



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO
CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
DOS MATERIAIS – PPGCM
CÂMPUS SOROCABA**



Joelen Osmari da Silva

**OBTENÇÃO DE ACETATO DE CELULOSE A PARTIR DE BAGAÇO
DE CANA-DE-AÇÚCAR E ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO***

Sorocaba

2019

Joelen Osmari da Silva

**OBTENÇÃO DE ACETATO DE CELULOSE A PARTIR DE BAGAÇO
DE CANA-DE-AÇÚCAR E ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO***

Defesa de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais, como exigência parcial para obtenção do título de mestre em Ciências dos Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Vagner Roberto Botaro

Sorocaba

2019

Silva, Joelen Osmari

Obtenção de acetato de celulose a partir de bagaço de cana-de-açúcar e análise de degradação in vitro / Joelen Osmari Silva. -- 2019.
115 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba

Orientador: Vagner Roberto Botaro

Banca examinadora: Dr. Vagner Roberto Botaro, Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek, Dra. Maira de Lourdes Rezende

Bibliografia

1. Bagaço de cana-de-açúcar. 2. Acetato de celulose. 3. Degradação in vitro. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano – CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Joelen Osmari da Silva, realizada em 07/03/2019:

Prof. Dr. Vagner Roberto Botaro
UFSCar

Profa. Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek
PUC-SP

Profa. Dra. Maira de Lourdes Rezende Komatsu
Fatec-SO



*Dedico este trabalho à minha família,
sempre presente e disposta a me apoiar em
todas as dificuldades.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, que permitiu a realização deste trabalho, abrindo portas e caminhos.

À minha mãe Rosmeire e tia Rosmira por estarem sempre presentes, me apoiando incondicionalmente ao longo do percurso e em mais esta etapa.

Ao meu namorado Leandro, pelo amor, carinho e acima de tudo pela compreensão quando por muitas vezes não pude estar presente.

Ao meu orientador Vagner Roberto Botaro por sua competência, confiança, dedicação e incentivo.

Aos amigos Brian, Daniele, Maria Angélica, Winicius e Leticia pelo companheirismo, amizade, por todas as brincadeiras que tornaram os longos dias de aulas e estudos menos cansativos, por estarem sempre presentes em momentos de dificuldades, incentivando até o último segundo, e olha que foram muitos incentivos.

Ao Grupo de Pesquisa em Materiais Lignocelulósicos – GPML: Anna, Karina, Jéssica, Marcelle e Roberta, por todo o apoio ao longo deste e outros trabalhos, pela disponibilidade, parceria e amizade.

Aos usuários do laboratório de materiais lignocelulósicos, em especial ao professor Fabio Minoru Yamaji, pelos diversos auxílios ao longo deste trabalho.

Ao professor Doutor Daniel Komatsu e Priscila Breda pelos auxílios imprescindíveis para as análises de FTIR e degradação in vitro.

À Karina Palmezani e Roberta Ranielle pelas análises de DMTA.

Ao professor Doutor Francisco Trivinho Strixino e Maria Angélica pelos auxílios imprescindíveis durante as análises de UV-VIS.

À Jéssica Asami pela análise de MTT e cultura celular.

À Moema Hausen pela análise de microscopia confocal.

Ao programa de Pós-graduação em Ciências dos Materiais e Professores.

Às agências de fomento CNPQ, CAPES e FAPESP pelos auxílios financeiros.

À todos os meus ex-professores, pois possibilitaram, cada um à sua maneira, a realização deste sonho.

Em Ciência, muitas vezes o objetivo não é tanto ver o que ainda ninguém viu, mas sim pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todos veem.

(Erwin Schrödinger)

Nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez.

(Thomas Edison)

RESUMO

SILVA, J. O. **Obtenção de acetato de celulose a partir de bagaço de cana-de-açúcar e análise de degradação *in vitro***. 2019. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais) - Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2019.

Palavras-chave: bagaço de cana-de-açúcar, acetato de celulose, caracterização, degradação *in vitro*, biomaterial.

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L.*) é atualmente um dos principais produtos agrícolas. Considerando a alta produção de bagaço de cana-de-açúcar no Brasil e no mundo, o objetivo foi obter membranas de acetato de celulose (AC) de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado em diferentes granulometrias, utilizando os processos de polpação acetossolve, branqueamento com clorito de sódio e reação heterogênea de acetilação, assim como verificar a degradação *in vitro* das membranas em solução PBS em condições corpóreas durante quatro meses e a possibilidade de aplicação como biomaterial mediante análise de citotoxicidade em cultura de células fibroblásticas humanas. O bagaço de cana-de-açúcar foi caracterizado quimicamente, as amostras obtidas em cada etapa do processamento foram caracterizadas por MEV e FTIR e o grau de transparência das membranas foi avaliado através de UV-VIS. As membranas obtidas a partir das fibras retidas na peneira de 20 mesh apresentaram maior transparência e resistência mecânica, desta forma, foram escolhidas para a análise de degradação *in vitro* em solução PBS e avaliação de citotoxicidade. A polpa branqueada e o AC tiveram o grau de polimerização determinado por viscosimetria e o grau de branqueamento da polpa branqueada foi determinado por alvura. O grau de substituição (GS) dos AC obtidos foi determinado por retrotitulação. As membranas submetidas à degradação foram analisadas por variação de pH, perda de massa, DMTA e UV-VIS das soluções PBS. A citotoxicidade foi avaliada através de análise de MTT e microscopia confocal. Foi possível observar que os processos foram mais eficientes com as fibras de maiores granulometrias e estas se mostraram possíveis biomateriais, pois houve proliferação celular durante a análise de citotoxicidade. Contudo, não foi possível garantir que durante o período de análise não houve degradação das membranas, são necessárias análises complementares para concluir esses resultados.

ABSTRACT

SILVA, J. O. **Getting of cellulose acetate from sugarcane bagasse and *in vitro* degradation analysis.** 2019. 115 f. Dissertation (Master of Science in Materials) - Federal University of São Carlos, Sorocaba, 2019.

Keywords: sugarcane bagasse, cellulose acetate, characterization, degradation *in vitro*, biomaterial.

The Sugarcane (*Saccharum officinarum L.*) is currently one of the main agricultural products. Considering the high production of sugarcane bagasse in Brazil and in the world, the objective was to obtain pre-treated sugarcane bagasse cellulose acetate (CA) membranes in different granulometrie. For this, was used the pulping processes acetosolve, bleaching with sodium chlorite and heterogeneous reaction of acetylation. Also, was verified the *in vitro* degradation of the membranes in PBS solution under body conditions for four months. And, finally, the possibility of application as biomaterial by cytotoxicity analysis in culture of human fibroblastic cells. The sugarcane bagasse was chemically characterized. The samples obtained at each stage of the processing were characterized by SEM and FTIR and the degree of membrane transparency was evaluated through UV-VIS. The membranes obtained from the fibers retained in the 20 mesh sieve presented greater transparency and mechanical resistance. In this way, they were chosen for the analysis of *in vitro* degradation in PBS solution and evaluation of cytotoxicity. The bleached pulp and the CA had the degree of polymerization determined by viscosimetry. The degree of bleaching of the bleached pulp was determined by whiteness. The degree of substitution (DS) of the CAs obtained was determined by retro-labeling. The membranes subjected to degradation were analyzed by pH variation, mass loss, DMTA and UV-VIS from PBS solutions. Cytotoxicity was assessed by MTT analysis and confocal microscopy. It was possible to observe that the processes were more efficient with the fibers of larger granulometry and that these are possible biomaterials, because there was cell proliferation during the analysis of cytotoxicity. However, it was not possible to guarantee that during the analysis period there was no degradation of the membranes. Further analyzes are necessary to conclude these results.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Principais produtores de cana-de-açúcar no mundo	19
Figura 2: Composição química básica dos materiais lignocelulósicos	21
Figura 3: Estrutura molecular da celulose.....	22
Figura 4: Formas de representação da molécula de β -D-glicose	22
Figura 5: Ilustração das reações de hidrólise em A e condensação em B.....	23
Figura 6: Ilustração da transformação da glicose em biomassa lignocelulósica.....	23
Figura 7: Esquema de interconversão entre os polimorfos da celulose	25
Figura 8: Unidades precursoras da lignina e principais núcleos aromáticos.....	26
Figura 9: Modelo estrutural da molécula de lignina	27
Figura 10: Componentes monoméricos das poliooses	28
Figura 11: Estrutura química do acetato de celulose.....	31
Figura 12: Reação de acetilação heterogênea para formação do triacetato de celulose.....	31
Figura 13: Evolução dos biomateriais.....	33
Figura 14: Esquema dos processos e análises realizados	35
Figura 15: Esquema do processo de polpação acetossolve	42
Figura 16: Esquema do processo de branqueamento	43
Figura 17: Esquema do processo de Acetilação.....	45
Figura 18: Esquema do processo de determinação do GS	46
Figura 19: Viscosímetro do tipo Ostwald	47
Figura 20: Formação das membranas por casting.....	50
Figura 21: Análise de degradação in vitro	53
Figura 22: Rendimento obtido com a separação das fibras.....	60
Figura 23: Alvura das polpas branqueadas	63
Figura 24: Distribuição do acetato de celulose precipitado no processo de acetilação	64
Figura 25: Fórmula estrutural plana do triacetato de celulose	65
Figura 26: Amostras obtidas através dos processos químicos	68
Figura 27: Membranas obtidas a partir do bagaço em diferentes granulometrias	69
Figura 28: Transmitância das membranas na região do espectro visível.....	71
Figura 29: Reflectância das membranas.....	73
Figura 30: Absorbância das membranas	75
Figura 31: Amostras de 20 mesh obtidas após cada processo.....	76
Figura 32: MEV das amostras obtidas com as fibras de 20 mesh.....	80

Figura 33: Espectros de FTIR das amostras submetidas à degradação em meio PBS.....	82
Figura 34: Gráfico de tensão/deformação das membranas de acetato de celulose submetido à degradação.....	83
Figura 35: Módulo de armazenamento das amostras submetidas à degradação e sem degradação	85
Figura 36: Módulo de perda das amostras submetidas à degradação e sem degradação	87
Figura 37: Tan delta das amostras submetidas à degradação e sem degradação	88
Figura 38: Análise de perda de massa das amostras submetidas à degradação	90
Figura 39: UV-VIS das soluções PBS das amostras submetidas à degradação	91
Figura 40: Análise de pH das amostras submetidas à degradação.....	92
Figura 41: Área das cinzas em que foi realizado o EDS	93
Figura 42: EDS das cinzas do bagaço de cana-de-açúcar in natura	93
Figura 43: Percentual dos elementos encontrados nas cinzas do bagaço de cana-de-açúcar..	94
Figura 44: Área da membrana em que foi realizado o EDS.....	95
Figura 45: EDS da membrana obtida com as fibras retidas na peneira de 20 mesh	95
Figura 46: Percentual dos elementos encontrados na membrana obtida com as fibras retidas na peneira de 20 mesh.....	96
Figura 47: MTT das células cultivadas em membrana obtida com as fibras retidas na peneira de 20 mesh	97
Figura 48: Microscopia confocal das células fibroblásticas humanas cultivadas em membranas de acetato de celulose obtidas de bagaço de cana-de-açúcar	98
Figura 49: Contagem das células viáveis a partir da microscopia confocal.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição do bagaço de cana-de-açúcar em relação a fibras e medula.....	18
Tabela 2: Tipos de celulose	24
Tabela 3: Dimensões de algumas células unitárias dos polimorfos da celulose	24
Tabela 4: Composição química do bagaço de cana-de-açúcar de acordo com a literatura e teores obtidos.....	61
Tabela 5: Graus de substituição obtidos para cada mesh	64
Tabela 6: Graus de substituição, fórmulas moleculares e massas molares dos acetatos de celulose obtidos	66
Tabela 7: Viscosidades relativa e intrínseca, grau de polimerização e massa molar viscosimétrica.....	66
Tabela 8: Variação da transparência das membranas ao longo do espectro visível.....	72
Tabela 9: Variação da reflectância das membranas ao longo do espectro	73
Tabela 10: Principais bandas de absorção dos espectros das amostras obtidas após cada processo químico	77
Tabela 11: Tensão, deformação e módulo de Young das amostras submetidas à degradação e sem degradação.....	84
Tabela 12: Módulo de armazenamento das amostras submetidas à degradação e sem degradação.....	86
Tabela 13: Módulo de perda das amostras submetidas à degradação e sem degradação.....	87
Tabela 14: Tan delta das amostras submetidas à degradação e sem degradação	89

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivos específicos	17
3	REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1	Cana-de-açúcar	18
3.2	Bagaço de cana-de-açúcar	19
3.3	Materiais lignocelulósicos	20
3.3.1	Celulose	21
3.3.2	Lignina.....	25
3.3.3	Polioses ou hemiceluloses	27
3.3.4	Extrativos.....	28
3.3.5	Cinzas	29
3.4	Processos de polpação organossolve e acetossolve	29
3.5	Processo de branqueamento com clorito de sódio.....	30
3.6	Processo de acetilação da celulose	30
3.7	Degradação da celulose	32
3.8	Biomateriais.....	32
3.9	Ensaio de adesão e viabilidade celular.....	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1	Separação das fibras por granulometria.....	36
3.2	Caracterizações químicas do bagaço de cana-de-açúcar	36
3.2.1	Umidade.....	36
4.2.2	Teor de Extrativos solúveis em água quente	36
4.2.3	Teor de Extrativos solúveis em solventes orgânicos	37
4.2.4	Teor de Cinzas	38

4.2.5	Teor de Holocelulose	38
4.2.6	Teor de α -celulose	39
4.2.7	Teor de α -celulose a partir da polpa branqueada	39
4.2.8	Teor de Polioses ou Hemiceluloses	40
4.2.9	Lignina Klason Insolúvel.....	41
4.3	Polpação acetossolve	41
4.4	Branqueamento	42
4.4.1	Alvura	43
4.5	Acetilação Heterogênea da polpa branqueada.....	44
3.5.1	Determinação do Grau de substituição (GS)	45
4.6	Viscosimetria	47
4.6.1	Viscosidade da polpa branqueada.....	47
4.6.2	Viscosidade do acetato de celulose.....	49
4.7	Formação das membranas.....	49
4.7.1	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS) das membranas para determinação do grau de transparência, absortividade e refletibilidade ...	50
4.8	Análises das amostras obtidas após cada etapa dos processos	51
4.8.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	51
4.8.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	51
4.9	Degradação <i>in vitro</i> das membranas de acetato de celulose.....	52
4.9.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para verificação de desacetilação	53
4.9.2	Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)	54
4.9.3	Análise de Perda de Massa	55
4.9.4	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS) das soluções (PBS).....	55
4.9.5	Análise de pH das soluções (PBS)	56

4.10	MEV/EDS para verificação de metais pesados	56
4.11	Ensaio de adesão e viabilidade celular	56
4.11.1	Cultivo das células fibroblásticas humanas	56
4.11.3	Adesão e viabilidade celular	57
4.11.4	Ensaio de redução de Tetrazólio (MTT)	57
4.11.5	Microscopia de varredura confocal	58
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
5.1	Separação das fibras por granulometria.....	60
5.2	Composição química do bagaço de cana-de-açúcar	60
5.3	Polpa branqueada.....	62
5.3.1	Alvura	62
5.4	Acetato de celulose e determinação do grau de substituição (GS).....	63
5.5	Determinação das massas molares médias dos acetatos de celulose obtidos	65
5.6	Viscosimetria	66
5.7	Características das amostras obtidas em cada processo	68
5.8	Obtenção das membranas	69
5.8.1	UV-VIS das membranas para determinação do grau de transparência	70
5.9	Análises das amostras obtidas após cada etapa do processo	75
5.9.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	75
5.9.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	80
5.10	Degradação <i>in vitro</i>	81
5.10.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para verificação de desacetilação	81
5.10.2	Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)	82
5.10.3	Análise de Perda de Massa	89
5.10.4	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS) das soluções PBS das amostras submetidas à degradação.....	90

5.10.5	Análise de PH das soluções	92
5.11	MEV/EDS para verificação de metais pesados	92
5.11.1	EDS das cinzas	93
5.11.2	EDS das membranas	94
5.12	Cultura celular	96
5.12.1	Ensaio de redução de tetrazólio (MTT)	96
4.12.2	Microscopia de varredura confocal	98
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	100
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	101

1 INTRODUÇÃO

Para a produção de celulose e seus derivados, geralmente são utilizados materiais lignocelulósicos como madeira e algodão, devido à elevada taxa de α -celulose que pode-se obter a partir do seu processamento (CARASCHI et al., 1996). Entretanto, qualquer material lignocelulósico pode ser utilizado para tal aplicação, desde que a forma de processamento seja aprimorada e adequada a cada material.

