of thickness, density and specific volume." (2011). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 536:2019 "Paper and board – Determination of grammage." (2019). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 1924-2:2008 "Paper and board – Determination of tensile properties – Part 2: Constant rate of elongation method (20 mm/min)" (2008). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 2470-1:2016 "Paper, board and pulps – Measurement of diffuse blue reflectance factor – Part 1: Indoor daylight conditions (ISO brightness)" (2016). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 2471:2008 " Paper and board – Determination of opacity (paper backing) – Diffuse reflectance method" (2008). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO 5263-1:2004. "Pulps – Laboratory wet disintegration – Part 1: Disintegration of chemical pulps" (2004). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO 5264-2:2011. "Pulps – Laboratory beating – Part 2: PFI mill method" (2011). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO 5267-1:1999. "Pulps – Determination of drainability – Part 1: Schopper-Riegler method" (1999). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO 5269-1:2005 "Pulps – Preparation of laboratory sheets for physical testing – Part 1: Conventional sheet-former method" (2005). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO 5631-1:2022 "Paper and board – Determination of colour by diffuse reflectance – Part 1: Indoor daylight conditions (C/2°)" (2022). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

Jablonský, M., & Šima, J. (2022). Let's contribute to protecting our planet by reducing the brightness of paper: Less is more. *BioResources*, 17(4), 5565–5567. <https://doi.org/10.15376/biores.17.4.5565-5567>

Jucá, D. M. (2007). *PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DOS MONOTERPENOS  $\alpha$ - E  $\beta$ -PINENO NO MÚSCULO LISO GASTRINTESTINAL DE RATOS: EFEITO MIORRELAXANTE E PRÓ-CINÉTICO.*

Kolakovic, R., Peltonen, L., Laukkanen, A., Hirvonen, J., & Laaksonen, T. (2012). Nanofibrillar cellulose films for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 82(2), 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.06.011>

- Kumar, R., Singh, S., & Singh, O. V. (2008). Bioconversion of lignocellulosic biomass: Biochemical and molecular perspectives. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(5), 377–391. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0327-8>
- Lal, P. S., Sharma, A., & Bist, V. (2013). *Pine Needle—An Evaluation of Pulp and Paper Making Potential*.
- Leas, E. C. (2021). The Hemp Loophole: A Need to Clarify the Legality of Delta-8-THC and Other Hemp-Derived Tetrahydrocannabinol Compounds. *American Journal of Public Health*, 111(11), 1927–1931. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2021.306499>
- Leonardi, M., Giovanelli, S., Cioni, P. L., Flamini, G., & Pistelli, L. (2012). Evaluation of volatile constituents of *Cochlospermum angolense*. *Natural Product Communications*, 7(5), 1934578X1200700522.
- Li, D., Wang, R., Huang, J., Cai, Q., Yang, C. S., Wan, X., & Xie, Z. (2019). Effects and Mechanisms of Tea Regulating Blood Pressure: Evidences and Promises. *Nutrients*, 11(5), 1115. <https://doi.org/10.3390/nu11051115>
- López, F. (2003). Optimization of hydrogen peroxide in totally chlorine free bleaching of cellulose pulp from olive tree residues. *Bioresource Technology*, 87(3), 255–261. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00239-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00239-0)
- Main, N. M., Talib, R. A., Ibrahim, R., Rahman, R. A., & Mohamed, A. Z. (2014). Suitability of Coir Fibers as Pulp and Paper. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 304–311. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.043>

- Manayi, A., Saeidnia, S., Shekarchi, M., Hadjiakhoondi, A., & Ardekani, M. R. S. (2014). *Comparative study of the essential oil and hydrolate composition of Lythrum salicaria L. obtained by hydro-distillation and microwave distillation methods.*
- Mariano, M., Kissi, N. E., & Dufresne, A. (2014). Cellulose nanocrystals and related nanocomposites: Review of some properties and challenges. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 52(12), 791–806. <https://doi.org/10.1002/polb.23490>
- Martins, V. D. F., Cerqueira, M. A., Fuciños, P., Garrido-Maestu, A., Curto, J. M. R., & Pastrana, L. M. (2018). Active bi-layer cellulose-based films: Development and characterization. *Cellulose*, 25(11), 6361–6375. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2021-y>
- Mboowa, D. (2021). A review of the traditional pulping methods and the recent improvements in the pulping processes. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01243-6>
- Micalizzi, G., Vento, F., Alibrando, F., Donnarumma, D., Dugo, P., & Mondello, L. (2021). Cannabis Sativa L.: A comprehensive review on the analytical methodologies for cannabinoids and terpenes characterization. *Journal of Chromatography A*, 1637, 461864. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461864>
- Mohanpuria, P., Kumar, V., & Yadav, S. K. (2010). Tea caffeine: Metabolism, functions, and reduction strategies. *Food Science and Biotechnology*, 19(2), 275–287. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0041-y>
- Moonart, U., & Utara, S. (2019). Effect of surface treatments and filler loading on the properties of hemp fiber/natural rubber composites. *Cellulose*, 26(12), 7271–7295. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02611-w>

- Morais, F. P. (2017). *Desenvolvimento de Sistemas de Entrega de Fármacos Inovadores utilizando Materiais Poliméricos Porosos contendo Nanocelulose* [MasterThesis]. <https://ubibliorum.ubi.pt/handle/10400.6/9468>
- Morais, F. P., Bértolo, R. A. C., Curto, J. M. R., Amaral, M. E. C. C., Carta, A. M. M. S., & Evtugin, D. V. (2019). Comparative characterization of eucalyptus fibers and softwood fibers for tissue papers applications. *Materials Letters: X*, 4, 100028. <https://doi.org/10.1016/j.mlblux.2019.100028>
- Morais, F. P., Carta, A. M. M. S., Amaral, M. E., & Curto, J. M. R. (2020). Cellulose fiber enzymatic modification to improve the softness, strength, and absorption properties of tissue papers. *BioResources*, 16(1), 846–861. <https://doi.org/10.15376/biores.16.1.846-861>
- Morais, F. P., Carta, A. M. M. S., Amaral, M. E., & Curto, J. M. R. (2021). Micro/nano-fibrillated cellulose (MFC/NFC) fibers as an additive to maximize eucalyptus fibers on tissue paper production. *Cellulose*, 28(10), 6587–6605. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03912-9>
- Morais, F. P., & Curto, J. M. R. (2022a). “3D computational simulation and experimental validation of structured materials: Case studies of tissue papers. *BioResources*, 17(3), 4206–4225. <https://doi.org/10.15376/biores.17.3.4206-4225>
- Morais, F. P., & Curto, J. M. R. (2022b). Challenges in computational materials modelling and simulation: A case-study to predict tissue paper properties. *Heliyon*, 8(5), e09356. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09356>
- Motiejauskaitė, D., Ullah, S., Kundrotaitė, A., Žvirdauskienė, R., Bakšinskaitė, A., & Barčauskaitė, K. (2023). Isolation of Biologically Active Compounds from Cannabis sativa L.

- Inflorescences by Using Different Extraction Solvents and Evaluation of Antimicrobial Activity. *Antioxidants*, 12(5), 998. <https://doi.org/10.3390/antiox12050998>
- Mussatto, S. I., Rocha, G. J. M., & Roberto, I. C. (2008). Hydrogen peroxide bleaching of cellulose pulps obtained from brewer's spent grain. *Cellulose*, 15(4), 641–649. <https://doi.org/10.1007/s10570-008-9198-4>
- Namita, P., Mukesh, R., & Vijay, K. J. (2012). *Camellia Sinensis (Green Tea): A Review*. 9.
- Neiva, D., Fernandes, L., Araújo, S., Lourenço, A., Gominho, J., Simões, R., & Pereira, H. (2015). Chemical composition and kraft pulping potential of 12 eucalypt species. *Industrial Crops and Products*, 66, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.016>
- Ngan, F., & Toofan, M. (1991). Modification of Preparation of Diazomethane for Methyl Esterification of Environmental Samples Analysis by Gas Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 29(1), 8–10. <https://doi.org/10.1093/chromsci/29.1.8>
- Nicu, R., Ciolacu, F., & Ciolacu, D. E. (2021). Advanced Functional Materials Based on Nanocellulose for Pharmaceutical/Medical Applications. *Pharmaceutics*, 13(8), 1125. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081125>
- Niskanen, K. J., & Alava, M. J. (1994). Planar Random Networks with Flexible Fibers. *Physical Review Letters*, 73(25), 3475–3478. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.73.3475>
- Norastehnia, A., & Ghorbani, M. (2013). Comparison investigation of essential oils in tea (*Camellia sinensis* L. var. *Sinensis*) clones. *Natural Products*.
- Oultram, J. M. J., Pegler, J. L., Bowser, T. A., Ney, L. J., Eamens, A. L., & Grof, C. P. L. (2021). *Cannabis sativa*: Interdisciplinary Strategies and Avenues for Medical and Commercial