Os resíduos agroindustriais, como bagaço de cana-de-açúcar, farelo de cevada, sabugo e folhas do milho, palhas de arroz, de trigo e de sorgo, podem ser amplamente utilizados para obtenção de qualquer composto lignocelulósico, como polioses, lignina e celulose, cujos processamentos e produtos são conhecidos e variados (SILVA et al., 2009).

Atualmente, o mais estudado resíduo agroindustrial é o bagaço de cana-de-açúcar devido a sua alta produção e cujo cultivo ocorre em mais de setenta países. De acordo com Fontanetti e Bueno (2017), o Brasil produziu aproximadamente 694 milhões de toneladas na safra 2016/2017, o que o classifica como o maior produtor mundial.

O bagaço de cana-de-açúcar, assim como os demais materiais lignocelulósicos, possui a celulose como componente majoritário, a qual pode ser extraída e processada para utilização nas indústrias de papel e celulose e/ou obtenção de derivados como éteres de celulose, ésteres de celulose, celulosato de sódio, entre vários outros.

Devido às ligações de hidrogênio inter e intramoleculares que ocorrem nas cadeias da celulose, a mesma é insolúvel na maioria dos solventes (LIU et al., 2015). Desta forma, a substituição dos grupos hidroxila por grupos menos polares tem sido muito utilizada (MORGADO et al., 2011).

O acetato de celulose (AC) é um polímero termoplástico semicristalino de grande interesse comercial. É um dos principais derivados da celulose e possui como princípio a reação de substituição dos grupos hidroxila presentes na celobiose por grupos acetila (CERQUEIRA et al., 2010).

A degradação de um polímero é definida como qualquer reação química que altera a propriedade de interesse de um polímero, blenda ou compósito, como por exemplo: flexibilidade, aparência, resistência mecânica, dureza, entre diversas outras. Pode ser resultante de um processo de despolimerização, reticulação, oxidação ou cisão de ligações químicas e desencadeada por diversos fatores, tais como forma de processamento, tipo e uso do material (DE PAOLI, 2008).

O estudo da degradação dos biomateriais é de grande importância, pois a aplicação específica do mesmo depende diretamente da cinética de degradação e alteração progressiva das funcionalidades tendo em vista que tais alterações são progressivas e irreversíveis, além disso, as propriedades dos subprodutos gerados devido à degradação são de grande importância, pois podem ser citotóxicos. (PIRES et al., 2015).

Tendo em vista que as células podem ser mantidas e estudadas fora do organismo, a citotoxicidade de um material pode ser avaliada mediante cultura celular, permitindo a análise direta do comportamento celular por meio de microscopia e permitindo assim, uma avaliação prévia do comportamento de um organismo vivo quando em contato com o material em questão (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

Este tipo de análise é imprescindível como teste inicial da toxicidade de biomateriais, pois dependendo da proliferação celular, dentre outras variáveis, é possível avaliar se um material possui ou não potencial para apresentar biocompatibilidade.

Desta forma, este trabalho visa à obtenção de acetato de celulose a partir de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado, utilizando os processos de polpação acetossolve, branqueamento com clorito de sódio e reação heterogênea de acetilação. Os objetivos compreendem também a caracterização do acetato obtido para entender suas propriedades, análise da degradação de membranas de acetato de celulose *in vitro* em meio de solução tampão fosfato de sódio (PBS), para avaliação da possível degradação do mesmo assim como a possível aplicação deste como biomaterial.

A partir deste trabalho foi possível obter um material citocompatível, resistente à degradação e com boas propriedades mecânicas, além de possuir baixo custo, fácil obtenção e processamento, por ser proveniente de um resíduo agroindustrial.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo obter membranas de acetato de celulose a partir de bagaço de cana-de-açúcar, avaliar a degradação *in vitro* das membranas de AC e verificar a viabilidade celular das membranas através de cultura celular.

2.2 Objetivos específicos

- ❖ Caracterizar quimicamente o bagaço de cana-de-açúcar para determinação da umidade, teores de extrativos solúveis em água quente, extrativos solúveis em solventes orgânicos, cinzas, lignina Klason insolúvel, α -celulose, celulose, polioses e holocelulose;
- ❖ Obter membranas de AC de bagaço de cana-de-açúcar após a purificação da matéria-prima que consiste na remoção de extrativos solúveis em água quente e em ciclohexano/etanol, polpação pelo processo acetossolve, branqueamento com clorito de sódio e acetilação heterogênea;
- ❖ Caracterizar os produtos de cada etapa do processamento químico por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- ❖ Efetuar análise de degradação *in vitro* das membranas em meio de solução tampão fosfato de sódio (PBS) a uma temperatura de 37,8 °C (temperatura média corpórea). As membranas foram avaliadas com análises de perda de massa, variação de pH, análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA) e UV-VIS das soluções PBS;
- ❖ Verificar presença de metais pesados nas cinzas do bagaço de cana-de-açúcar e nas membranas através de microscopia eletrônica de varredura com sistema de energia dispersiva (MEV/EDS).
- ❖ Efetuar cultura celular para verificar a possibilidade de utilização deste material para utilização como biomaterial. A análise foi realizada através de ensaio de redução de tetrazólio (MTT) e microscopia de varredura confocal.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Cana-de-açúcar

A *Saccharum officinarum L.*, popularmente conhecida como cana-de-açúcar, é uma gramínea perene dicotiledônea pertencente à família Poaceae, cuja principal característica é o crescimento do caule em colmos, além de apresentar alto teor de fibras (FONTANETTI; BUENO, 2017). É constituída por fibras e medula, as quais possuem características diferentes entre si, sendo que as fibras possuem razão comprimento/diâmetro de aproximadamente 70, enquanto as medulas possuem esta razão próxima de 5, além de serem de tamanhos e formatos irregulares (PATURAU, 1989). A Tabela 1 apresenta a composição média do bagaço de cana-de-açúcar, quanto às fibras e medulas.

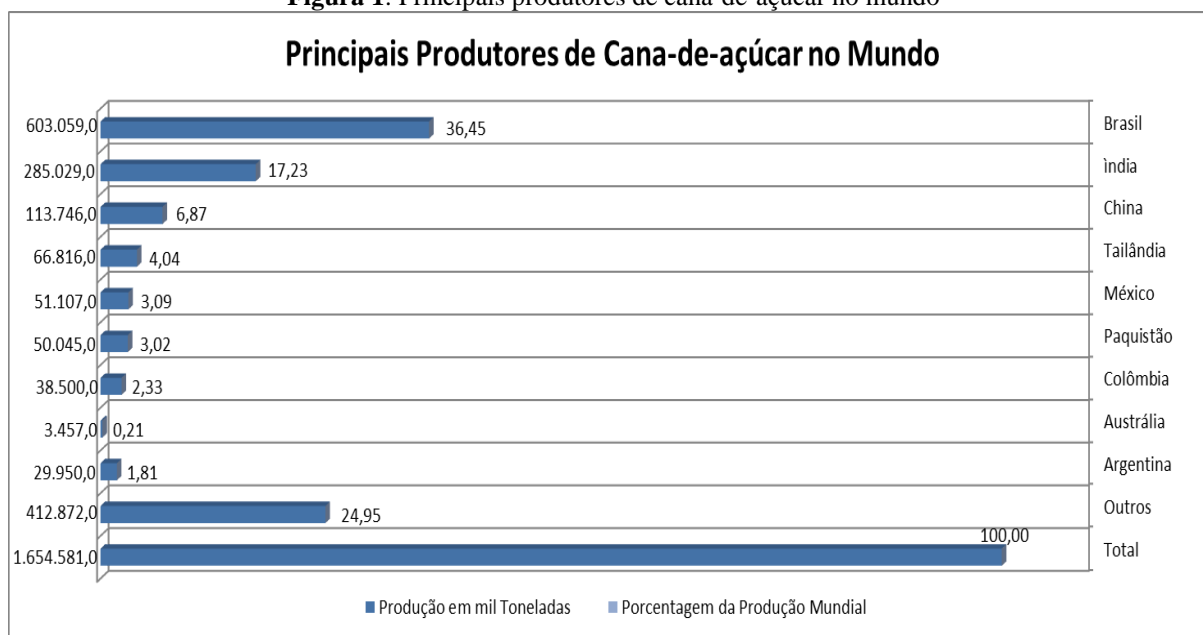
Tabela 1: Composição do bagaço de cana-de-açúcar em relação a fibras e medula

Tipo	Holocelulose	Celulose	Polioses	Lignina	Cinzas
Fibra	71,5	41,0	27,5	20,5	1,2
Medula	71,0	33,5	29,0	21,0	3,2
Total	70,5	36,0	26,0	20,0	2,2

Fonte: PATURAU (1989).

Acredita-se que a cana-de-açúcar é nativa da Nova Guiné e que sua cultura foi introduzida na América por Cristóvão Colombo em 1493. Oficialmente, a cana-de-açúcar foi trazida para o Brasil em 1532 por Martim Affonso de Souza, iniciando o cultivo da planta na Capitania de São Vicente (MACHADO, 2003).

O Brasil é atualmente o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, sendo que quase 70% da produção é oriunda da região sudeste do país, na forma de monoculturas extensivas, isso deve-se ao fato da mesma ser uma cultura tropical. O gráfico ilustrado na Figura 1 mostra a produção, em mil toneladas, dos maiores produtores de cana-de-açúcar do mundo, assim como as porcentagens das produções na safra 2017/2018 (FONTANETTI; BUENO, 2017).

Figura 1: Principais produtores de cana-de-açúcar no mundo

Fonte: Adaptado de FONTANETTI; BUENO (2017).

3.2 Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar é o resíduo sólido gerado a partir da moagem da cana, geralmente para a produção de etanol ou açúcar. De acordo com CONAB (2011), em torno de 90% deste resíduo agroindustrial é queimado em caldeiras nas próprias usinas para a geração de vapor, que por sua vez, é transformado em energia elétrica. Os 10% excedente é destinado, geralmente, à alimentação de animais ou descartados, causando sérios problemas de estocagem e poluição ambiental (REVISTA PESQUISA FAPESP, 1998).

O bagaço de cana-de-açúcar é um subproduto lignocelulósico fibroso rico em polissacarídeos como celulose e polioses, além de lignina, extrativos e compostos inorgânicos como sais e minerais (SANTOS et al., 2012), além disso, é formado por produtos estruturais como vasos, parênquimas e células epiteliais (CARVALHO, 2009).

É atualmente um dos principais produtos agrícolas utilizados como fonte de biomassa para geração de energia alternativa, contudo, poderia ser utilizado para a fabricação de produtos com maior valor agregado (CARASCHI, 1996).

É composto por fragmentos cujas dimensões oscilam, geralmente, de 1 a 25 mm, dependendo do tipo de processamento e moagem. Este resíduo agroindustrial possui em torno de 45% de estruturas fibrilares, que por sua vez, são compostas por 55 a 60% de fibras (células fibrilares), 30 a 35% de medula e 10 a 15% de outros componentes (ICIDCA, 1990).

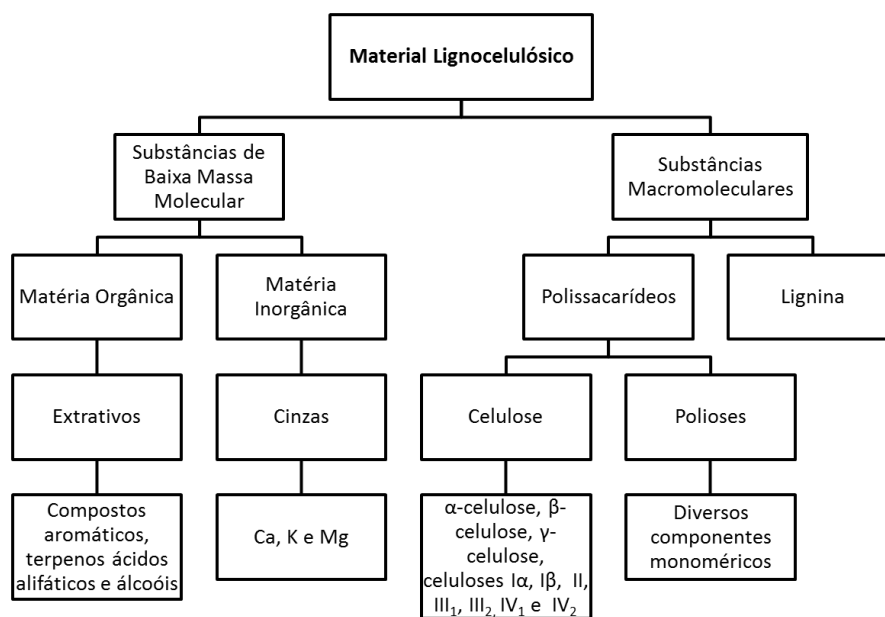
A medula é a parte interior do talo da cana, não lignificada e de pouca resistência, constituída por tecido parenquimático de caráter não fibroso no qual encontram-se as hastes fibrovasculares, compostas de fibras curtas e vasos cuja função é de sustentação e transporte de alimentos ao longo da planta (CANDIDO, 2011).

3.3 Materiais lignocelulósicos

Os materiais lignocelulósicos constituem um conjunto de macromoléculas orgânicas complexas, cuja função é estruturar e dar resistência às plantas, sendo, portanto, uma classe de polímeros naturais. São constituídos por carbono, oxigênio e hidrogênio, os quais são organizados de diferentes formas em diversos grupos funcionais, tais como álcoois, éteres, heterocíclicos e polifenólicos, além de grupos químicos fundamentais como carboxila, hidroxila e carbonila (FENGEL; WEGENER, 1984).

São materiais fibrosos compostos por matrizes complexas, nas quais encontram-se polissacarídeos como a celulose e poliooses, compostos inorgânicos, pectinas, resinas, graxas, gorduras, terpenos, alcaloides, carboidratos simples, polifenólicos, saponinas, gomas, entre outros. A celulose e as poliooses são impregnadas com o composto aromático lignina, que age como uma resina ligante entre os demais compostos (SILVA et al., 2009).

Tal classe de materiais é classicamente subdividida em substâncias de baixa massa molar, que são constituídas tanto de matéria orgânica, que são os extrativos e substâncias macromoleculares como lignina, celulose e poliooses, quanto de matéria inorgânica como as cinzas. O esquema de Figura 2, mostra a composição química básica dos materiais lignocelulósicos.

Figura 2: Composição química básica dos materiais lignocelulósicos

Fonte: Adaptado de KLOCK et al. (2005)

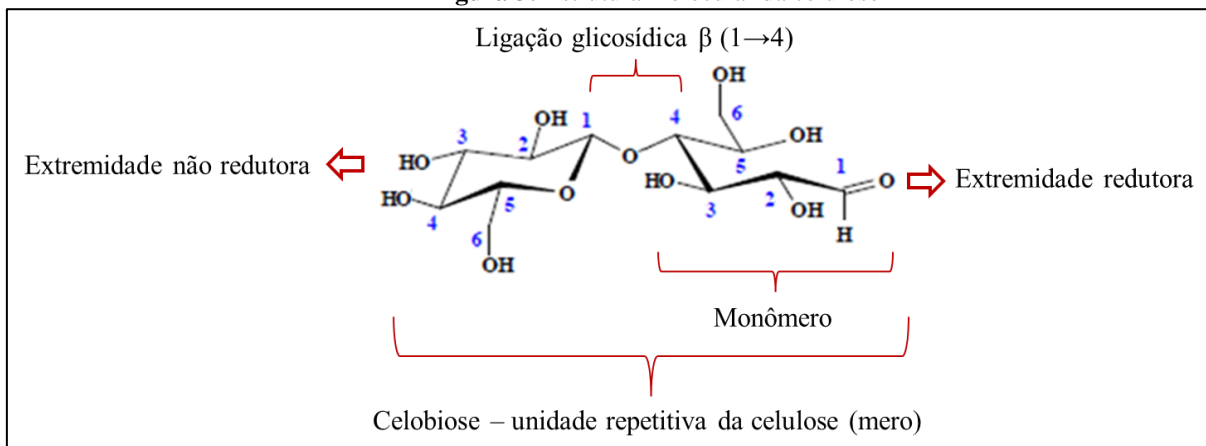
3.3.1 Celulose

A celulose é o composto polimérico natural mais abundante já descoberto. Foi descrita pela primeira vez em 1838 pelo químico Anselm Payen, como sendo um carboidrato formado por unidades condensadas de glicose (glucose, dextrose ou glicopirranose), cuja fórmula molecular e massa molar, são respectivamente $C_6H_{10}O_5$ e 162 g/mol. As moléculas de glicose condensadas são unidas por ligações glicosídicas, que são ligações covalentes resultantes da reação de condensação entre um carboidrato e um álcool (KLEMM, 2005 et al.). Após 1930, evidências demonstraram que trata-se de um polissacarídeo de alta massa molar, podendo variar de 50.000 a 2.500.000 g/mol dependendo da sua origem, linear, hidrofílico, não ramificado e com forte tendência a formação de ligações de hidrogênio inter e intramoleculares (KLOCK et al., 2005).

A celulose é composta por meros denominados celobiose, anidro glicose sindiotática ou anidroglicopirranose, ligados através de ligações glicosídicas $\beta(1-4)$, possuindo grupos hidroxila nas posições C-2, C-3 e C-6 (FENGEL; WEGENER, 1984). Os grupos terminais da cadeia polimérica possuem diferentes reatividades, sendo que o grupo $C_1 - OH$ possui propriedades redutoras, pois origina-se da conformação do anel da ligação intramolecular hemiacetal (piranose), enquanto o grupo $C_4 - OH$ não é redutor tratando-se do grupo funcional álcool (FENGEL; WEGENER, 1984). A Figura 3 ilustra a estrutura molecular da

celulose, contendo as extremidades redutora e não redutora, mero, monômero e ligação glicosídica, assim como as localizações dos grupos hidroxila.

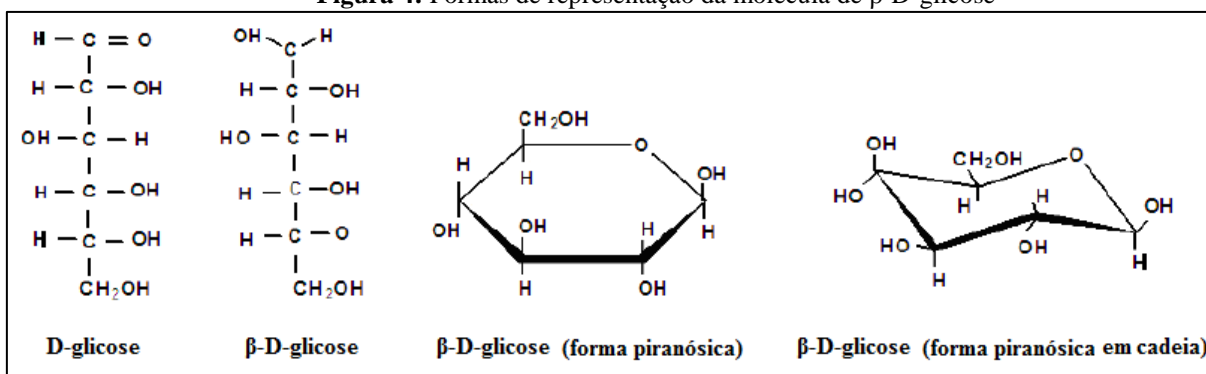
Figura 3: Estrutura molecular da celulose



Fonte: Adaptado de KLEMM (1998)

As moléculas de glicose ($C_6H_{10}O_6$) podem apresentar-se nas formas aldeídica (D-glicose) ou hemiacetal (β -D-glicose), podendo ser na forma piranósica ou piranósica em cadeia, onde a designação D deve-se à denominação dextrogiro, que ocorre quando o grupo químico hidroxila encontra-se à direita do carbono assimétrico mais distante do grupo aldeído e a designação β quando o mesmo encontra-se no lado oposto da cadeia em relação ao anel hemiacetal (KLOCK et al., 2005). Na Figura 4 estão ilustradas a D-glicose, que trata-se da forma aldeídica, a β -D-glicose, tratando-se da forma hemiacetal, a β -D-glicose na forma piranósica e a β -D-glicose na forma piranósica em cadeia.

Figura 4: Formas de representação da molécula de β -D-glicose



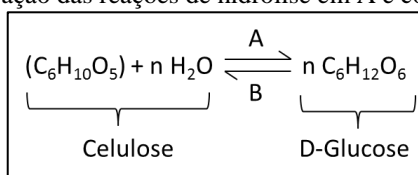
Fonte: KLOCK et al. (2005).

A D-glicose pode ser encontrada em duas formas cíclicas, dependendo da posição do substituinte do centro anomérico, a α -D-glicose, que ocorre no amido e assume uma forma espiral e a β -D-glicose, que possibilita a formação de cadeias mais estáveis e lineares, assim,

formando estruturas fibrosas e semicristalinas, como no caso da celulose, que devido a essa característica, é resistente à tração e insolúvel à maioria dos solventes.

A celulose também é denominada como anidroglicose, pois as unidades de glicose perdem água durante sua condensação em celulose, que por sua vez, ganha água ao ser hidrolisada à D-glicose. Desta forma, o prefixo anidro, significa que houve perda de água durante a reação. Tais reações ocorrem conforme ilustrado na Figura 5, na qual a reação A é de hidrólise e B de condensação.

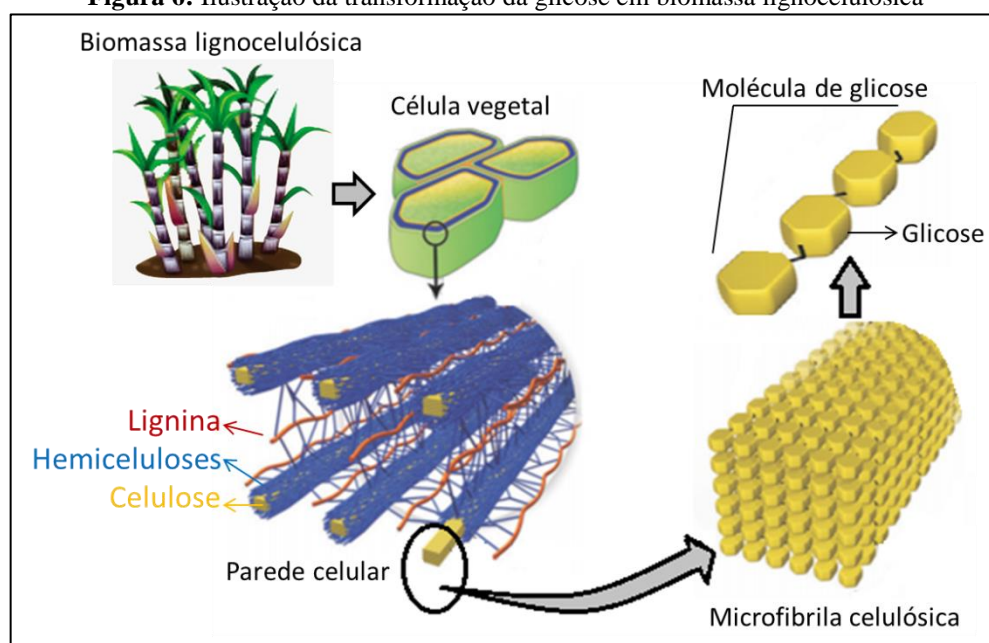
Figura 5: Ilustração das reações de hidrólise em A e condensação em B



Fonte: adaptado de KLOCK et al. (2005).

Os meros de glicose se ligam por ligações de van der Waals, formando as moléculas de celulose, que se alinham formando as microfibrilas, as quais possuem regiões cristalinas, semicristalinas e amorfas, que por sua vez, também se organizam originando as fibrilas, as quais agrupam-se de forma ordenada e assim dão origem às fibras de celulose, constituinte majoritário da parede células das plantas e encontrado também em algas e bactérias (KLOCK et al., 2005). O esquema desta transformação está ilustrado na Figura 6.

Figura 6: Ilustração da transformação da glicose em biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptado de SANTOS et al. (2012)

A celulose pode ser dividida em α -celulose, β -celulose, γ -celulose, tendo como base sua dissolução em solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) a uma concentração 17,5% (v/v) a temperatura de 20 °C e sua composição conforme Tabela 2.

Tabela 2: Tipos de celulose

Tipos de celulose	Solubilidade em NaOH 17,5% (v/v) a 20 °C	Identificação básica	Composição
α -celulose	Insolúvel	É o teor de celulose pura do material	Possui cadeias de alta massa molar
β -celulose	Solúvel	Precipita quando a solução é acidificada	Normalmente composta por celulose, polioses e celulose degradada
γ -celulose	Solúvel	Não precipita quando a solução é acidificada	Normalmente composta por celulose, polioses e celulose degradada

Fonte: adaptado de KLOCK et al. (2005)

A celulose exibe um considerável polimorfismo, o que se deve à variação da localização do grupo hidroximetila (CH_2OH) e conseqüentemente, variação das estruturas das fases cristalinas da mesma, ou seja, diferentes orientações e empacotamentos dos domínios cristalinos, possuindo assim diferentes dimensões das células unitárias. Atualmente são conhecidos sete polimorfos da celulose: I_α , I_β , II, III₁, III₂, IV₁ e IV₂. As formas e dimensões dos principais polimorfos estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Dimensões de algumas células unitárias dos polimorfos da celulose

Polimorfo	Forma da célula unitária	Dimensões			
		a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (graus)
I_α	Triclínica	6,71	5,96	10,40	$\alpha = 118,08$ $\beta = 114,80$ $\gamma = 80,37$
I_β	Monoclínica	7,76	8,20	10,37	$\gamma = 96,62$
II	Monoclínica	9,08	7,92	10,34	117,30
III	Monoclínica (Hexagonal)	9,90	7,74	10,30	122,00
IV	Ortorrômica	7,90	8,11	10,30	90,00

Fonte: I_α e I_β (RANBY, 1949 e NAVARRO, 2010), II, III e IV (SILVA e D'ALMEIDA, 2009).

Celulose I é a forma nativa, encontrada apenas na natureza. Possui orientação cristalográfica paralela. Este polimorfo pode ser encontrado em dois diferentes alomorfos, celulose I_α que é encontrada em algas e bactérias e celulose I_β , encontrada em plantas.

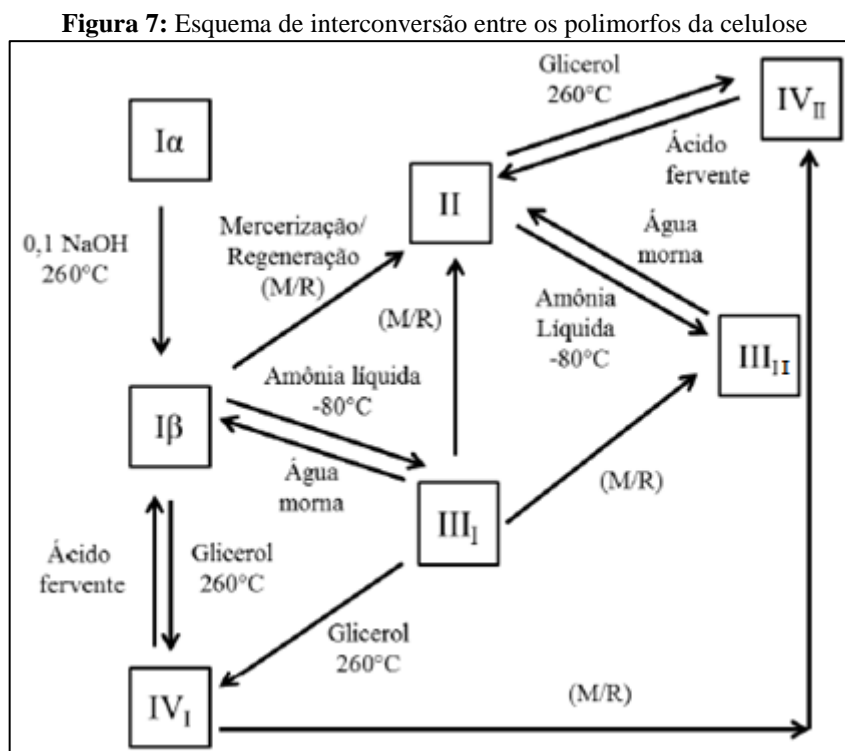
Celulose II é a regenerada, não podendo assim ser convertida em celulose I. Pode ser obtida a partir da mercerização, solubilização ou regeneração da celulose e raramente

encontrada na natureza, em algas marinhas. Devido à alteração na distribuição das ligações de hidrogênio e redução e alteração no empacotamento molecular a celulose II possui célula unitária diferente da celulose I, orientação cristalográfica antiparalela e é termodinamicamente mais estável.

Celulose III é formada a partir do tratamento em amônia líquida em temperaturas inferiores a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, resultando na recristalização da celulose. Possui os alomorfos III_1 e III_2 .

Celulose IV é obtida a partir do aquecimento da celulose a altas temperaturas num líquido polar e é muito semelhante à celulose I, podendo ser encontrada nas formas alomórficas IV_1 e IV_2 .

O esquema de interconversão entre alguns dos polimorfos da celulose está ilustrado na Figura 7.



Fonte: adaptado de O' SULLIVAN (1997) e OGEDA (2010).

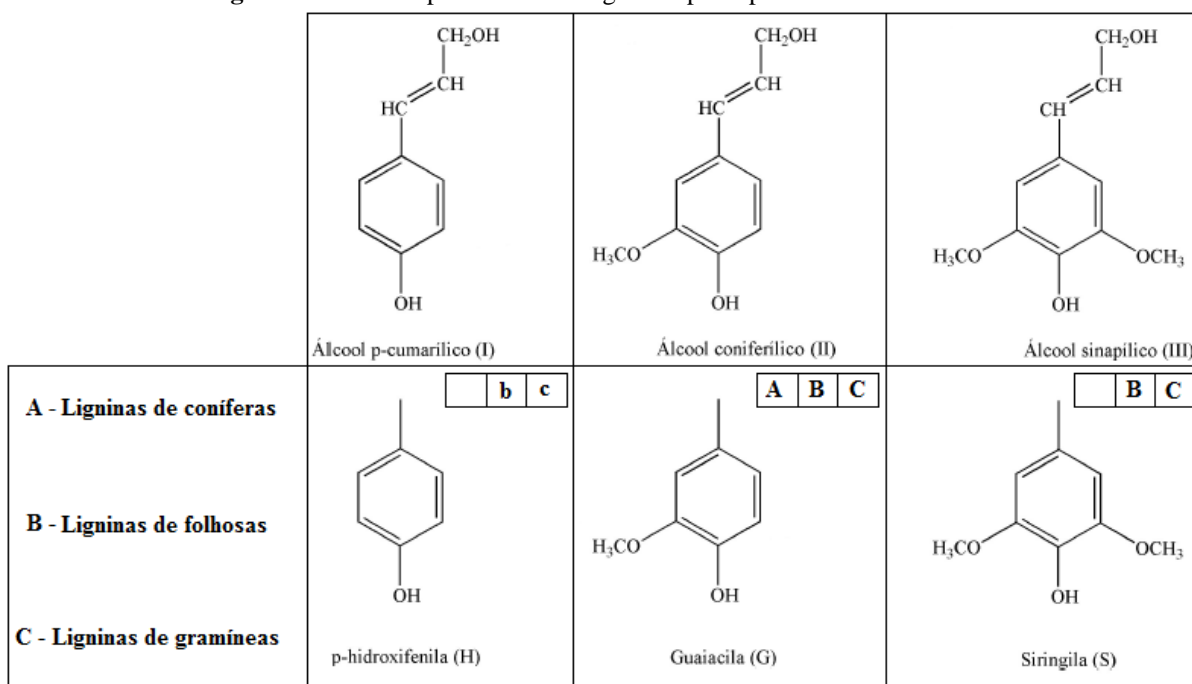
3.3.2 Lignina

Assim como a celulose, a lignina foi descoberta em 1838 pelo químico Anselm Payen e tem seu nome derivado do latim *Lignum*, que significa madeira (SJÖSTRÖM, 1993). Após diversos estudos, Peter Klason comprovou que trata-se de uma substância macromolecular e que as unidades de álcool coniferílico ocorrem através de ligações éter (KLOCK et al., 2005).

A lignina é um heteropolímero amorfo de fenilpropano, totalmente amorfa e quimicamente ligada às polioses (GERON et al., 2010). É basicamente um polímero aromático constituído por um sistema ramificado e heterogêneo, sem unidades repetitivas definidas.