- Progression Outside of CBD and THC. *Biomedicines*, 9(3), 234. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030234>
- P. Ribereau-Gayon, A. Maujean, & D. Dubourdieu. (2006). *Handbook of enology. 2: The chemistry of wine, stabilization and treatments* (2. ed). Wiley.
- Phanthong, P., Reubroycharoen, P., Hao, X., Xu, G., Abudula, A., & Guan, G. (2018). Nanocellulose: Extraction and application. *Carbon Resources Conversion*, 1(1), 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.crcon.2018.05.004>
- Potůček, F., & Milichovský, M. (2000). *Kraft Pulp Bleaching with Hydrogen Peroxide and Peracetic Acid*.
- Pouyet, F., Chirat, C., Potthast, A., & Lachenal, D. (2014). Formation of carbonyl groups on cellulose during ozone treatment of pulp: Consequences for pulp bleaching. *Carbohydrate Polymers*, 109, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.082>
- Promhuad, K., Srisa, A., San, H., Laorenza, Y., Wongphan, P., Sodsai, J., Tansin, K., Phromphen, P., Chartvivatpornchai, N., Ngoenchai, P., & Harnkarnsujarit, N. (2022). Applications of Hemp Polymers and Extracts in Food, Textile and Packaging: A Review. *Polymers*, 14(20), 4274. <https://doi.org/10.3390/polym14204274>
- Putro, J. N., Soetaredjo, F. E., Lin, S.-Y., Ju, Y.-H., & Ismadji, S. (2016). Pretreatment and conversion of lignocellulose biomass into valuable chemicals. *RSC Advances*, 6(52), 46834–46852. <https://doi.org/10.1039/C6RA09851G>
- Radwan, M. M., ElSohly, M. A., Slade, D., Ahmed, S. A., Khan, I. A., & Ross, S. A. (2009). Biologically Active Cannabinoids from High-Potency *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 72(5), 906–911. <https://doi.org/10.1021/np900067k>

- Rasera, G. B., Ohara, A., & de Castro, R. J. S. (2021). Innovative and emerging applications of cannabis in food and beverage products: From an illicit drug to a potential ingredient for health promotion. *Trends in Food Science & Technology*, *115*, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.035>
- Rehman, S., Bhatti, H. N., Iqbal, Z., & Rashid, U. (2008). Essential oil composition of commercial black tea (*Camellia sinensis*): Essential oil composition of black tea. *International Journal of Food Science & Technology*, *43*(2), 346–350. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01458.x>
- Requejo, A., Rodríguez, A., Colodette, J. L., Gomide, J. L., & Jiménez, L. (2012). TCF bleaching sequence in kraft pulping of olive tree pruning residues. *Bioresource Technology*, *117*, 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.084>
- Reto, M., Figueira, M. E., Filipe, H. M., & Almeida, C. M. M. (2007). Chemical Composition of Green Tea (*Camellia sinensis*) Infusions Commercialized in Portugal. *Plant Foods for Human Nutrition*, *62*(4), 139–144. <https://doi.org/10.1007/s11130-007-0054-8>
- Ribeiro, A. M., Magalhães, M., Veiga, F., & Figueiras, A. (2018). Cellulose-Based Hydrogels in Topical Drug Delivery: A Challenge in Medical Devices. Em Md. I. H. Mondal (Ed.), *Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels* (pp. 1–29). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76573-0\\_41-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76573-0_41-1)
- Rodak, K., Kokot, I., & Kratz, E. M. (2021). Caffeine as a Factor Influencing the Functioning of the Human Body—Friend or Foe? *Nutrients*, *13*(9), 3088. <https://doi.org/10.3390/nu13093088>

- Rodrigues, L., Coelho, E., Madeira, R., Teixeira, P., Henriques, I., & Coimbra, M. A. (2022). Food Ingredients Derived from Lemongrass Byproduct Hydrodistillation: Essential Oil, Hydrolate, and Decoction. *Molecules*, 27(8), 2493. <https://doi.org/10.3390/molecules27082493>
- Roman, M., & Winter, W. T. (2004). Effect of Sulfate Groups from Sulfuric Acid Hydrolysis on the Thermal Degradation Behavior of Bacterial Cellulose. *Biomacromolecules*, 5(5), 1671–1677. <https://doi.org/10.1021/bm034519+>
- Rostamitabar, M., Subrahmanyam, R., Gurikov, P., Seide, G., Jockenhoewel, S., & Ghazanfari, S. (2021). Cellulose aerogel micro fibers for drug delivery applications. *Materials Science and Engineering: C*, 127, 112196. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112196>
- Sacui, I. A., Nieuwendaal, R. C., Burnett, D. J., Stranick, S. J., Jorfi, M., Weder, C., Foster, E. J., Olsson, R. T., & Gilman, J. W. (2014). Comparison of the Properties of Cellulose Nanocrystals and Cellulose Nanofibrils Isolated from Bacteria, Tunicate, and Wood Processed Using Acid, Enzymatic, Mechanical, and Oxidative Methods. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(9), 6127–6138. <https://doi.org/10.1021/am500359f>
- Saeed, F., Afzaal, M., Raza, M. A., Rasheed, A., Hussain, M., Nayik, G. A., & Ansari, M. J. (2023). Lavender essential oil: Nutritional, compositional, and therapeutic insights. Em *Essential Oils* (pp. 85–101). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91740-7.00009-8>
- Sahay, S. (2022). Deconstruction of lignocelluloses: Potential biological approaches. Em *Handbook of Biofuels* (pp. 207–232). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822810-4.00010-5>

- Sahu, B., Kurrey, R., Deb, M. K., Shrivastava, K., Karbhal, I., & Khalkho, B. R. (2021). A simple and cost-effective paper-based and colorimetric dual-mode detection of arsenic(III) and lead(II) based on glucose-functionalized gold nanoparticles. *RSC Advances*, *11*(34), 20769–20780. <https://doi.org/10.1039/D1RA02929K>
- Saklar, S., Ertas, E., Ozdemir, I. S., & Karadeniz, B. (2015). Effects of different brewing conditions on catechin content and sensory acceptance in Turkish green tea infusions. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(10), 6639–6646. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1746-y>
- Samyn, P. (2013). Wetting and hydrophobic modification of cellulose surfaces for paper applications. *Journal of Materials Science*, *48*(19), 6455–6498. <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7519-y>
- Shahzad, A. (2012). Hemp fiber and its composites – a review. *Journal of Composite Materials*, *46*(8), 973–986. <https://doi.org/10.1177/0021998311413623>
- Shatalov, A. A., & Pereira, H. (2008). New perspectives for pulping and bleaching. 5. Ozone-based TCF bleaching of organosolv pulps. *Bioresource Technology*, *99*(3), 472–478. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.014>
- Silva, F. A. G. S., Dourado, F., Gama, M., & Poças, F. (2020). Nanocellulose Bio-Based Composites for Food Packaging. *Nanomaterials*, *10*(10), 2041. <https://doi.org/10.3390/nano10102041>
- Sommano, S. R., Chittasupho, C., Ruksiriwanich, W., & Jantrawut, P. (2020). The Cannabis Terpenes. *Molecules*, *25*(24), 5792. <https://doi.org/10.3390/molecules25245792>

- Sun, B., Zhang, M., Shen, J., He, Z., Fatehi, P., & Ni, Y. (2019). Applications of Cellulose-based Materials in Sustained Drug Delivery Systems. *Current Medicinal Chemistry*, 26(14), 2485–2501. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170705143308>
- Tang, Y., Yang, H., & Vignolini, S. (2022). Recent Progress in Production Methods for Cellulose Nanocrystals: Leading to More Sustainable Processes. *Advanced Sustainable Systems*, 6(3), 2100100. <https://doi.org/10.1002/adsu.202100100>
- Tarara, M., Tzanavaras, P. D., & Tsogas, G. Z. (2022). Development of a Paper-Based Analytical Method for the Colorimetric Determination of Calcium in Saliva Samples. *Sensors*, 23(1), 198. <https://doi.org/10.3390/s23010198>
- Teshome, K. (2019). *Effect of tea processing methods on biochemical composition and sensory quality of black tea (Camellia sinensis (L.) O. Kuntze): A review.*
- Turkmen, N., Velioglu, Y., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, 12(3), 484–496. <https://doi.org/10.3390/12030484>
- Wang, B., Sain, M., & Oksman, K. (2007). Study of Structural Morphology of Hemp Fiber from the Micro to the Nanoscale. *Applied Composite Materials*, 14(2), 89–103. <https://doi.org/10.1007/s10443-006-9032-9>
- Wulandari, W. T., Rochliadi, A., & Arcana, I. M. (2016). Nanocellulose prepared by acid hydrolysis of isolated cellulose from sugarcane bagasse. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 107, 012045. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/107/1/012045>