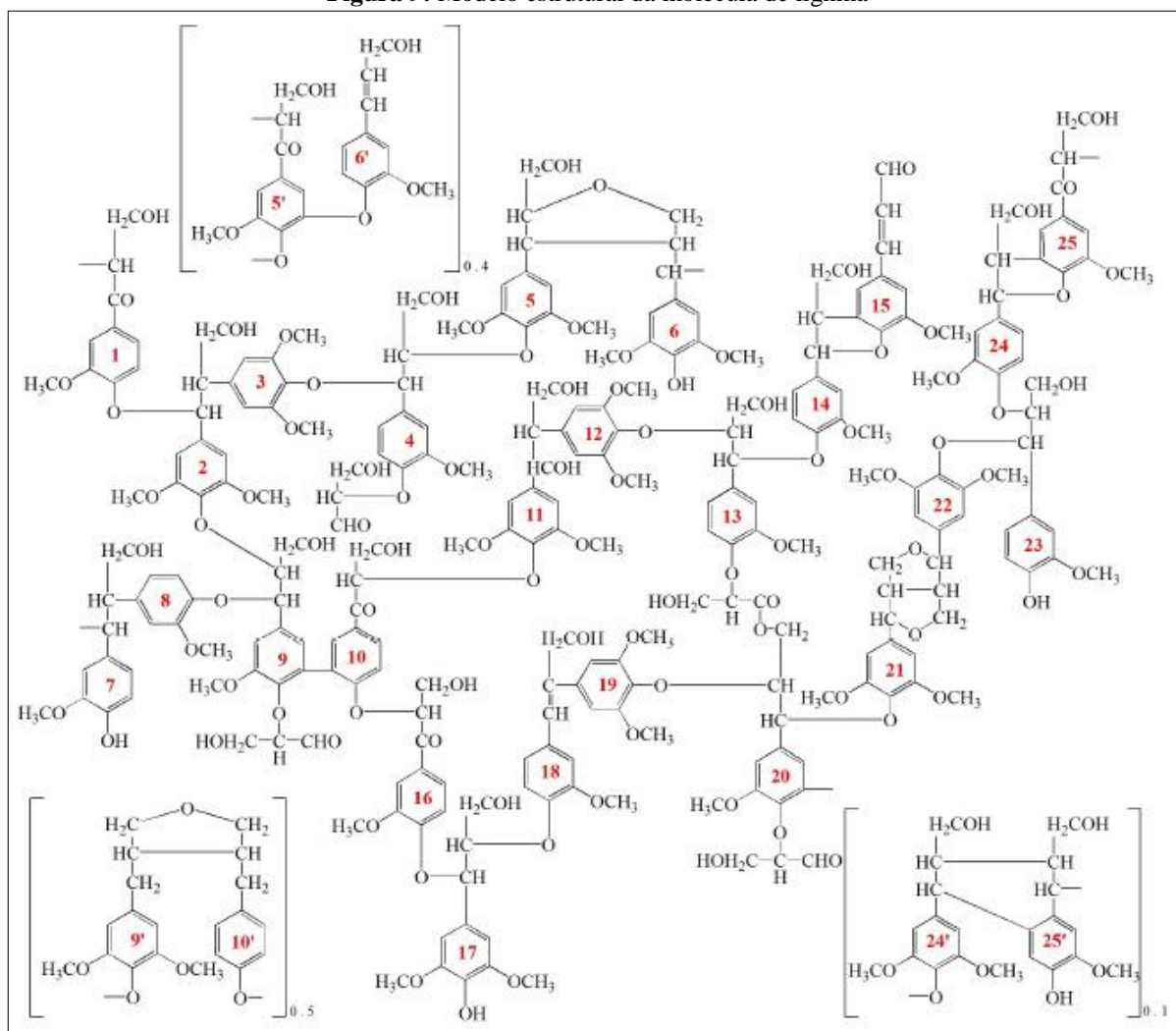
Possui como unidades precursoras o álcool cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico, que dão origem aos núcleos aromáticos p-hidroxifenila, guaiacila e siringila, respectivamente (SALIBA et al., 2001). O tipo e a proporção dos núcleos aromáticos variam dependendo do tipo de planta, conforme ilustrado na Figura 8, onde as letras maiúsculas indicam alta proporção e minúsculas, baixa proporção do núcleo em questão, presente em cada tipo de lignina.

Figura 8: Unidades precursoras da lignina e principais núcleos aromáticos



Fonte: A autora

A lignina tem como base o grupo químico fenil-propano ligado a diferentes quantidades de grupos hidroxílicos e metoxílicos, sendo que o último é o mais característico da lignina. Sua composição química pode ser descrita como $C_9H_{7,16}O_{2,44}(OCH_3)_{1,36}$ (FENGEL; WEGENER, 1984). A Figura 9 ilustra um modelo estrutural para uma molécula de lignina, de acordo com o modelo proposto por Nimz (1974).

Figura 9: Modelo estrutural da molécula de lignina

Fonte: NIMZ (1974).

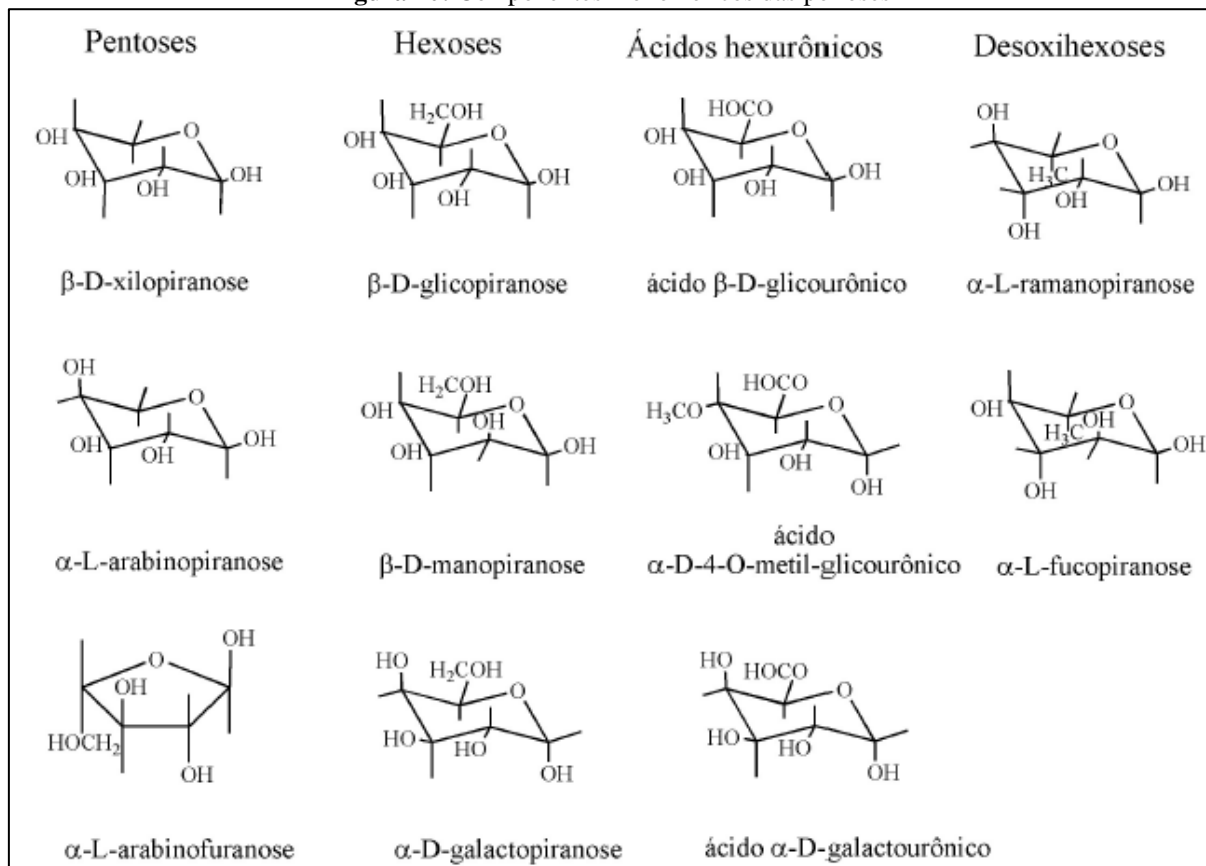
3.3.3 Polioses

As polioses, também chamadas de hemiceluloses são formadas por diversos polissacarídeos de baixa massa molar, são amorfas, possuem estruturas ramificadas e são compostas pela combinação de diversos açúcares, associados à celulose e a lignina nos tecidos vegetais (FENGEL; WEGENER, 1984).

Trata-se de uma classe de compostos poliméricos de baixa massa molar, onde os principais açúcares são as xilanas (xiloses, arabinoses, grupos acetila e grupos de ácidos urônicos) e as mananas (glicoses, manoses e grupos acetila). São polímeros compostos por pelo menos dois tipos de açúcares, sendo que os principais polissacarídeos são: galactoglucomananas, arabinoglucouranoxilanas, glucouranoxilanas, glucomananas e

arabinogalactanas (KLOCK et al., 2005). Os principais componentes monoméricos das polioses estão ilustrados na Figura 10.

Figura 10: Componentes monoméricos das polioses



Fonte: Adaptado de FENGEL; WEGENER (1984).

Enquanto a celulose apresenta estrutura semi-cristalina, natureza homopolissacarídica e alto grau de polimerização (1000 a 15.000 g/mol), as polioses são polímeros amorfos de natureza heteropolissacarídica, devido à sua estrutura variada, ramificada e desordenada, o que também resulta em baixa resistência mecânica e menores cadeias poliméricas e, conseqüentemente, menor massa molar e grau de polimerização (50 a 300 g/mol) (RODRIGUES, 2012).

3.3.4 Extrativos

Os extrativos podem ser definidos como a fração orgânica de baixa massa molar presente na parede celular junto com os componentes macromoleculares, como celulose, polioses e lignina. São pertencentes a diversas classes químicas, podendo ser divididos em duas grandes classes, extrativos solúveis em água e em solventes orgânicos e solúveis em

diversos solventes como éter, acetona, diclorometano, benzeno, etanol, água e misturas destes, além disso, sua concentração varia em relação à espécie vegetal (FENGEL; WEGENER, 1984).

Os extrativos solúveis em água são compostos como sulfatos, carbonatos, oxalatos e silicatos, além de cálcio (Ca), potássio (K), magnésio (Mg) e manganês (Mn). Enquanto os extrativos solúveis em solventes orgânicos são compostos como óleos voláteis, terpenos, ácidos graxos, compostos nitrogenados e aromáticos (aldeídos, ácidos, álcoois, flavonoides, quinonas e taninos), entre outros (BOTARO, 1996).

3.3.5 Cinzas

Assim como os extrativos, as cinzas também são compostos de baixa massa molar presentes na parede celular juntamente com os componentes macromoleculares, porém, compreendem a fração inorgânica. Estes compostos encontrados em maior quantidade são sais e óxidos de cálcio (Ca), potássio (K), magnésio (Mg) e manganês (Mn) e sódio (Na) (FENGEL; WEGENER, 1984), obtidos na forma de óxidos a partir da incineração do material.

3.4 Processos de polpação organossolve e acetossolve

Os processos de polpação organossolve são processos de deslignificação através da polpação química com solventes orgânicos, através tanto da solubilização dos fragmentos da lignina, quanto pela reação de solvólise, sendo possível a utilização de catalisadores ácidos ou básicos (BOTARO, 1996). Compreende os processos de polpação com soda/antraquinona, ácido acético/água e etanol/água e outros como metanol, etanol, propanol, acetona, ácido fórmico, butanol, dioxano, fenol, acetato de etila, glicerol e etileno glicol, além de diversos catalisadores (MUURINEN, 2000; SARKANEM, 1990).

É um processo alternativo às polpações utilizadas em escala industrial, como Kraft, Soda e Sulfito, que geram grandes quantidades de poluentes ao meio ambiente (JIMÉNEZ et al., 1998). Tal processo apresenta diversas vantagens em relação aos demais, tais como melhora na eficiência da polpação, possibilidade de recuperação dos solventes orgânicos através de destilação e recuperação das polioses e lignina, permitindo um aproveitamento total da biomassa, baixo capital de investimento e possibilidade de utilização de reagentes não clorados para as etapas de branqueamento (MORIYA, 2007).

O processo de polpação acetossolve faz parte da classe de processos químicos de polpação organossolve, possibilita a solubilização e posterior extração da lignina a partir da hidrólise e solvólise da mesma, consiste no cozimento da biomassa lignocelulósica em uma mistura de ácido acético/água (93% v/v) e ácido clorídrico como catalisador (BOTARO, 1996).

3.5 Processo de branqueamento com clorito de sódio

A polpação química produz uma polpa celulósica de coloração marrom, devido à presença de lignina e outros grupos cromóforos (grupos químicos que contém duplas ligações conjugadas). Desta forma, o branqueamento tem como objetivo modificar, reduzir ou eliminar, compostos que absorvem luz dentro do espectro visível, para que todos os comprimentos de onda sejam refletidos, conseqüentemente, o material passa a ser visto como branco (DENCE; REEVE, 1996).

O branqueamento é o processo químico posterior à deslignificação, possuindo a função de solubilizar a lignina residual da polpa marrom para obtenção de celulose química e posterior formação de derivados que necessitam de alto grau de alvura. Para o branqueamento podem ser utilizados vários produtos químicos, tais como oxigênio, peróxidos, compostos de enxofre, derivados de cloro (hipoclorito de sódio, dióxido de cloro, clorito de sódio, clorato de sódio, peróxido de hidrogênio), ozônio, entre outros e pode ser feito em uma ou diversas etapas (MORIYA, 2007).

O branqueamento com clorito de sódio atua na oxidação e solubilização da lignina residual e outras impurezas presentes nas fibras de celulose, como resinas e materiais degradados.

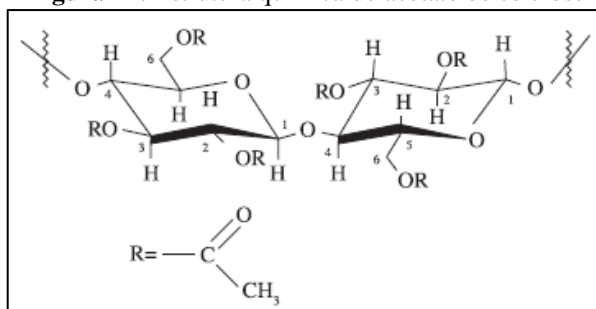
3.6 Processo de acetilação da celulose

O acetato de celulose (AC) é um éster de celulose de grande interesse comercial, pois possui propriedades importantes como elevada permeação à água, elevada temperatura de transição vítrea, baixa toxicidade, boa estabilidade, compatibilidade com uma série de reagentes, produção de filmes resistentes, boa propriedade de formação de micro e nanopartículas (CRUZ et al., 2011).

O AC foi sintetizado pela primeira vez em 1865 pelo químico francês Paul Schützenberger, contudo, apenas em 1894 o processo industrial foi patentado pelos químicos Charles Crosse e Edward Bevan (FREITAS, 2016)

Tal polímero é um dos principais derivados da celulose, possui como princípio da reação a substituição dos grupos hidroxila presentes na celobiose por grupos acetila (CERQUEIRA et al., 2010), conforme ilustrado na Figura 11.

Figura 11: Estrutura química do acetato de celulose

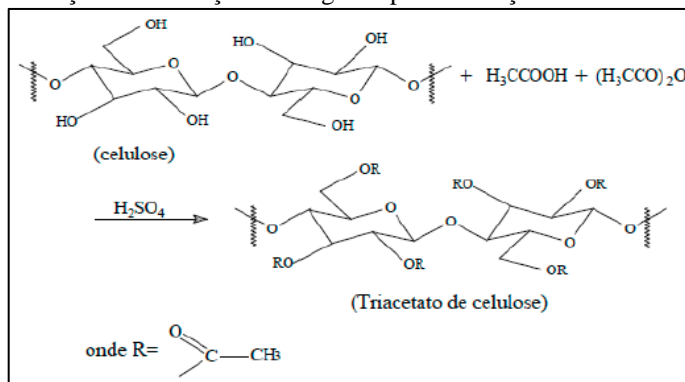


Fonte: CERQUEIRA et al. (2010).