- Yan, L., Zhang, L., & Yang, B. (2014). Enhancement of total sugar and lignin yields through dissolution of poplar wood by hot water and dilute acid flowthrough pretreatment. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), 76. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-76>
- Zambrano, F., Starkey, H., Wang, Y., Abbati de Assis, C., Venditti, R., Pal, L., Jameel, H., Hubbe, M. A., Rojas, O. J., & Gonzalez, R. (2020). Using micro- and nanofibrillated cellulose as a means to reduce weight of paper products: A review. *BioResources*, 15(2), 4553–4590. <https://doi.org/10.15376/biores.15.2.Zambrano>
- Zeverte-Rivza, S. (2015). *Nordic view to sustainable rural development: Proceedings of the 25th NJF Congress*. NJF Latvia.
- Zhang, L., Ho, C., Zhou, J., Santos, J. S., Armstrong, L., & Granato, D. (2019). Chemistry and Biological Activities of Processed *Camellia sinensis* Teas: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1474–1495. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12479>
- Zheljazkov, V. D., Sikora, V., Dincheva, I., Kačániová, M., Astatkie, T., Semerdjieva, I. B., & Latkovic, D. (2020). Industrial, CBD, and Wild Hemp: How Different Are Their Essential Oil Profile and Antimicrobial Activity? *Molecules*, 25(20), Art. 20. <https://doi.org/10.3390/molecules25204631>
- Zhou, Z., Li, Y., & Zhou, W. (2021). The Progress of Nanocellulose in Types and Preparation Methods. *Journal of Physics: Conference Series*, 2021(1), 012042. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2021/1/012042>

## **Anexos**

## Anexo A. Lista de publicações

### Participação em conferências científicas, no país e no estrangeiro:

*71st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Products Research (GA)*, 2-5 de julho 2023, *Trinity College*, Dublin, Irlanda.

João F. Bettencout Medeiros, José A. Silva Mendes, Nsevolo Samba, Paulo Fiadeiro, Lúcia Silva e Joana Curto. “**Biodegradable *Cannabis sativa* L. combined with the *Ageratum conyzoides* L. Essential Oil Drug Delivery System (DDS) for Dermic Application**”. *Abstract* aprovado para comunicação na forma de poster.

Nsevolo Samba, João F. Bettencout Medeiros, Estela Guerrero De León, Juan Morán-Pinzón, Eily Mondolis, Aldahir Mero-Ríos, Maricselis Díaz-Rodríguez, Abdy Morales-Barrios, José A. Silva Mendes, Jesus Miguel L. Rodilla, Arlindo Gomes, Lúcia Silva e Joana Curto. “**Antioxidant Activity of *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv Leaves**”. *Abstract* aprovado para comunicação na forma de poster.

XXVI Conferência Internacional – *Forest Biobased Materials* – TECNICELPA 2023. 11,12, 13 de outubro 2023 – Coimbra, Portugal.

Joana M. R. Curto, João F. Bettencourt Medeiros, José A. S. Mendes, Nsevolo Samba, Sofia Oliveira, Pedro Videira, Lúcia Silva, Maria Emília C. C. Amaral, Paulo T. Fiadeiro e Ana Paula Costa. “**Engineering of Eucalyptus and Cannabis Biobased Materials for Dermic Applications using 3D Simulation**”. *Abstract* aceite para comunicação oral.

João C. Velosa Pereira, José A. S. Mendes, João F. Bettencourt Medeiros, Ana Paula Gomes, Elsa S. Fonseca, Paulo T. Fiadeiro, Geoffrey R. Mitchell, Joana M.R. Curto. “**Simulation of Biocomposites for Printed Circuit Board using Cellulose to replace Glass Fibers**”. *Abstract* aceite para poster.

### **Publicações:**

João F. Bettencourt Medeiros, José Mendes e Joana M. R. Curto. “**Extraction of cellulose from *Cannabis sativa* L. evaluation and comparison of its fibers with *Eucalyptus globulus* and *Pinus pinaster* fibers**”. Submetido à revista “BioResources” em junho/2023.



## Biodegradable *Cannabis sativa* L. combined with the *Ageratum conyzoides* L. essential oil Drug Delivery System for dermic applications

João F. Bettencout Medeiros<sup>1,2</sup>, José A. Silva Mendes<sup>1,2</sup>, Nsevolu Samba<sup>1,2</sup>, Paulo Fiadeiro<sup>1</sup>, Lúcia Silva<sup>1,2</sup>, Joana Curto<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fiber Materials and Environmental Technologies (FibEnTech-UBI), University of Beira Interior, R. Marquês de Ávila e Bolama, 6201-001 Covilhã, Portugal [miasa@ubi.pt](mailto:miasa@ubi.pt)

<sup>2</sup>Chemistry Department, University of Beira Interior, R. Marquês de Ávila e Bolama, 6200-001, Covilhã, Portugal

### Abstract

At the present work, the goal was to **obtain, characterize and capture** the oil and volatile compounds from *Cannabis sativa* L. combined with the *Ageratum conyzoides* L. and assess the compatibility and potential of these two plants in a single product, **incorporating** the main active molecules into an **environmentally friendly DDS**. The development of a cellulose-based matrix with optimization of the porosity using **computational simulation** was used to predict the retention and release of the active molecules along a certain period of time, making a contribution to the **replacement of non-biodegradable DDS medical devices** and improving their **ecologic footprint**.

### Introduction



Figure 1: (a) refers to the promising economic impact of the cannabis market in Europe until 2025. (b) in addition to the diversity of applications in which part of the plant can be applied. (c) benefiting from a circular economy reducing the ecological footprint, and increasing solutions capable of satisfying human needs.

### Methodology

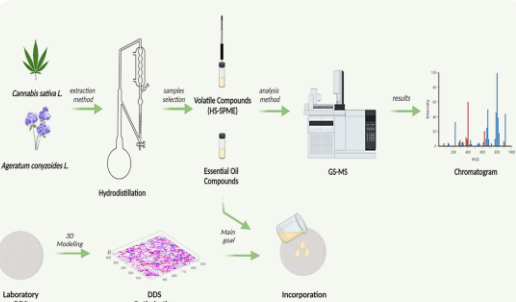


Figure 2: Illustration of (a) Fibers obtained from primary stems of the Cannabis sativa L. (b) SEM images, emphasizing the long length of the Cannabis sativa L. fibers (highlighted in pink). (c) Computer simulation of Cannabis sativa L. fibers one-by-one and random deposition (pink) with other fiber, Eucalyptus globulus (Hardwood) (blue) and micro/nanofibrillated cellulose (MFC/NFC) as an additive (red). (d) Fibrous structure with active molecules incorporated.

### Results

Table 1- The relative chemical composition (%) of Cannabis sativa L. combined with the Ageratum conyzoides L. essential oil and their structure in 2D and 3D (Molecules made using ChemDraw® Professional 16.0 by Medeiros, J.F.B. and Mendes, J.A.S.)

Molecule	Chemical Structure	Relative Composition (%)
β-Caryophyllene	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2C3=CC=CC=C3</chem>	14.2
α-Terpinene	<chem>CC1=CC=CC=C1C2=CC=CC=C2</chem>	10.8
β-Limonene	<chem>CC1=CC=CC=C1C2=CC=CC=C2</chem>	9.1

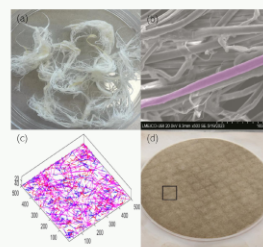
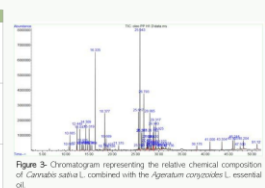


Figure 4: Illustration of (a) Fibers obtained from primary stems of the Cannabis sativa L. (b) SEM images, emphasizing the long length of the Cannabis sativa L. fibers (highlighted in pink). (c) Computer simulation of Cannabis sativa L. fibers one-by-one and random deposition (pink) with other fiber, Eucalyptus globulus (Hardwood) (blue) and micro/nanofibrillated cellulose (MFC/NFC) as an additive (red). (d) Fibrous structure with active molecules incorporated.

### Conclusions

- ✓ It was possible to evaluate the **benefits and characteristics** of the acquired compounds, such as **β-Caryophyllene** influence on the central nervous system as a stress-relieving;
- ✓ In addition to the recognized applications for the plant's active molecules, the use of **hemp fibers** has contributed to the development of a **circular economy**;
- ✓ **Computer simulations** indicate that these fibers can be used as **reinforcements** in the production of DDS, thereby improving the **retention and release** of therapeutic molecules from the cannabis flowers;
- ✓ The present work is a perfect example of a contribution to the **replacement of non-biodegradable DDS** and the improvement of their **ecological footprint**.

### Acknowledgement

The authors are very grateful for the support given by the Fiber Materials and Environmental Technologies (FibEnTech-UBI) research unit, under the project reference UIDB/00195/2020, funded by the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), IP/MCTES through national funds (PIDDAC).



### Reference

[1] K. Promhuad et al., "Applications of Hemp Polymers and Extracts in Food, Textile and Packaging: A Review," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 20, 2022, doi: 10.3390/polym14204274.

[2] M. R. Curto, E. L. T. Conceição, A. T. G. Portugal, and R. M. S. Simões, "Three dimensional modelling of fibrous materials and experimental validation," *Materwiss. Werkstofftech.*, vol. 42, no. 5, pp. 370-374, May 2011, doi: 10.1002/Mawe.201100790.

[3] M. R. Curto et al., "Development of an innovative 3D simulator for structured polymeric fibrous materials and liquid droplets: Contribution to the experimental characterization and optimization of deposition time and spreading area using an innovative 3D optic system and a fibrous porous materials simulator," *Adv. Struct. Mater.*, vol. 70, pp. 301-321, 2015, doi: 10.1007/978-3-319-19443-1\_25/COVER.

[4] F. P. Morais and J. M. R. Curto, "Design and Engineering of Natural Cellulose Fiber-Based Biomaterials with Eucalyptus Essential Oil Retention to Replace Non-Biodegradable Delivery Systems," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 17, Sep. 2022, doi: 10.3390/POLYM14173621.

[5] F. P. Morais, A. M. M. S. Carta, M. E. Amaral, and J. M. R. Curto, "Micro/nano-fibrillated cellulose (MFC/NFC) fibers as an additive to maximize eucalyptus fibers on tissue paper production," *Cellulose*, vol. 28, no. 10, pp. 6587-6605, Jul. 2021, doi: 10.1007/s10570-021-03912-9/FIGURES/8.

[6] F. P. Morais and J. M. R. Curto, "3D simulation of nano/micro cellulose delivery systems for dermic and respiratory applications: Case study of eucalyptus essential oil incorporation," *Materwiss. Werkstofftech.*, vol. 54, no. 4, pp. 450-458, 2023, doi: <https://doi.org/10.1002/mawe.202200284>.

**DUBLIN, IRELAND**  
2-5 JULY 2023

71st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Nature Product Research (SMPNR)  
2-5 July 2023  
Trinity College Dublin, Ireland

## Antioxidant Activity of *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv Leaves

Nsevolo Samba<sup>1,3</sup>, João F. Bettencout Medeiros<sup>1,2</sup>, Estela Guerrero De León<sup>4</sup>, Juan Morán-Pinzón<sup>4</sup>, Eily Mondolis<sup>4</sup>, Aldahir Mero-Ríos<sup>4</sup>, Maricelsis Díaz-Rodríguez<sup>4</sup>, Abdy Morales-Barrios<sup>4</sup>, José A. Silva Mendes<sup>1,2</sup>, Jesus Miguel L. Rodilla<sup>1,2</sup>, Arlindo Gomes<sup>1,2</sup>, Lúcia Silva<sup>1,2</sup>, Joana Curto<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fiber Materials and Environmental Technologies (FibEnTech-UBI), University of Beira Interior, R. Marquês de Ávila e Bolama, 6201-001 Covilhã, Portugal [mias@ubi.pt](mailto:mias@ubi.pt)  
<sup>2</sup>Chemistry Department, University of Beira Interior, R. Marquês de Ávila e Bolama, 6200-001, Covilhã, Portugal  
<sup>3</sup>Department of clinical analysis and Public Health at Kimpa Vita University, Uíge, Angola  
<sup>4</sup>Centro de Investigaciones Psicofarmacológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá

### Abstract

*Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv, commonly known as Borututu, is an endemic plant from Angola. This is a medicinal plant that belongs to the *Cochlospermaceae* family that is used in traditional medicine as a treatment for various diseases such as malaria, diabetes and others

### Introduction

Figure 1 - Illustration of the origin of *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv and its various applications

### Methodology

**Step 1: Cochlospermum angolense Welw. ex Oliv extracts**

- Preparation of leaf extracts: hot infusion (Soxhlet extraction), acetone and ethanol at room temperature.
- For the analysis and study of the components of the acetone and ethanol extracts of the leaves, a previous extraction was performed for their solubility in hot heptane: chloroform (for the acetone extracts) and acetone (for the ethanol extracts).
- HPLC - MS/MS.

**Step 2: DPPH Radical Receptor Activity**

Figure 2 - Representation of the experimental model to determine the antioxidant activity of the extracts against the DPPH radical. Different concentrations of each extract (0.48 to 125 µg/ml) were used.

**Step 3: Assessment of nitric oxide retention capacity**

Figure 3 - Scheme of the method used to determine the concentration of nitrite using the Griess reactor as a model to measure the ability of the extracts to react with the NO radical.

**Step 4: Capability of superoxide anion capture in a non-enzymatic system**

Figure 4 - Scheme of the method we used to determine the non-enzymatic concentration of superoxide anions to measure the capacity of the extracts to scavenge for the radical  $\bullet O_2^-$ .

**Step 5: Lipid peroxidation inhibition test**

Figure 5 - Assay design used to determine thiobarbituric acid reactive species (TBARS).

### Results

Table 1 - The relative chemical composition (%) of *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv, and their structure in 2D and 3D. Molecules made using ChemDraw® Professional 16.0 by Mendes, J.A.S.

Compound Name	Linear Representation	3D Representation	Compound Content (%)
dehydrocambicil	<chem>C[C@H]1[C@@H](O)C[C@@H](C)C[C@H]1C=O</chem>		21.54
aliphatic acid	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>		8.96
1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propan-2-one	<chem>COc1cc(O)ccc1CC(=O)C</chem>		15.8
methyl-4-hydroxybenzoate	<chem>COc1ccc(O)cc1C(=O)OC</chem>		11.5

(a) Antioxidant activity of *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv extracts against the NO radical.

(b) Inhibition of lipid peroxidation developed by *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv extracts.

Figure 6 - Antioxidant activity of *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv extracts against the NO radical (a), and inhibition of lipid peroxidation developed by *Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv extracts (b).

### Conclusions

*Cochlospermum angolense* Welw. ex Oliv is a plant of biological and medicinal interest, since the antioxidant activities are described throughout this study.

### Acknowledgement

The authors are very grateful for the support given by research unit Fiber Materials and Environmental Technologies (FibEnTech-UBI), on the extent of the project reference UIDB/00195/2020, funded by the Fundação para a Ciência e a Tecnologia, IP/MCTES through national funds (PIDDAC).

### Reference

[1] O. S. Barbosa (1997). International Journal of Pharmacognosy, 35:12-16.  
 [2] S. Pombal, et. al. (2017). Natural Product Communication., 12 (5), 653- 655. H.-Y. Lin, et. al. (2004), Food Research International, 37 (9), 883-889.Y.  
 [3] Zhao, et. al., Molecules, 8 (1), 951-962.  
 [4] J.L.McLaughlin et. al.,1998. Drug Info J, 32: 513-524.

XXVI Conferência Internacional – Forest Biobased Materials - TECNICELPA 2023  
11, 12, 13 outubro 2023 – COIMBRA, Portugal

**ENGINEERING OF EUCALYPTUS AND CANNABIS BIOBASED MATERIALS  
FOR DERMIC APPLICATIONS USING 3D SIMULATION**

**Joana M. R. Curto<sup>1,2\*</sup>, João F. Bettencourt Medeiros<sup>1,2</sup>, José A. S. Mendes<sup>1,2</sup>, Nsevolo Samba<sup>1,2</sup>,  
Sofia Oliveira<sup>2</sup>, Pedro Videira<sup>2</sup>, Lúcia Silva<sup>1,2</sup>, Maria Emília C. C. Amaral<sup>1,2</sup>, Paulo T. Fiadeiro<sup>1,3</sup>**

**Ana Paula Costa<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Fiber Materials and Environmental Technologies (FibEnTech-UBI), Universidade da Beira Interior, UBI,  
R. Marquês de D'Ávila e Bolama, 6200-001 Covilhã, Portugal

\* joana.curto@ubi.pt

<sup>2</sup> Departamento de Química, UBI; <sup>3</sup> Departamento de Física, UBI

**ABSTRACT**

Cellulose fiber-based biomaterials from eucalyptus and cannabis bioresources have the potential to replace non-biodegradable materials and to be used for dermic applications. Circular economy principles are the driving force behind the development of sustainable biomaterials that can replace traditional petroleum-based products. The use of cellulose fibers, a renewable and abundant resource, provides a promising pathway towards a circular economy by reducing waste and minimizing the use of non-renewable resources.