O AC pode ser produzido por dois tipos de reação: a acetilação homogênea e a heterogênea (CERQUEIRA et al., 2010). Ambos os métodos utilizam a reação da celulose com uma mistura de ácido acético e anidrido acético na presença de ácido sulfúrico como catalisador.

A principal diferença entre os dois tipos de reação é que na acetilação heterogênea utiliza-se um reagente não inchante como, por exemplo, o tolueno, com o intuito de manter a estrutura fibrosa da celulose, diferentemente da reação homogênea, na qual a celulose é solubilizada no meio reacional, o que resulta em alterações morfológicas nas fibras da mesma (MEIRELES, 2007). A Figura 12 ilustra o esquema de triacetilação da celulose.

Figura 12: Reação de acetilação heterogênea para formação do triacetato de celulose



Fonte: MEIRELES (2007).

O AC pode ser obtido em diferentes graus de substituição, sendo este, o número médio de grupos acetila por unidades glicosídicas e este, pode variar de zero para a celulose a três para um triacetato (MEIRELES, 2007), e esta substituição afeta diretamente propriedades como cristalinidade, biodegradabilidade e solubilidade.

A celulose, que possui grau de substituição zero (GS=0), é insolúvel na maioria dos solventes (KONO et al., 2015), enquanto um monoacetato de celulose (GS=1) pode ser solúvel em água, desde que os grupos acetila estejam divididos de forma proporcional aos grupos hidroxila em cada celobiose, um diacetato (GS=2) é solúvel em acetona ou tetrahidrofurano (THF) e um triacetato (GS=3) é solúvel em diclorometano, clorofórmio e outros solventes clorados (GHAREEB et al., 2013).

3.7 Degradação

A degradação de um polímero é definida como qualquer reação química que altera a propriedade de interesse do mesmo, de suas blendas ou compósitos, como por exemplo: flexibilidade, aparência, resistência mecânica, dureza, entre diversas outras (DE PAOLI, 2008).

A degradação polimérica é resultante de reações químicas inter ou intramoleculares, de forma individual ou simultaneamente e sempre será iniciada pela quebra de uma ligação covalente. Pode ser resultante de um processo de despolimerização, reticulação, oxidação ou cisão de ligações químicas e desencadeada por diversos fatores, tais como forma de processamento, tipo e uso do material (DE PAOLI, 2008).

A degradação da celulose, assim como do AC, ocorre por cisão homolítica ou heterolítica de cadeia entre as ligações glicosídicas, ou seja, entre as unidades de glicose, pois as ligações éter são muito sensíveis à degradação, em especial à cisão hidrolítica na presença de ácidos ou bases fortes, ou pela presença de celulase, enzima que atua especificamente na hidrólise de celulose, neste caso, ocorre biodegradação (DE PAOLI, 2008).

3.8 Biomateriais

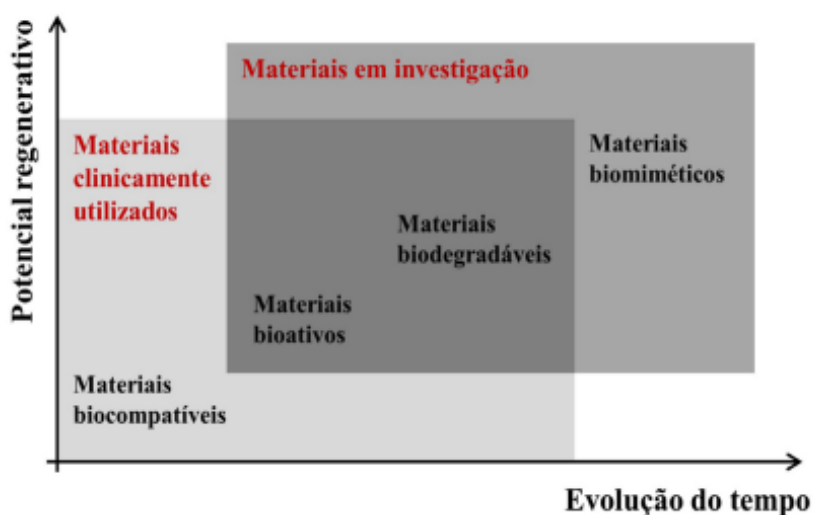
Os biomateriais vêm sendo utilizados há mais de 4000 anos, pois há relatos de aplicação de ouro e conchas em odontologia, vidro para olhos, entre diversos outros. A indústria de materiais biocompatíveis vem crescendo cada vez mais e são fundamentais para o

desenvolvimento de novos tipos de próteses, veículos de liberação de drogas, engenharia de tecidos e medicina regenerativa (RATNER et al., 1996).

O termo biomateriais refere-se a materiais naturais ou sintéticos destinados a interagir com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir funções (WILLIAMS, 1999). Os biomateriais também podem ser definidos como sendo substâncias de origens naturais ou sintéticas que são toleradas de forma transitória ou permanente pelos diversos tecidos que constituem os órgãos dos seres vivos (SANTOS, 1999).

Inicialmente os biomateriais tinham como função substituir tecidos danificados de forma biocompatível, que oferecesse suporte mecânico e com a menor resposta biológica possível. Com o passar do tempo, as pesquisas passaram a focar em aumentar a vida útil do implante e a adesão do material aos tecidos do hospedeiro. Após, o foco passou a ser no desenvolvimento de materiais biodegradáveis com a intenção de que fossem incorporados ou absorvidos pelos tecidos do hospedeiro. Atualmente, o foco passou a ser a biomimética, cuja pesquisa destina-se ao desenvolvimento de materiais que participem ativamente no processo de recuperação a partir da estimulação em nível celular (PIRES et al., 2015). A evolução dos biomateriais ao longo do tempo está ilustrada na Figura 13.

Figura 13: Evolução dos biomateriais



Fonte: PIRES et al. (2015)

O estudo da degradação dos biomateriais é de grande importância, pois a aplicação específica do mesmo depende diretamente da cinética de degradação e alteração progressiva das funcionalidades tendo em vista que tais alterações são progressivas e irreversíveis. Além disso, as propriedades dos subprodutos gerados devido a degradação são de grande importância, pois podem ser citotóxicos (PIRES et al., 2015).

Os polímeros de origem natural são abundantes, de baixo custo e os produtos originados a partir da sua degradação são, em geral, biocompatíveis e atóxicos, o que os torna interessantes para tal aplicação, além de serem de fontes renováveis. No entanto, devido a complexidade dos materiais dos quais as matérias primas são extraídas e à variabilidade de compostos intrínsecos, sua extração e purificação pode ser complexa (PIRES et al., 2015).

A celulose de origem vegetal apresenta grande potencial para tratamento de lesões de pele e substituição de tecidos, devido à suas boas propriedades mecânicas e biocompatibilidade (PIRES et al., 2015).

3.9 Ensaios de adesão e viabilidade celular

As células podem ser mantidas e estudadas fora do organismo, assim o efeito de compostos como biomateriais podem ser estudados em culturas celulares ou tecidos, permitindo a análise direta do comportamento celular por meio de microscopia. As células podem ser cultivadas em suspensão, placas de Petri ou em lamínulas de vidro, porém, possuem uma vida finita que interfere nas análises (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

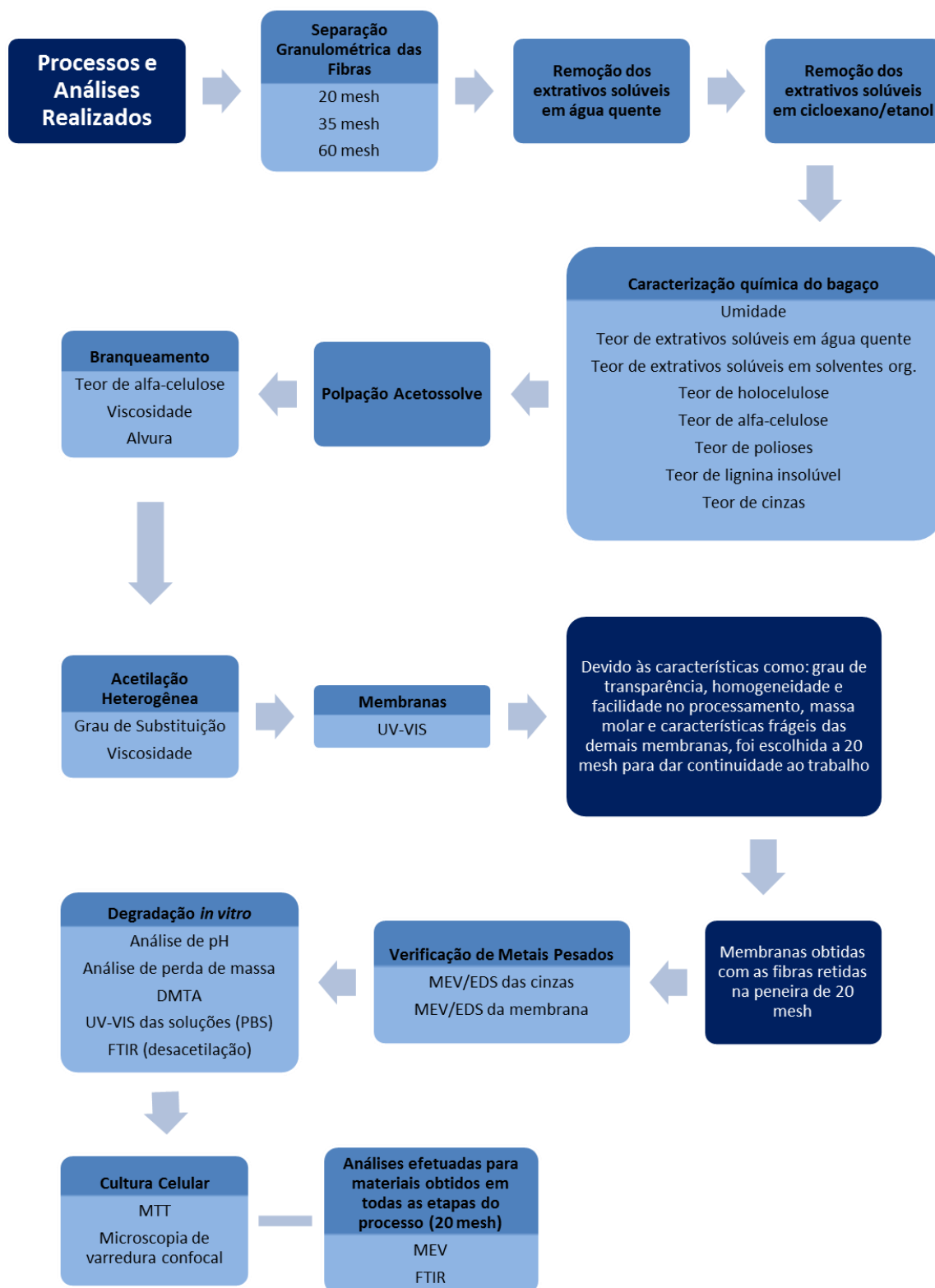
Os ensaios de adesão e viabilidade celular consistem em colocar a cultura celular direta ou indiretamente em contato com o material, analisando as alterações celulares por diferentes mecanismos, cujo mais utilizado é a adição de corantes para verificação de diferentes funções celulares (CRUZ, et al., 1987; ROGERO, et al., 2000). Além disso, podem ser feitos com quaisquer tipos de células, tais como osteoblastos, eritrócitos, leucócitos, trombócitos, fibroblastos, entre diversas outras.

Os fibroblastos são células mesenquimáticas e possuem como função a formação de componentes fibrilares e não fibrilares da matriz extracelular do tecido conjuntivo, como colágeno, elastina, glicoproteínas e proteoglicanas. Estão envolvidas também na produção de fatores de crescimento que controlam a proliferação e diferenciação celular. Quando estão no estágio indiferenciado, possuem potencial para se diferenciar em células complexas como células do tecido ósseo, cartilaginoso, adiposo e muscular liso (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

A manutenção das características fenotípicas e genotípicas das células funcionará como um marcador de desempenho durante o cultivo celular, fazendo desta metodologia uma importante aliada nas pesquisas farmacêuticas e biológicas. Ensaios de citotoxicidade e viabilidade celular são os primeiros testes exigidos para categorizar um material como biocompatível (SMART et al., 2006; GUALANDI et al., 2016; MURARIU et al., 2016).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 14: Esquema dos processos e análises realizados



Fonte: A autora

4.1 Separação das fibras por granulometria

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar, já moído e desidratado, foram separadas em diferentes granulometrias (20, 35 e 60 mesh), com o intuito de avaliar esta propriedade nos processos e material final, no caso, as membranas de AC. Para a separação das granulometrias, utilizou-se o Agitador Orbital de Peneiras com Batidas Intermitentes Marconi - MA 750. Durante a separação, utilizou-se 100g da biomassa em cada ciclo, que ocorreu por 3 minutos, repetindo-os por 3 vezes. Para os processos e análises, foi utilizado o material retido nas peneiras de 20 mesh (0,841 mm), 35 mesh (0,500 mm) e 60 mesh (0,250 mm).

3.2 Caracterizações químicas do bagaço de cana-de-açúcar

3.2.1 Umidade

A umidade foi verificada antes e após cada processo químico, para obter as massas reais e assim, os rendimentos de cada processo e teor de extrativos. Esta análise foi efetuada utilizando uma balança determinadora de umidade, marca A&D Comoany, modelo MX-50, na qual foi colocado aproximadamente 1g de material e aquecido até a temperatura de 100 °C, com base na norma ABNT NBR 14929:2017. O teor de umidade é dado diretamente pelo equipamento, mas também pode ser calculado pela Equação 1.

$$Umidade = \frac{Ms - Mu}{Ms} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

Ms: massa seca (g)

Mu: massa úmida (g)

4.2.2 Teor de Extrativos solúveis em água quente

Este processo possui a finalidade de solubilizar e extrair impurezas como terra, fuligem e extrativos solúveis em água quente, como sais inorgânicos e açúcares residuais. O teor de extrativos solúveis em água quente foi determinado conforme norma ASTM D1110-84 com adaptações.

Para a retirada dos extrativos solúveis em água quente, em um béquer de 1L foram adicionados 10g de bagaço de cana-de-açúcar em 800 mL de água destilada, sendo o conjunto submetido à agitação constante e temperatura de 70 °C durante 1h. Após terminado o período de extração, as amostras foram filtradas em funil de Büchner com papel filtro, lavando-as com água destilada e posteriormente levadas à estufa à 60 °C por 24h. As amostras foram pesadas e o teor de extrativos solúveis em água quente foi determinado conforme Equação 2.

$$Ta = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que:

Ta: teor de extrativos solúveis em água quente (%);

m₁: massa inicial da amostra seca antes da extração (g);

m₂: massa final da amostra seca após a extração (g).

4.2.3 Teor de Extrativos solúveis em solventes orgânicos

O teor de extrativos solúveis em solventes orgânicos foi determinado conforme norma TAPPI T204 cm-97 com adaptações. A extração foi feita em um sistema soxhlet utilizando-se uma solução de cicloexano e etanol comercial na proporção (1:1 v/v). Para a extração, aproximadamente 6g de material foram colocadas em saquinhos de tecido de algodão 100% cru, amarrados com barbante e colocados um em cada extrator, com o intuito de aumentar a quantidade de material a ser extraído por ciclo e assim, otimizar o processo. A extração ocorreu durante 4h e as amostras foram levadas à estufa a 60 °C por 24h. As amostras foram pesadas e o teor de extrativos solúveis em solventes orgânicos foi obtido conforme Equação 3.

$$To = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Em que:

To: teor de extrativos solúveis em solventes orgânicos (%);

m₁: massa inicial da amostra seca antes da extração (g);

m₂: massa final da amostra seca após a extração (g).

4.2.4 Teor de Cinzas

O teor de cinzas foi determinado baseado na norma ASTM D1102-84. Foi pesado aproximadamente 1,0 g de material seco em um cadinho de porcelana previamente calcinado por 1h a 600 °C. A amostra foi carbonizada no cadinho com bico de Bunsen, até ausência de chama. O conjunto foi colocado em um forno tipo mufla da marca JUNG modelo 0212 a uma temperatura de 600 °C por 6 horas. O cadinho foi resfriado até temperatura ambiente em um dessecador com sílica gel e, posteriormente, pesado em balança analítica. O teor de cinzas do material foi determinado pela razão entre as massas final e inicial do mesmo, conforme Equação 4.

$$Tc = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Em que:

Tc: Teor de cinzas (%);

m₁: Massa de cinzas (g);

m₂: Massa da amostra de fibras secas (g).