The research focus has been directed towards the optimization of porosity and the retention properties needed for the design and engineering of dermic systems that integrated eucalyptus and cannabis fibers, essential oils and other active molecules, presenting a broad spectrum of therapeutic properties, such as, anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant effects.

We were able to produce cellulose fiber-based biomaterials with eucalyptus, cannabis fibers and active biomolecules and to provide a range of sustainable alternative dermic delivery systems solutions. A range of methodologies, such as enzymatic processing, nano and micro 3D fiber modelling and optimization have been explored for producing such systems.

The results indicate that these biobased materials have shown potential for various applications, such as cosmetic and therapeutic skincare applications. However, further research is necessary to optimize their formulation and production, and to evaluate both their effectiveness and life-cycle assessment.

**Acknowledgments**

The authors are very grateful for the support given by research unit Fiber Materials and Environmental Technologies (FibEnTech-UBI), on the extent of the project reference UIDB/00195/2020, funded by the Fundação para a Ciência e a Tecnologia, IP/MCTES through national funds (PIDDAC).

[1] Morais, F.P.; Curto, J.M.R. Design and Engineering of Natural Cellulose Fiber-Based Biomaterials with Eucalyptus Essential Oil Retention to Replace Non-Biodegradable Delivery Systems. *Polymers* 2022, 14, 3621. <https://doi.org/10.3390/polym14173621>

[2] Morais, F.P.; Carta, A. M. S, Amaral, M.E.C., Curto, J.M.R. (2021). Micro/nano-fibrillated cellulose (MFC/NFC) fibers as an additive to maximize eucalyptus fibers on tissue paper production. *Cellulose*. 28. 10.1007/s10570-021-03912-9.

**Keywords:** Cellulose fibers; Dermic applications; Eucalyptus; Cannabis; 3D Porosity Simulation.



XXVI Conferência Internacional – Forest Biobased Materials - TECNICELPA 2023  
11, 12, 13 outubro 2023 – COIMBRA, Portugal

## SIMULATION OF BIOCOMPOSITES FOR PRINTED CIRCUIT BOARD USING CELLULOSE TO REPLACE GLASS FIBERS

João C. Velosa Pereira<sup>1\*</sup>, José A. S. Mendes<sup>1</sup>, João F. Bettencourt Medeiros<sup>1</sup>, Ana Paula  
Gomes<sup>1</sup>, Elsa S. Fonseca<sup>1</sup>, Paulo T. Fiadeiro<sup>1</sup>, Geoffrey R. Mitchell<sup>2</sup>, Joana M.R. Curto<sup>1\*</sup>

<sup>1\*</sup> Fiber Materials and Environmental Technologies Research Unit (FibEnTech-UBI) Universidade da Beira  
Interior, UBI, Rua Marquês d'Ávila e Bolama, 6200-001, Covilhã, Portugal

[\\*joao.carlos.pereira@ubi.pt](mailto:*joao.carlos.pereira@ubi.pt); [joana.curto@ubi.pt](mailto:joana.curto@ubi.pt)

<sup>2</sup> Centre for Rapid and Sustainable Product Development, IPL, Marinha Grande, Leiria, Portugal

### ABSTRACT

This work describes the importance of the replacement of glass fibers by cellulose fibers in the manufacturing of Printed Circuit Board (PCB). To predict and quantify the influence of the replacement of fibers we have done a comparative study of different natural cellulose fibers and conventional glass fibers. Simulations were done using Finite Element Method (FEM) analysis applied to PCB materials. Several simulation experiments with composites made from glass fibres, micro and nano cellulose eucalyptus fibers, epoxy resins and copper foils are presented. The results indicate that the simulation of the PCB assembly process made using several materials from the PCB layers were able to predict key thermomechanical properties. Some PCB configuration were selected and modelled using different natural fibres from eucalyptus, cannabis, and bamboo. This natural fibres composites performance was compared with conventional PCB systems, built with glass fibers, and epoxide resin. The results of this work in progress indicate that the simulation of fiber-based materials is an important step to design and engineering sustainable PCB materials.

**Palavras-chave:** Cellulose Fibers, Printed Circuit Board, Simulation, Sustainability, Finite Element Method

### Acknowledgments

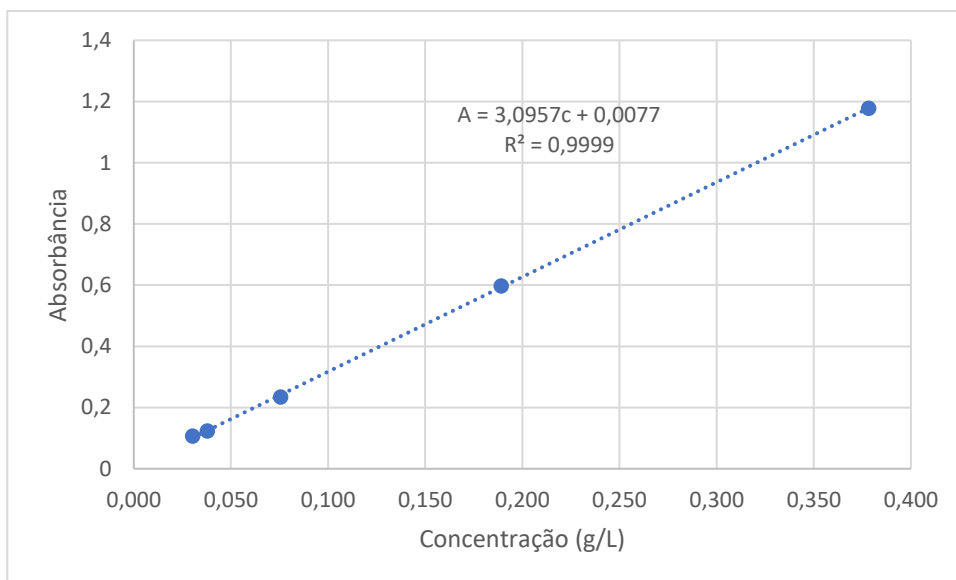
The authors are very grateful for the support given by research unit Fiber Materials and Environmental Technologies (FibEnTech-UBI), on the extent of the project reference UIDB/00195/2020, funded by the Fundação para a Ciência e a Tecnologia, IP/MCTES throughnational funds (PIDDAC).



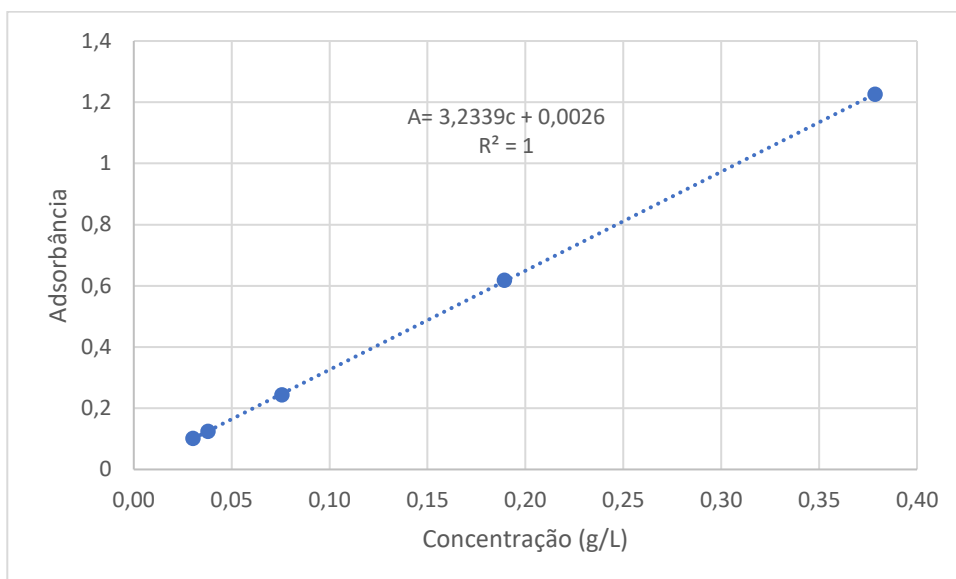
Fundação  
para a Ciência  
e a Tecnologia