4.2.5 Teor de Holocelulose

O teor de holocelulose foi determinado baseado na norma ASTM D1104-56. Em um Erlenmeyer de 500 mL, foram adicionados 3,0 g de fibras secas e sem extrativos, 120 mL de água destilada, 2,5 g de clorito de sódio e 1,0 mL de ácido acético glacial. O conjunto foi tampado e aquecido em banho-maria a 70 °C sob agitação constante. Após decorrido 1 hora do início da reação, foram adicionados mais 2,5 g de clorito de sódio e 1,0 mL de ácido acético glacial. Esse procedimento foi repetido mais uma vez após decorridas 2 horas do início da reação. A reação ocorreu por 5 horas no total, quando os frascos foram colocados em banho de gelo por 30 minutos. O material foi lavado abundantemente com água destilada, filtrando-o em um funil de Büchner com papel filtro previamente pesado até atingir pH neutro. O papel de filtro com o material retido foi levado para estufa a 60 °C por 24 horas. Após a secagem, papel filtro e amostra foram pesados e o teor de holocelulose foi calculado pela Equação 5.

$$Th = \frac{m_{holo}}{m_{fibra}} \times 100$$

Equação 5

Em que:

Th: teor de holocelulose (%);

m_{holo} : massa de holocelulose (g);

m_{fibra} : massa da amostra de fibras secas (g).

4.2.6 Teor de α -celulose

O teor de α -celulose foi determinado com base na norma ASTM D1103-60. Foi pesado aproximadamente 1,0 g da holocelulose previamente preparada em um béquer de 100 mL previamente tarado. Foram adicionados 10 mL de solução NaOH 17,5 deixando o sistema em repouso por 2 minutos. Em seguida, macerou-se a amostra por 8 minutos. Foram adicionados, novamente, 10 mL de NaOH 17,5%, deixando o sistema em repouso por mais 20 minutos. Após decorridos estes 30 minutos, foram adicionados 40 mL de água destilada e a mistura foi filtrada em um funil de Büchner, lavando-a com água destilada até atingir pH neutro. O papel de filtro com a α -celulose retida foi levado para estufa a 60°C por 24h. Após secos, foram pesados e o teor de α -celulose foi calculado pela Equação 6.

$$T\alpha = \frac{m_{\alpha}}{m_{holo}} \times 100$$

Equação 6

Em que:

T α : teor de α -celulose (%);

m_{α} : massa de α -celulose após secagem em estufa (g);

m_{holo} : massa da amostra de holocelulose (g).

4.2.7 Teor de α -celulose a partir da polpa branqueada

O teor de α -celulose foi determinado com base na norma ASTM D1103-60. Em um béquer de 100 mL previamente tarado, foi pesado aproximadamente 1,0 g da polpa branqueada triturada. Foi adicionado 10 mL de solução aquosa de NaOH 17,5% deixando o

sistema em repouso por 2 minutos. Em seguida, macerou-se a amostra com bastão de vidro por 8 minutos. Foram adicionados novamente 10 mL de NaOH 17,5%, deixando o sistema em repouso por mais 20 minutos. Transcorridos os 30 minutos desde a primeira adição de solução de NaOH 17,5%, acrescentou-se 40,0 mL de água destilada misturando-se bem a solução. A mesma foi filtrada a vácuo em cadinho número 2 rapidamente, sem permitir porém que as fibras do material ficassem muito expostas ao ar ambiente. O resíduo foi lavado com 200 mL de água destilada, em seguida a aspiração foi detida e o mesmo foi lavado com 20 mL de ácido acético a 20% (o tempo de fluxo do ácido acético deve ser de 5 minutos). A lavagem foi finalizada com 200 mL de água destilada. O cadinho contendo a α -celulose foi levado à estufa a 60 °C para secar por 24 horas. A amostra foi pesada e o teor de α -celulose determinado pela Equação 7.

$$T_{\alpha} = \frac{m_{\alpha}}{m_{pb}} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

Em que:

T_{α} : teor de α -celulose (%);

m_{α} : massa de α -celulose após secagem em estufa (g);

m_{pb} : massa da amostra da polpa branqueada (g).

4.2.8 Teor de Polioses

A partir dos valores obtidos de α -celulose e holocelulose, foi possível calcular o teor de polioses presentes no material, conforme Equação 8.

$$T_p = T_{holo} - T_{\alpha} \quad \text{Equação 8}$$

Em que:

T_p : teor de polioses (%);

T_{holo} : teor de holocelulose (%);

T_{α} : teor de α -celulose (%).

4.2.9 Lignina Klason Insolúvel

O teor de lignina Klason insolúvel foi determinado com base na norma ASTM D1106-96. Foi pesado 1,0 g fibras de 60 mesh, secas e sem extrativos, colocado em um béquer e adicionado 15 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico 72% a temperatura de 10 a 15 °C. O conjunto foi mantido em banho de gelo a 2 °C e macerada até a dispersão do material. Após a dispersão, o conjunto tampado e mantido sob agitação constante a 20°C por 2 horas.

Em um Erlenmeyer de 500 mL, foram adicionados 200 mL de água destilada e a solução preparada do béquer, completando-se com água destilada até 300 mL, obtendo-se a solução diluída para 3 % de ácido sulfúrico e fervida sem agitação por 4 horas com volume constante. Após decorridas as seis horas de reação, a solução foi levada novamente ao banho de gelo para resfriar por 30 min. Para finalizar, a solução foi filtrada em um funil de Büchner e lavada com água destilada até atingir pH neutro. O papel de filtro com o material retido foi levado para estufa a 60 °C por 24 horas e, depois de seco, foi pesado e o teor de lignina Klason foi obtido pela Equação 9.

$$Tl = \frac{Ml}{Ma} \quad \text{Equação 9}$$

Em que:

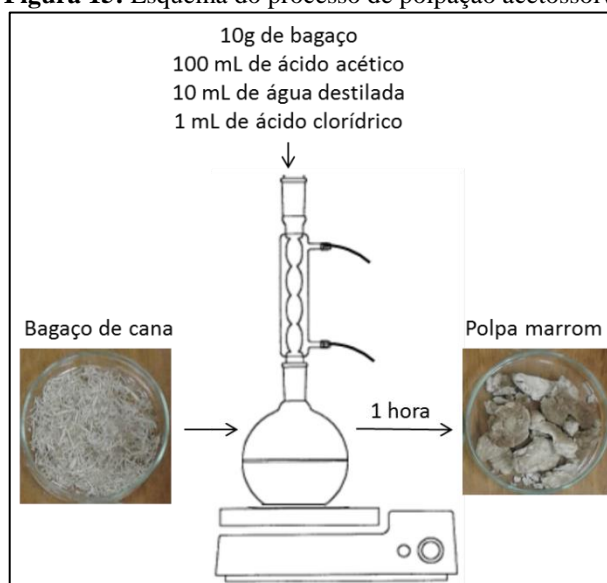
Tl: teor de lignina Klason (%);

Ml: massa da lignina seca (g);

Ma: massa da amostra de fibras (g).

4.3 Polpação acetossolve

A polpação acetossolve foi realizada como descrito por BOTARO (1992), na qual o bagaço livre de extrativos solúveis em água quente e solúveis em solução de cicloexano/etanol (1:1 v/v), extraídos conforme descrito nos itens 4.2.2 e 4.2.3 respectivamente, foi adicionado juntamente com os reagentes em um balão reacional de 500 mL, conectado a um condensador de bolas e chiler a 16 °C para resfriar o sistema. A solução foi efetuada conforme ilustrado na Figura 15.

Figura 15: Esquema do processo de polpação acetossolve

Fonte: A autora

Depois de decorrida a polpação, a mistura foi filtrada em funil de Büchner com papel filtro e lavada abundantemente com água destilada. O rendimento de celulose obtida pelo processo foi calculado através da Equação 10:

$$Rpm = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \quad \text{Equação 10}$$

Em que:

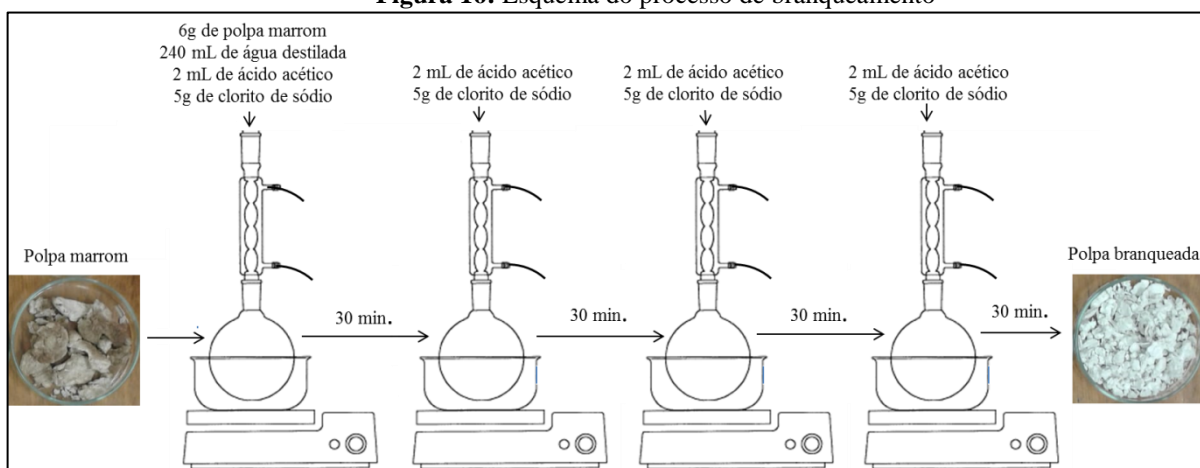
Rpm: rendimento de polpa marrom (%);

m_f : massa final (polpa marrom) (g);

m_i : massa inicial (bagaço sem extrativos) (g).

4.4 Branqueamento

O branqueamento da polpa marrom foi efetuado com clorito de sódio, devido à sua alta eficiência no branqueamento de polpas. Um balão reacional de 500 mL foi conectado a um condensador de bolas e o conjunto colocado em banho-maria, utilizando-se um chiler a 16°C para resfriar o sistema. A mistura foi mantida sob agitação constante, a temperatura de 70 °C durante duas horas, na qual a polpa marrom e os reagentes foram adicionados conforme ilustrado na Figura 16.

Figura 16: Esquema do processo de branqueamento

Fonte: A autora

A reação foi realizada por 2h, em seguida resfriada em banho de gelo a 10 °C e filtrada em funil de Büchner com papel filtro, sendo lavada abundantemente com água destilada. O rendimento de celulose obtido pelo processo foi calculado através da Equação 11:

$$Rpb = \frac{m_f}{m_i} \times 100$$

Equação 11

Em que:

Rpb: rendimento de polpa branqueada (%);

m_f : massa final (polpa branqueada) (g);

m_i : massa inicial (polpa marrom) (g).

4.4.1 Alvura

As propriedades ópticas de interesse para as polpas celulósicas são: cor, alvura, opacidade e reversão. Para especificar a cor de materiais brancos foram desenvolvidos índices específicos, como por exemplo, o fator de reflectância difusa no azul (alvura ISO), o qual é usado para avaliar a qualidade óptica da polpa após o branqueamento. Como a polpa celulósica é ligeiramente mais absorvente de luz azul que o resto do espectro, é usado o filtro para o comprimento de onda de 457 nm (azul), para medir a quantidade de luz refletida pela a superfície do papel.

A absorção de luz depende da capacidade dos componentes de um material absorver a energia luminosa e convertê-la em forma de energia não visível. O espalhamento ou reflexão

de luz depende da estrutura do material e do índice de refração de seus componentes. Define-se como coeficiente de espalhamento de luz a fração de fluxo luminoso difuso que é refletido na sua passagem através de uma camada infinitesimal do material.

As medidas de alvura das polpas foram realizadas em um reflectômetro DATACOLOR 2000 da marca ELREPHO, localizado na Universidade Estadual de São Paulo (UNESP) campus de Itapeva, com base no procedimento da norma TAPPI T452 om-08. Os testes foram feitos a partir de folhas lisas preparadas por desfibramento e prensagem da polpa.

4.5 Acetilação Heterogênea da polpa branqueada

Conforme já citado, o AC pode ser produzido por dois tipos de reação: a acetilação homogênea e a heterogênea (CERQUEIRA et al., 2010). Ambos os métodos utilizam a reação da celulose com uma mistura de ácido acético e anidrido acético na presença de ácido sulfúrico como catalisador.

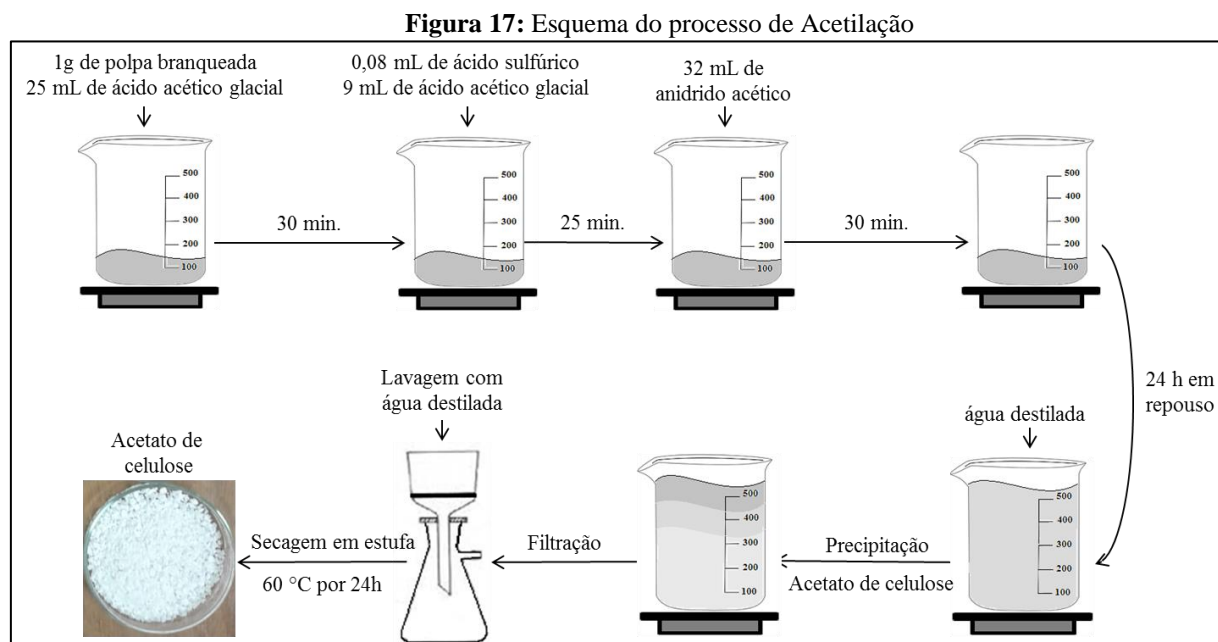
A principal diferença entre os dois tipos de reação é que na acetilação heterogênea utiliza-se um reagente não inchante como, por exemplo o tolueno, com o intuito de manter a estrutura fibrosa da celulose, diferentemente da reação homogênea, na qual a celulose é solubilizada no meio reacional, o que resulta em alterações morfológicas nas fibras da mesma (MEIRELES, 2007).

De acordo com Sassi e Shanzy (1995), quando as cadeias de celulose tornam-se suficientemente acetiladas, desprendem-se do cristal, tornando-se solúveis no meio reacional. Por conseguinte, o cristal torna-se quebradiço devido à série de entalhes causados pela saída das cadeias acetiladas. No caso da reação heterogênea, o agente não inchante evitaria o desprendimento das cadeias em relação aos cristais, fazendo com que a reação de acetilação ocorra apenas nas cadeias localizadas na superfície das fibras celulósicas, por isso é chamada de heterogênea.

Em ambas as reações de acetilação, o grau de substituição (GS) pode ser relativamente controlado variando-se as condições de reação, tais como tempo, temperatura e proporções molares, contudo, os grupos substituintes geralmente não são introduzidos regularmente ao longo das cadeias celulósicas (LIU; SUN, 2010).

Tendo em vista a heterogeneidade do bagaço de cana-de-açúcar e a dificuldade de dissolução da celulose, que ocorre apenas em solventes bem específicos, como o etilenodiamina cúprica, por exemplo, foi escolhida a reação heterogênea de acetilação para a obtenção dos acetatos.