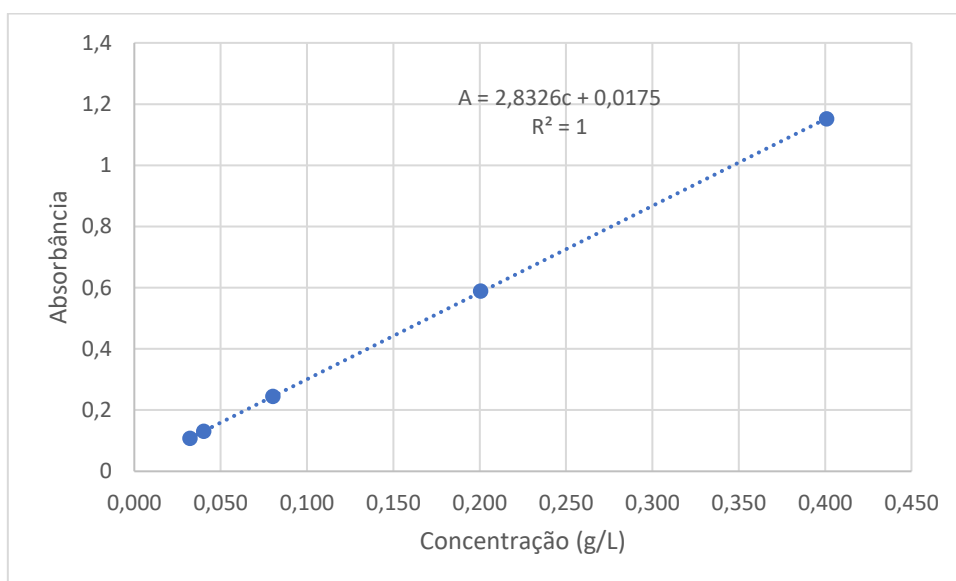
## Anexo B. Gráficos das curvas de calibração para determinar a concentração do chá



**Figura B.1:** Curva de calibração para o chá preto *Orange Pikoe*.

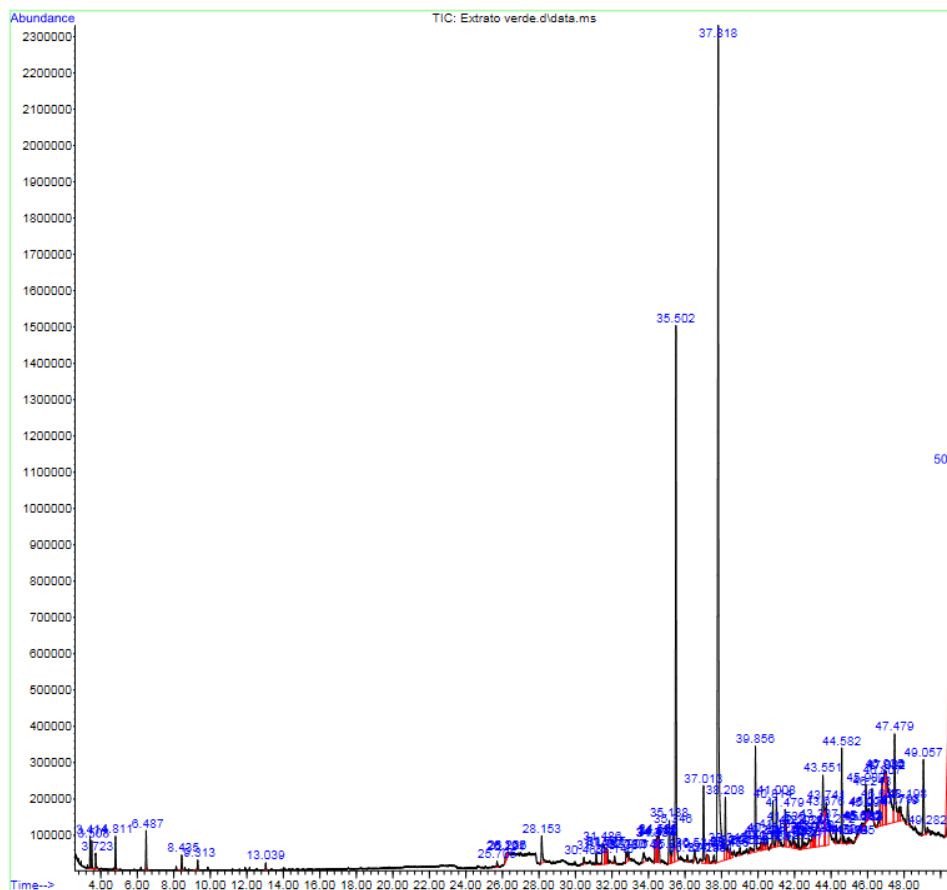


**Figura B.2:** Curva de calibração para o chá preto *Pikoe*.

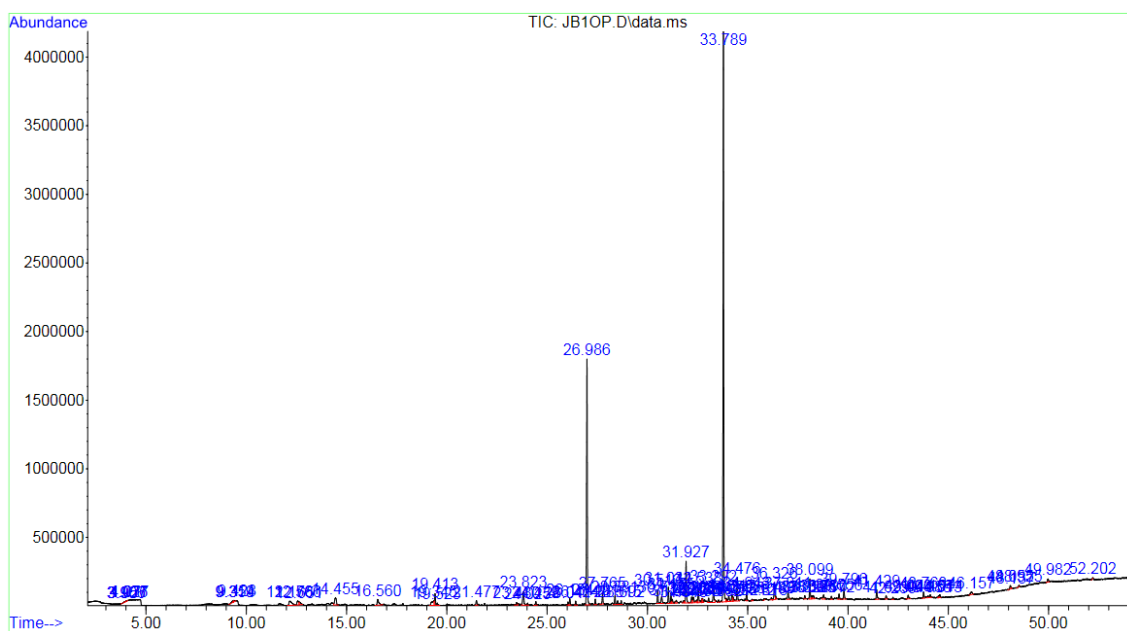


**Figura B.3:** Curva de calibração para o chá preto *Broken Leaf*.

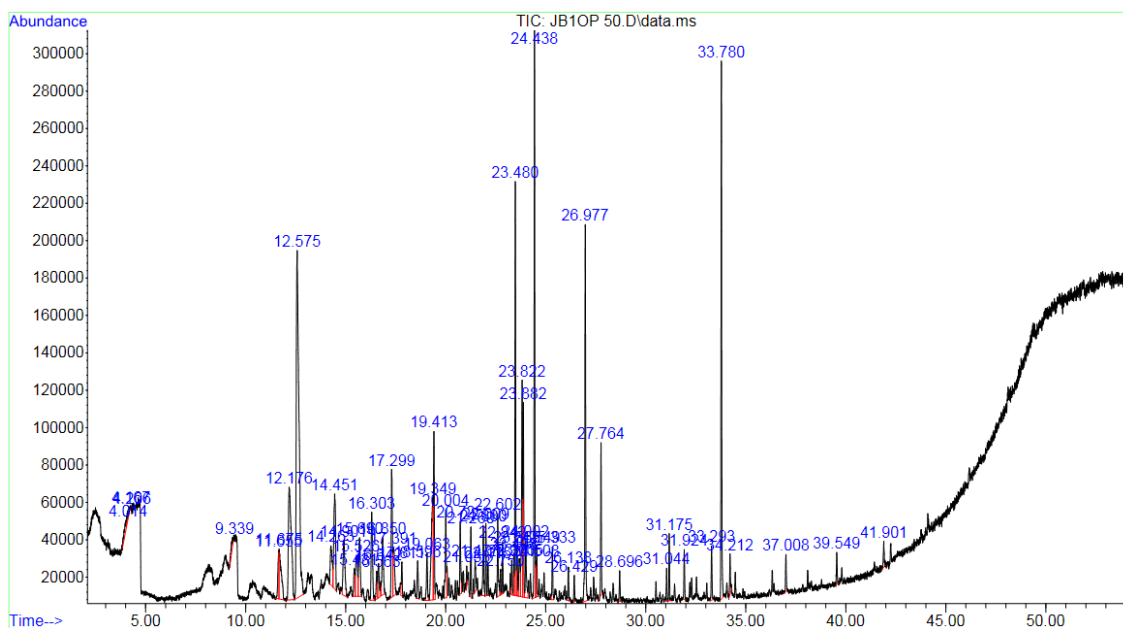
## Anexo C. Cromatogramas e Compostos obtidos a partir da análise do chá verde da Gorreana



**Figura C.1:** Cromatograma do extrato de chá verde obtido por GC:MS.



**Figura C.2:** Cromatograma da amostra de chá verde extraído por HS-SPME a temperatura ambiente.

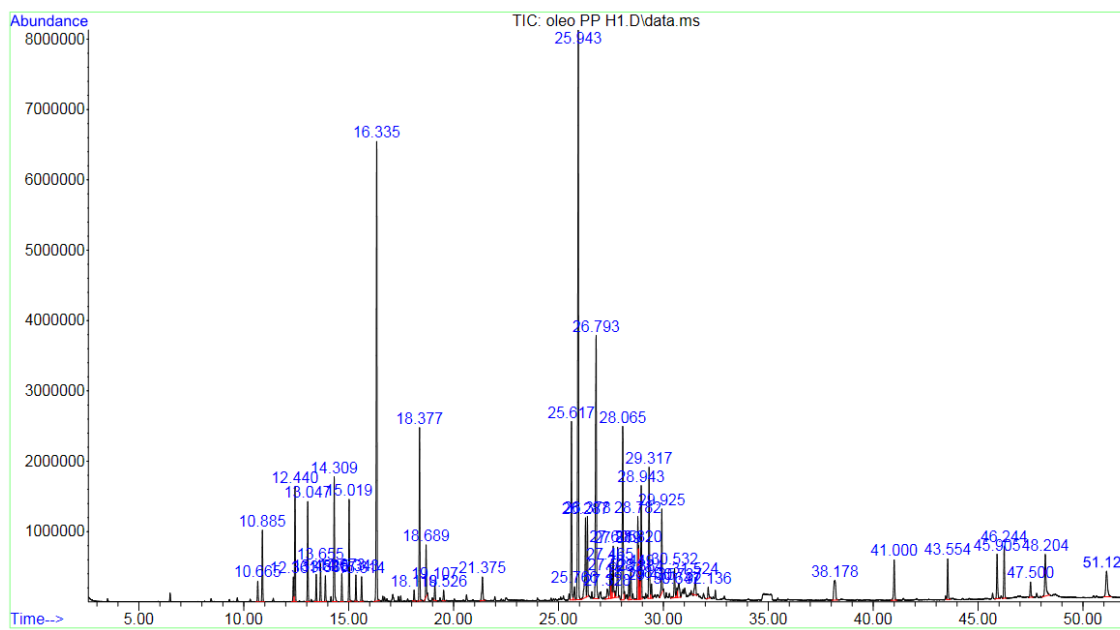


**Figura C.3:** Cromatograma da amostra de chá verde extraído por HS-SPME a 50°C.

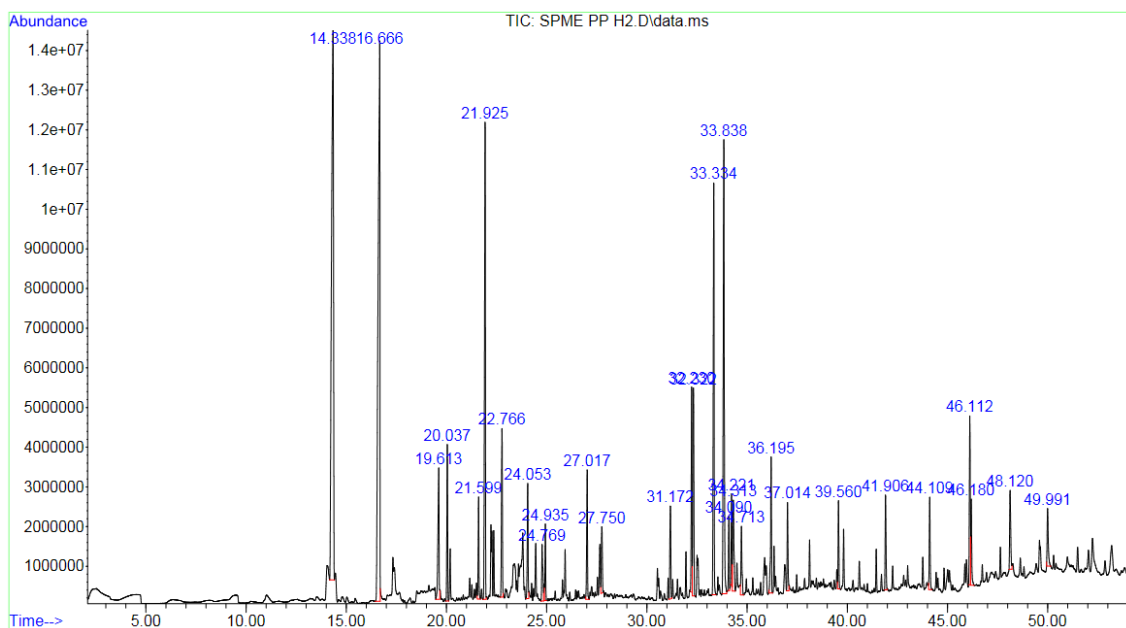
**Tabela C.1:** Compostos identificados por SPME no chá verde.

Composto	%	Tempo de Retenção (min)
Óxido de Linalool	9,3	12,175
3,7 Dimetil 1,6 octadieno 3 ol	26	12,575
Nerol	2,56	17,302
Dodeca metil ciclohexasiloxano	4,02	19,413
$\beta$ -ionona	8,69	23,481
Tetra Decametil cicloheptasiloxano	6,08	23,825
$\alpha$ Muuroleno	3,9	23,882
$\delta$ Cadineno	10,6	10,61
Hexadeca metil ciclooctasiloxano	3,09	27,761
Dibutilftalato	11,6	33,781

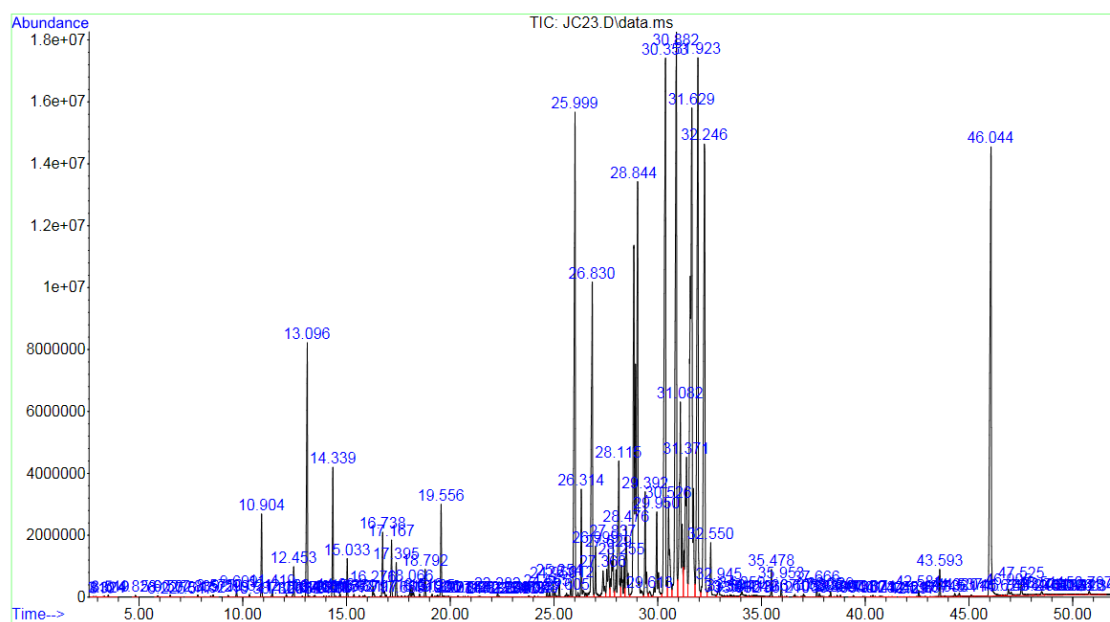
## Anexo D. Cromatogramas e Compostos identificados no óleo de cânabis e mentrastos