A reação de acetilação foi baseada em Rodrigues Filho et al. (2008) e Cerqueira et al. (2007), a qual foi feita em béquer de 500 mL com agitação constante e temperatura ambiente ao longo de todo o processo. A rota utilizada está descrita na Figura 17.

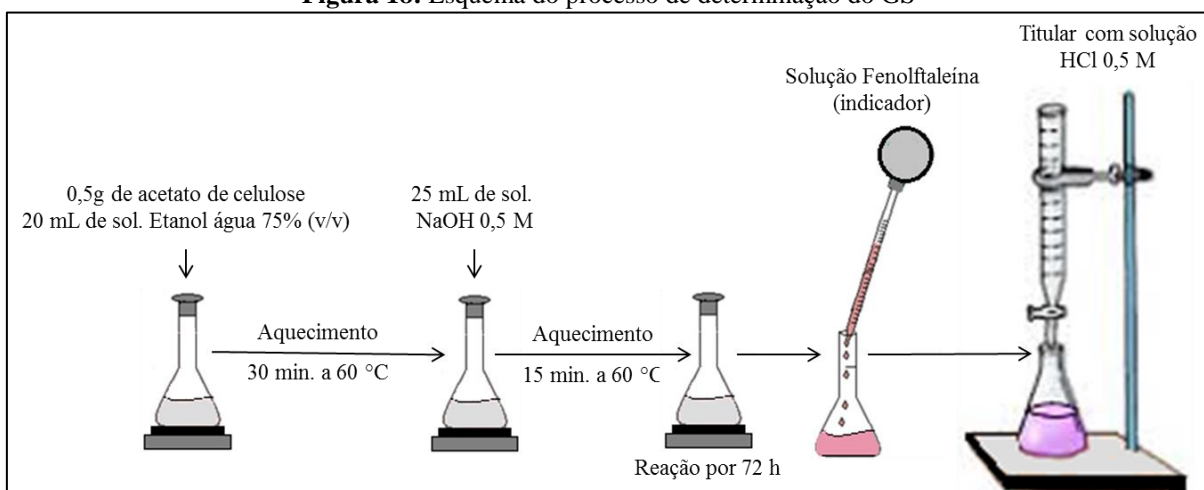


Fonte: A autora

3.5.1 Determinação do Grau de substituição (GS)

O GS é a principal característica do AC, pois influencia diretamente diversas propriedades e varia de acordo com o processo de obtenção da celulose, além de sofrer influência direta da heterogeneidade química do material, uma vez que pode ser alterado pela distribuição dos grupos substituintes ao longo da cadeia e de acordo com a massa molar do polímero (GHAREEB et al., 2013).

Antes de qualquer processamento, análise ou aplicação do AC, faz-se necessária a determinação do GS. Desta forma, a determinação foi realizada utilizando-se o método químico por titulação, tendo a celulose branqueada como branco. Para este procedimento, foram utilizadas soluções etanol/água 75% (v/v), NaOH 0,5 M, HCl 0,5 M e fenolftaleína, com base na norma ASTM D 871-96. O procedimento foi efetuado conforme ilustrado na Figura 18.

Figura 18: Esquema do processo de determinação do GS

Fonte: A autora

Após este procedimento, foram realizados os cálculos, para assim, determinar quimicamente o GS do AC obtido, conforme Equação 12 e Equação 13.

$$\% \text{ acetil} = \frac{\{(V_{NaOH} \times A) - (V_{HCl} \times B)\} - \{(V'_{NaOH} \times A) - (V'_{HCl} \times B)\}}{W} \times 4,3 \quad \text{Equação 12}$$

Em que:

% acetil: porcentagem de grupos acetil na amostra (%);

V NaOH: volume da solução de NaOH na amostra de AC (mL);

V HCl: volume da solução de HCl utilizada para a titulação do AC (mL);

V'NaOH: volume da solução de NaOH na amostra de celulose branqueada (mL);

V'HCl: volume da solução de HCl utilizada para a titulação da celulose branqueada (mL);

A: concentração de NaOH em mol/L;

B: concentração de HCl em mol/L;

W: massa da amostra (g);

$$GS = \frac{3,86 (\% \text{ acetil})}{102,4 - (\% \text{ acetil})} \quad \text{Equação 13}$$

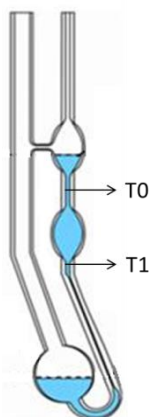
Em que:

GS = grau de substituição.

4.6 Viscosimetria

As viscosidades intrínsecas das polpas branqueadas e dos acetatos de celulose foram determinadas segundo as normas SCAN C15/62, ISO 5351/1 e TAPPI T230 om-08, utilizando-se viscosímetros do tipo Ostwald, conforme Figura 19. Durante as análises os viscosímetros ficaram imersos em banho termostaticado a 25 °C e efetuou-se as medidas de tempo de escoamento do ponto T0 ao ponto T1 com o auxílio de um cronômetro. Os cálculos foram feitos utilizando-se a tabela da norma NBR 14079:1998, vide anexo A.

Figura 19: Viscosímetro do tipo Ostwald



Fonte: A autora

4.6.1 Viscosidade da polpa branqueada

Em um béquer de 250 mL foram pesados cerca de 4 g de polpa de celulose branqueada (base seca). A polpa foi suspensa em água destilada por 48 horas e então filtrada em funil de Büchner, para a formação de uma folha. A folha foi seca ao ar por 48 horas e em seguida rasgada em pequenos pedaços. Desse material, pesou-se 1g (base seca) e transferiu-se para um erlenmeyer de 50 mL, onde foram dissolvidos em 30,0 mL de solução aquosa de etilenodiamina cúprica 0,5 mol/L.

A mistura foi agitada por 10 minutos, com o auxílio de um agitador magnético e depois transferiu-se 7,0 mL desta solução, através de uma pipeta, para o viscosímetro do tipo Ostwald nº 150 imerso em banho termostaticado a 25 °C. A partir dos tempos de escoamento determinou-se a viscosidade relativa (η_{rel}) por meio da Equação 14.

$$\eta_{rel} = \frac{T_{sol}}{T_{solv}}$$

Equação 14

Em que:

η_{rel} = viscosidade relativa;

T_{sol} = tempo de escoamento da solução (s);

T_{solv} = tempo de escoamento do solvente (s).

A partir dos valores das viscosidades relativas obtidas (η) e possuindo o valor da concentração da solução utilizada (C), utilizou-se os valores encontrados na tabela da norma NBR 14079:1998 (anexo A), para obter as viscosidades intrínsecas, conforme Equação 15.

$$[n] = \frac{n^{\circ} \text{ tabelado}}{C} \quad \text{Equação 15}$$

Em que:

[n] = viscosidade intrínseca do material (cm³/g);

n^o tabelado = tabela do apêndice;

C = concentração da solução (g/cm³).

A partir dos valores das viscosidades intrínsecas [n], foi possível calcular o grau de polimerização médio (GP), por meio da relação proposta por Inmergut, Shurtz e Mark que correlaciona o grau de polimerização e a viscosidade intrínseca. O grau de polimerização foi calculado conforme Equação 16.

$$GP^{0,905} = 0,75 \times [n] \quad \text{Equação 16}$$

Em que:

GP = grau de polimerização da polpa branqueada;

[n] = viscosidade intrínseca do material (cm³/g).

Utilizando-se estes cálculos, foi possível obter também a massa molar viscosimétrica das amostras, multiplicando-se o grau de polimerização por 162 g/mol, que é a massa molar média da celulose. O cálculo foi feito a partir da Equação 17.

$$Mv = GP \times 162$$

Equação 17

Em que:

Mv = massa molar viscosimétrica;

GP = grau de polimerização da polpa branqueada.

4.6.2 Viscosidade do acetato de celulose

Em um béquer de 100 mL foram adicionados 1g de AC e 50 mL de clorofórmio, a solução foi agitada durante 3h com o auxílio de um agitador magnético e depois transferiu-se 10,0 mL da solução, através de uma pipeta, para um viscosímetro do tipo Ostwald nº 100 imerso em banho termostatizado a 25 °C.

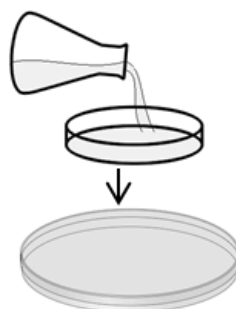
As equações foram as mesmas utilizadas para os cálculos da polpa branqueada, variando-se apenas a massa molar da celulose (162 g/mol), sendo então utilizadas as massas molares de cada acetato obtido, que variam de acordo com o grau de substituição de cada um.

Para obtenção das massas molares dos acetatos foi considerada a fórmula molecular da celulose em cadeia $(C_6H_{10}O_5)_n$, a partir da qual, os hidrogênios presentes nos grupos hidroxila (OH) foram substituídos pelos elementos dos grupos acetila (C_2H_3O) de acordo com cada grau de substituição.

4.7 Formação das membranas

O preparo das membranas foi feito conforme descrito por César (2013), utilizando-se a técnica de *casting* conforme Figura 20, também conhecida como evaporação de solvente. Para a formação de cada membrana foram dissolvidas 1,0 g de AC em 25 mL de clorofórmio, solução (4% m/v), agitando-se a solução por 1h com auxílio de um agitador magnético. A solução resultante foi vertida em placa de Petri de 9 cm de diâmetro, tampada e deixada em temperatura ambiente por aproximadamente 72h para a formação das membranas.

Figura 20: Formação das membranas por *casting*



Fonte: A autora

4.7.1 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS) das membranas para determinação do grau de transparência, absortividade e refletibilidade

Espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível (UV-VIS) baseia-se em medidas de absorção de radiação eletromagnética nas regiões do ultravioleta e visível do espectro, na qual mede-se a quantidade de radiação absorvida, transmitida ou refletida pela amostra em cada comprimento de onda, que pode variar de 150 a 780 nm aproximadamente (150 a 380 para UV e 380 a 780 para o visível) (Millán, 2016).

Através do UV-VIS é possível identificar substâncias e agrupamentos químicos (grupos cromóforos) de acordo com a curva de absorção, pois são identificadas as transições eletrônicas da amostra (Millán, 2016).

Para a análise de UV-VIS foi utilizado um espectrofotômetro UV-VIS-NIR 3600 Plus da marca Shimadzu, localizado no Laboratório de Materiais Lignocelulósicos da UFSCar Sorocaba. Os espectros foram obtidos utilizando o *software* UV Probe.

As membranas foram analisadas nos modos transmitância, para verificar o grau de transparência das mesmas no espectro visível (400 a 700 nm) e no modo reflectância para verificar a variação da quantidade de energia refletida por cada membrana, do ultravioleta ao infravermelho próximo (200 a 800 nm). Antes de efetuar as análises no modo reflectância, foi realizado um baseline com um padrão de sulfato de bário.

A partir dos dados de transmitância, foi calculada a absorbância utilizando-se a Equação 18.

$$A = 2 - \log T$$

Equação 18

Em que:

A = absorvância

T = transmitância

4.8 Análises das amostras obtidas após cada etapa dos processos

4.8.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho com Transformada de Fourier ou Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) faz parte das espectroscopias vibracionais e rotacionais e permite a identificação e determinação de grupos funcionais, conformação e estrutura de macromoléculas, além de fornecer o espectro vibracional completo de uma molécula (CANEVAROLO, 2003).

Pode ser utilizado para analisar desde pequenas moléculas até sistemas complexos como células e tecidos, podendo analisar diversos tipos e estados de materiais, tais como soluções aquosas, solventes orgânicos, membranas, pastilhas e filmes (FORATO et al., 2010).

Para a análise de FTIR foi utilizado equipamento PerkinElmer Spectrum 400 FT-IR Modelo Spectrum 400FT Mid-IR, no laboratório de biomateriais da PUC Sorocaba, onde as amostras do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e sem extrativos, polpa marrom, polpa branqueada e AC foram analisadas para verificar os grupos funcionais característicos das amostras e as diferenças composicionais em cada processo efetuado e se há ou não variações em relação aos diferentes mesh processados (20, 35 e 60), para assim avaliar se há interferência do tamanho das partículas na eficiência do processamento químico do bagaço.

4.8.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura permite análises da microestrutura das amostras com ampliações de 20 a 100.000 vezes, possibilitando a investigação de estruturas superficiais ou subsuperficiais em amostras de diferentes relevos. Esta técnica de microscopia pode alcançar altas profundidades e as imagens geradas são tridimensionais de alta resolução e, portanto, facilmente interpretáveis, além da preparação das amostras serem relativamente simples (CANEVAROLO, 2003).

A imagem da microscopia eletrônica de varredura é dada em tons de cinza e formada pela incidência de um feixe de elétrons na amostra sob condição de vácuo, promovendo emissão de elétrons retroespalhados, auger, secundários e absorvidos, além de raios-X característicos e catodoluminescência (REED, 1996).

As análises de MEV foram feitas para conhecer a microestrutura das amostras após cada processo químico e tamanho de fibras. Foi utilizando um aparelho Hitachi modelo TM3000 com sonda EDS acoplada, localizado no Laboratório de Materiais Lignocelulósicos da UFSCar Sorocaba.

Foram analisadas amostras do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, polpa marrom, polpa branqueada, acetato de celulose em pó e membrana de 20 mesh para avaliar as características morfológicas superficiais dos materiais.

4.9 Degradação *in vitro* das membranas de acetato de celulose

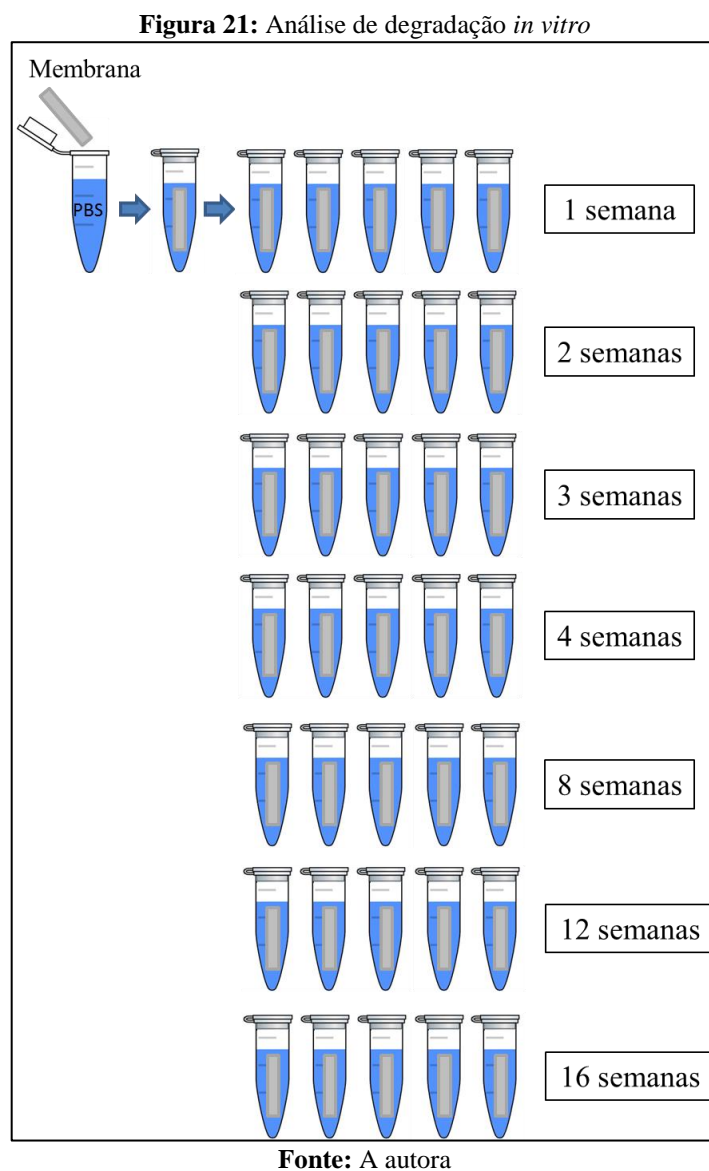
O acetato de celulose é um polímero semicristalino, e a degradação hidrolítica desta classe de polímeros geralmente ocorre em duas fases. Na primeira, a água penetra na superfície da amostra, atacando preferencialmente as cadeias localizadas na fase amorfa, reduzindo o grau de polimerização das cadeias poliméricas até resultar em fragmentos solúveis. Inicialmente ocorre a redução de massa molar, mas sem redução das propriedades físicas. Após esta etapa, a água começa a fragmentar as cadeias, resultando em redução das propriedades mecânicas.