**Figura D.1:** Cromatograma da amostra do óleo essencial da flor de cânabis e mentrastos.



**Figura D.2:** Cromatograma da análise dos compostos voláteis do hidrotato.



**Figura D.3:** Cromatograma da análise do óleo essencial proveniente da flor de cânabis isoladamente.

**Tabela D.1:** Compostos predominantes no óleo de canábis e mentrastos, obtidos por análise GC-MS.

Composto	%	Tempo de Retenção (min)
$\alpha$ Pineno	1,6	10,887
2 $\beta$ Pineno	2,6	12,439
$\beta$ Mirceno	2,1	13,048
$\beta$ Pelandrenos	2,8	14,308
$\beta$ Ocimeno	2,1	15,018
$\alpha$ Terpinoleno	10,8	16,333
Mentona	3,8	18,377
$\beta$ Cariofileno	14,3	25,941
Biciclo [3.1.1] hept 2 eno, 2,6 dieno	2,2	26,289
$\alpha$ Guaieno	1,7	26,377
$\alpha$ Humuleno	8,1	26,795
$\beta$ Selineno	1,3	27,604
$\alpha$ Selineno	1,4	27,818
$\delta$ Guaieno	4,7	28,066
$\gamma$ Selinenos	2,0	28,783
Selina 3 7,11 dieno	2,6	28,942
Germacreno B	3,3	29,319
Óxido de cariofileno	2,2	29,925

**Tabela D.2:** Compostos presentes no hidrolato, obtidos por análise GC-MS.

Composto	%	Tempos de Retenção (min)
Citronelol	10,3	14,338
$\beta$ Cintronelol	8,9	16,666
2,6 dimetil, 2,6 Octadieno	1,1	20,042
$\beta$ Cariofinelo	3,9	21,931
$\alpha$ Humuleno	1,5	22,772
$\delta$ Guaieno	0,9	24,053
Dibutilftalato	4,3	33,844
Tetracosa metil ciclodeca siloxano	0,8	41,912

**Tabela D.3:** Compostos presentes no óleo essencial de cânabis.

Composto	%	Tempos de Retenção (min)
$\alpha$ Pineno	0,7	10,905
$\beta$ Pineno	0,3	12,453
$\beta$ Mirceno	2,5	13,096
D Limoneno	1,1	14,338
1,6 Octadieno <sub>3</sub> ol, 3,7dimetil	0,6	16,74
Norcanphor	0,3	18,066
$\beta$ Cariofileno	5,8	26,000
$\alpha$ Humuleno	4,1	26,314
$\alpha$ Copaeno	0,5	27,368
$\beta$ Selineno	0,8	27,630
$\alpha$ Selineno	0,9	27,837
$\beta$ Bisaboneno	2,1	27,837
$\Delta$ Cadineno	1,10	28,476
$\gamma$ Selineno	10,9	28,842
Óxido de Cariofileno	1,3	29,951
Guaiol	8,2	30,353
$\gamma$ Eudesmol	8,3	30,882
5Azul ene metanol	7,5	31,924
$\alpha$ Bisabolol	6,8	32,245
Trans Canabidiol	6,8	46,044

## Anexo E. Propriedades morfológicas das fibras de celulose

**Tabela E.1:** Propriedades morfológicas das pastas não refinadas.

	Hardwood:Softwood				
	Hardwood	Softwood	90:10	80:20	50:50
Comprimento médio ( $\mu\text{m}$ )	749	2270	842,5	930	1155,5
Fibra-Largura média ( $\mu\text{m}$ )	15,5	27,2	16,6	17,1	18,1
Massa Linear (mg/m)	1,00	0,26	0,08	0,10	0,14
Fibra-Fibrilação (%)	0,42	0,97	0,69	0,76	0,74
Fibras Cortadas (%)	17,7	35,6	25,4	26,1	26,7
Fibras Dobradas (%)	44,1	44,7	43,7	46,5	47,7
População fibrosa (milhões/g celulose seca)	1,5	3,8	19,4	15,4	10,5

**Tabela E.2:** Propriedades morfológicas das fibras refinadas.

	Hardwood				Softwood		
	HW_MT_1	HW_MT_3	HW_MT_6	HW_MT_12	SW_MT_1	SW_MT_3	SW_MT_6
Comprimento médio ( $\mu\text{m}$ )	773	754	722	664	2284	2215	1977
Fibra-Largura média ( $\mu\text{m}$ )	17,1	17,9	18,6	20,2	28,2	29,7	29,7
Massa Linear (mg/m)	0,07	0,07	0,07	0,07	0,24	0,15	0,22
Fibra-Fibrilação (%)	0,79	1,04	1,41	2,20	1,18	2,14	2,86
Fibras Cortadas (%)	25,8	28,3	29,1	31,8	36,0	36,1	37,8
Fibras Dobradas (%)	34,7	36,6	37,4	45,4	32,2	32,9	36,7
População fibrosa (milhões/g celulose seca)	22,9	22,2	22,6	26,7	4,1	7,1	5,4

## Anexo F. Propriedades estruturais e óticas das matrizes 3D celulósicas

**Tabela F.1:** Propriedades físicas e óticas das estruturas não refinadas.

			<i>Hardwood:Softwood</i>		
	<i>Hardwood</i>	<i>Softwood</i>	90.10	80.20	50.50
Espessura (mm)	0,165	0,172	0,189	0,215	0,208
Desvio Padrão	0,006	0,010	0,008	0,010	0,011
Gramagem (g/m <sup>2</sup> )	54,53	50,01	61,18	65,56	65,37
Desvio Padrão	1,04	2,53	1,38	1,25	1
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	0,33	0,29	0,32	0,3	0,31
Desvio Padrão	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Porosidade (%)	77,96	80,59	78,42	79,67	79,01
Desvio Padrão	0,41	0,75	0,62	0,7	0,78
Brancura (%)	71,54	24,94	64,03	55,73	41,02
Desvio Padrão	0,46	0,16	0,71	0,28	0,29
Opacidade	79,6	95,01	90,61	94,58	96,91
Desvio Padrão	1,36	0,71	0,29	0,38	0,38

**Tabela F.2:** Propriedades físicas e óticas das estruturas refinadas.

	<i>Hardwood</i>			<i>Softwood</i>		
	HW_MT_1	HW_MT_3	HW_MT_6	SW_MT_1	SW_MT_3	SW_MT_6
Espessura (mm)	0,091	0,074	0,067	0,114	0,097	0,085
Desvio Padrão	0,002	0,002	0,002	0,003	0,003	0,003
Gramagem (g/m <sup>2</sup> )	61,18	62,26	64,21	64,76	66,51	63,9
Desvio Padrão	0,71	0,57	0,23	1,2	1,61	2,33
Densidade (g.cm <sup>3</sup> )	0,68	0,85	0,97	0,57	0,68	0,74
Desvio Padrão	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
Porosidade (%)	54,57	43,49	35,24	62,25	54,78	50,41
Desvio Padrão	0,58	1,30	0,95	0,46	0,66	0,98
Brancura (%)	68,95	63,63	57,86	22,93	20,16	19,51
Desvio Padrão	0,17	0,48	0,49	0,15	0,25	0,13
Opacidade	78,82	73,96	69,77	96,56	95,71	93,53

## Anexo G. Propriedades mecânicas das estruturas de celulose

**Tabela G.1:** Características mecânicas das estruturas produzidas sem refinação.

Amostras	<i>Hardwood:Softwood</i>				
	60 g/m <sup>2</sup>				
	HW	SW	90:10	80:20	50:50
Índice de Tração (Nm/g)	9,6	10,8	11,6	10,2	11,3
Desvio Padrão	1,3	1,6	2,2	0,5	0,8
Módulo de Elasticidade (MPa)	483,1	770,0	763,2	605,0	671,4
Desvio Padrão	78,9	117,6	115,2	31,4	60,9

**Tabela G.2:** Características mecânicas das estruturas sujeitas a refinação.

Amostras	<i>Hardwood</i>			<i>Softwood</i>		
	60g.m <sup>-2</sup>					
	HW_MT_1	HW_MT_3	HW_MT_6	SW_MT_1	SW_MT_3	SW_MT_6
Índice de Tração (Nm/g)	48,7	71,9	85,6	44,3	71,0	86,8
Desvio Padrão	3,9	6,2	5,8	2,8	4,1	3,4
Módulo de Elasticidade (MPa)	4261,2	5366,0	5956,0	3048,3	4708,0	5131,5
Desvio Padrão	160,1	478,0	431,6	144,0	205,4	494,2