Segundo Oliveira (2013), a degradação *in vitro* da celulose pode ser feita com imersão em solução tampão fosfato de sódio (PBS) a uma temperatura de 37,8 °C (temperatura média corpórea). A verificação do aumento na quantidade de glicose nos líquidos de imersão pode ser verificada por Espectrofotometria no UV-VIS, pois ao degradar-se a celulose libera glicose como subproduto.

As membranas de acetato de celulose obtidas com as fibras retidas na peneira de 20 mesh foram cortadas como corpos de prova com medidas aproximadas de 29,93 mm de comprimento, 6,76 mm de largura e 0,3 mm de espessura.

A degradação *in vitro* dos corpos de prova de foi feita com imersão em solução tampão fosfato de sódio (PBS) a uma temperatura de 37,8 °C e com pH de 7,25 durante dezesseis semanas. Os corpos de prova foram retirados da solução, secos em dessecador por 24h a temperatura ambiente e analisados por FTIR, DMTA e perda de massa. As soluções PBS utilizadas na degradação de cada amostra foram analisadas por UV-VIS e análise de

variação de pH. As análises foram realizadas em quintuplicata. O ensaio ocorreu conforme ilustrado na Figura 21.



4.9.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para verificação de desacetilação

Para a análise de FTIR foi utilizado equipamento PerkinElmer Spectrum 400 FT-IR Modelo Spectrum 400FT Mid-IR, no laboratório de biomateriais da PUC Sorocaba, onde as membranas não degradadas e submetidas à degradação foram analisadas para verificação se houve ou não desacetilação.

4.9.2 Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)

A análise térmica dinâmico-mecânica ou *dynamic-mechanical thermal analysis* (DMTA), é uma técnica amplamente utilizada para a caracterização de polímeros através da detecção de processos de relaxação, tanto molecular quanto macroscópico, além de fornecer informações importantes como módulo de dissipação viscosa, módulo elástico, temperatura de transição vítrea, temperatura de fusão cristalina, amortecimento mecânico ou atrito interno do material, em caso de solicitação mecânica (CANEVAROLO, 2003).

Através desta técnica, pode-se analisar diversas propriedades, tais como tenacidade, envelhecimento, resistência ao impacto, tempo de vida sob fadiga, rigidez, resistência à propagação de trincas, entre outras (CANEVAROLO, 2003).

De acordo com Canevarolo (2013), a análise de tensão/deformação permite quantificar a resistência mecânica de polímeros a partir de parâmetros como: módulo de Young, que é a razão entre a tensão máxima que o material suporta sem sofrer deformação plástica e a deformação total, tensão máxima, tensão e deformação no escoamento, tensão e deformação na ruptura e tenacidade. O módulo de Young na análise de tensão/deformação foi obtido através da Equação 19.

$$E = \frac{\Delta\sigma}{\Delta\varepsilon} \quad \text{Equação 19}$$

Em que:

E = módulo de Young

$\Delta\sigma$ = variação da tensão

$\Delta\varepsilon$ = variação da deformação

O ensaio de tensão deformação será realizado no Laboratório de Materiais Lignocelulósicos da UFSCar Sorocaba, com o equipamento DMA Q800 da TA Instruments e garra de tensão para filme. As membranas obtidas foram analisadas para verificar a estabilidade mecânica, deformação e resistência. O comprimento útil de dos corpos de prova foi 11 mm para todas as análises.

Foram feitas análises de tensão/deformação e com rampa de temperatura/frequência única. Para a análise de tensão/deformação foram utilizados os seguintes parâmetros:

- Força de pré-carga: 5N
- Temperatura isotérmica: 37,5 °C
- Taxa de rampa de força: 3 N/min
- Força máxima aplicada: 18 N

Para a análise de rampa de temperatura/frequência única foram utilizados os seguintes parâmetros:

- Amplitude: 4 µm
- Força de pré-carga: 0,15N
- Temperatura inicial: 25 °
- Temperatura final: 180 °C
- Taxa de rampa de temperatura: 3 °C/min

4.9.3 Análise de Perda de Massa

Para verificar se houve degradação, realizou-se uma análise de perda de massa, onde as amostras foram pesadas antes e após serem submetidas a degradação em solução PBS e o percentual de perda de massa foi calculado de acordo com a Equação 20.

$$\frac{(m_f - m_i) * 100}{m_i} \quad \text{Equação 20}$$

Em que:

m_f : massa final do corpo de prova (g);

m_i : massa inicial do corpo de prova (g).

4.9.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS) das soluções (PBS)

Para a análise de UV-VIS foi utilizado um espectrofotômetro UV-VIS-NIR 3600 Plus da marca Shimadzu, localizado no Laboratório de Materiais Lignocelulósicos da UFSCar Sorocaba. As análises foram feitas no modo absorbância nos comprimentos de onda 150 a 500 nm, em quintuplicata para cada retirada de amostras da degradação, com o intuito de

verificar a presença de unidades de acetato de celulose liberados na solução PBS devido à degradação.

4.9.5 Análise de variação de pH das soluções (PBS)

O grupo acetila presente no acetato de celulose é um grupo ácido e em caso de degradação das membranas, seria liberado na solução PBS tornando-a mais ácida, assim, como análise complementar foram feitas medidas de pH em quintuplicata para cada retirada das amostras em degradação.

4.10 MEV/EDS para verificação de metais pesados

O EDS (Energy Dispersive System) é um sistema que pode ser acoplado ao microscópio eletrônico de varredura, para determinar qualitativa e semiquantitativamente a composição química da amostra a partir da emissão de raios-X característicos, o qual gera um gráfico com os dados obtidos (DUARTE et al., 2003).

Foram analisadas amostras das cinzas e membranas obtidas com as fibras de 20 mesh, com o intuito de verificar a presença de metais pesados presentes, tendo em vista que são altamente tóxicos às células e, portanto, é imprescindível o conhecimento de tal composição para aplicação das membranas como biomaterial.

4.11 Ensaio de adesão e viabilidade celular

4.11.1 Cultivo das células fibroblásticas humanas

As células fibroblásticas humanas utilizadas nos experimentos foram obtidas da pele e adquiridas da empresa APABCAM (linhagem: CCD-1059Sk). As células foram cultivadas em placa de cultivo celular (placa de Petri marca NEST) em meio DMEM contendo 10% de soro fetal bovino e 1mL de antibiótico/antimicótico (Sigma[®]), na concentração de 10 unidades de penicilina, 0,10mg estreptomicina e 0,25µg de anfotericina, a 37°C em incubadora com 5% de CO₂.

4.11.2 Preparação das membranas para o ensaio de adesão e viabilidade celular

As membranas de acetato de celulose foram cortadas em círculos de aproximadamente 13 mm de diâmetro, esterilizadas em etanol 70% por aproximadamente 30 minutos, seguidos de 3 lavagens com tampão fosfato-salino (PBS) e mantidas por 2h na radiação ultravioleta UV-C (ultravioleta curta ou germicida, 254nm), sendo 1h para cada lado da membrana. Após o processo de esterilização, as membranas foram submersas em Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM- código: D6046) puro por 5h à 37°C.

4.11.3 Adesão e viabilidade celular

O ensaio de adesão e viabilidade celular foi realizado no laboratório de Biomateriais - LABIOMAT da Pontifícia Universidade Católica – PUC campus Sorocaba.

Após o tempo estipulado, as células fibroblásticas foram desprendidas da placa de cultivo celular utilizando solução de Tripsina/EDTA e cultivadas nas membranas.

O ensaio de adesão celular foi realizado em triplicata utilizando uma placa de 24 poços da marca NEST. Os filmes foram depositados um em cada poço da placa de 24 poços e em seguida, as células fibroblásticas humanas foram adicionadas numa concentração de 5×10^4 cel/cm².

O material cultivado com as células fibroblásticas foi mantido em DMEM contendo 10% de soro fetal bovino e 1mL de antibiótico/antimicótico (Sigma[®]), na concentração de 10 unidades de penicilina, 0,10mg estreptomicina e 0,25µg de anfotericina, a 37°C em incubadora com 5% de CO₂.

O crescimento celular foi averiguado após os tempos de 7 e 14 dias de cultivo por ensaio de viabilidade celular MTT e por microscopia de varredura confocal a laser (MCVL-Leica TCSSP8).

4.11.4 Ensaios de redução de Tetrazólio (MTT)

As células viáveis possuem metabolismo ativo e através de enzimas como desidrogenases mitocondriais, clivam o anel de tetrazólio da solução MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio] em cristais de formazan [E,Z- 1-(4,5-dimetiltiazol -2-il)-1,3- difenil formazan], um produto de coloração roxa.

Os cristais de formazan formam um precipitado insolúvel intracelular que se acumula tanto próximo às paredes celulares, quanto no meio de cultura, decorrente da atividade de enzimas mitocondriais e de moléculas redutoras como NADH (Dinucleótido de Nicotinamida

e Adenina e o “H” significa hidrogênio de alta energia e indica que esta substância é a forma mais biologicamente ativa possível) que transferem elétrons para o MTT.

A intensidade do sinal gerado é dependente de muitos parâmetros, tais como concentração de solução MTT no meio de cultura, tempo de incubação, número de células viáveis e a atividade metabólica das mesmas.

A intensidade observada da coloração roxa nas amostras depende diretamente da atividade e viabilidade mitocondrial, desta forma, a redução do MTT em formazan está diretamente relacionada à viabilidade celular.

No ensaio de redução de tetrazólio (MTT), primeiramente, foi preparada uma solução de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazólio, na concentração padrão 0,5mg/mL diluído em PBS estéril. Com a solução de MTT reservada, foi retirado o meio de cultura das células no tempo de 7 e 14 dias e lavado 2 vezes com PBS estéril à 37°C, após a retirada da última lavagem, foi adicionada a solução MTT cuidadosamente sobre o material com as células e mantidas por 2 horas na incubadora para que o MTT metabolize as células.

Após o tempo determinado, a placa de cultura foi colocada em shaker orbital com movimento leve por 10 minutos. Subsequente, foi resuspendido e retirado a solução de MTT totalmente do material, adicionou-se 250µL de DMSO (dimetilsulfóxido) puro e novamente resuspendido. Após a resuspensão, foi retirado uma alíquota de 200µL da solução de DMSO de cada amostra e colocado numa nova placa, desta vez de 96 poços também das marca NEST, para leitura da absorbância no leitor de microplacas universal ELX800 UV (Bio-Tek Instruments Inc.).

O espectro utilizado para a absorbância foi de 570 nm, comprimento de onda cuja cor absorvida é o verde-amarelo e possui como cor complementar o violeta (cor visível), tendo em vista que o subproduto gerado a partir do metabolismo da solução MTT pelas células possui coloração roxa.

Para o estudo estatístico, os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA: um critério para comparação nos mesmos tempos e dois critérios para comparação em tempos diferentes. A diferença entre os grupos foi analisada pelo teste de Tukey com $p < 0.01$ indicando significância.

4.11.5 Microscopia de varredura confocal

A imagem fornecida por microscópios em geral é composta por um único plano no qual vários planos aparecem em foco simultaneamente, o que muitas vezes, produz imagens

de baixa qualidade, principalmente quando se trata de amostras biológicas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

No entanto, a microscopia de varredura confocal possibilita a obtenção de imagens tridimensionais em alta resolução, pois apenas a imagem em foco alcança o detector, sendo que as demais partes da imagem são barradas. Desta forma, é possível reunir vários planos ou seções ópticas e reconstruí-los em uma imagem tridimensional (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

A microscopia de varredura confocal foi realizada no laboratório de diversidade animal na Universidade Federal de São Carlos – UFSCar campus Sorocaba.

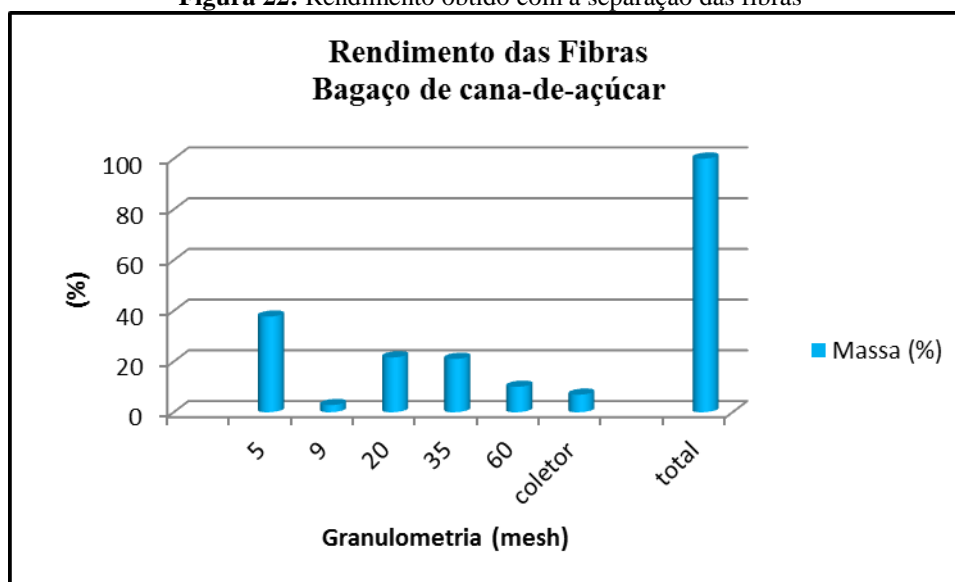
Para o ensaio de microscopia de varredura confocal, posterior a cada tempo de cultivo, as membranas foram fixadas com paraformaldeído a 4% e os núcleos das células foram marcados com DAPI (4',6-Diamidino-2'-fenilindol dicloridrato) e os citoesqueletos foram marcados com AlexaFluor 647, com intuito de analisar a proliferação celular. A contagem dos núcleos foi realizada após a reconstrução 3D das imagens, utilizando o software Image J.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Separação das fibras por granulometria

A partir da separação das fibras, obteve-se as porcentagens em massa das fibras retidas em cada peneira utilizada na separação, conforme ilustrado na Figura 22, onde no eixo X estão representados os mesh das peneiras utilizadas na separação das fibras e no eixo Y as massas em porcentagem retidas em cada uma das mesmas. As peneiras utilizadas para a separação foram de 5 mesh (4,0 mm), 9 mesh (2,0 mm), 20 mesh (0,841 mm), 35 mesh (0,5 mm), 60 mesh (0,250 mm) e o coletor.

Figura 22: Rendimento obtido com a separação das fibras



Fonte: A autora

De acordo com os dados obtidos, verifica-se que aproximadamente 35% do bagaço de cana-de-açúcar ficou retido na peneira de 5 mesh, seguido pelas peneiras de 20 e 35 mesh com aproximadamente 20% do bagaço retido. As peneiras de 60 e 9 mesh apresentaram a menor massa retida, com aproximadamente 10% e 5%, respectivamente.

5.2 Composição química do bagaço de cana-de-açúcar

A partir das caracterizações químicas efetuadas foi possível determinar a umidade, os teores de extrativos solúveis em água quente, extrativos solúveis em solventes orgânicos (ciclohexano/etanol 1:1 v/v), cinzas, lignina Klason, holocelulose, α -celulose e polioses, com o

intuito de conhecer as características químicas do bagaço de cana-de-açúcar e assim, entender suas propriedades.

A Tabela 4 apresenta os valores obtidos para os principais compostos presentes no bagaço de cana-de-açúcar e alguns dados comparativos descritos na literatura. Os teores foram obtidos utilizando as fibras sem extrativos, retidas nas peneiras de 20, 35 e 60 mesh e descontando-se a umidade. Apenas os teores de extrativos foram obtidos a partir das fibras *in natura*.

Para conhecer o teor de celulose verdadeira presente no bagaço de cana-de-açúcar utilizado, foi realizada a análise do teor de α -celulose. Com o intuito de verificar a influência do tempo do processo de branqueamento no teor de α -celulose, esta foi analisada também a partir da polpa branqueada, tendo em vista que o processo para obtenção de holocelulose ocorre por 5h, enquanto o de branqueamento da polpa marrom ocorre por 3h, utilizando-se os mesmos reagentes. Tais teores também encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4: Composição química do bagaço de cana-de-açúcar de acordo com a literatura e teores obtidos

Análise	Teores Obtidos (%)			Teores descritos em literatura (%)		
	20 mesh	35 mesh	60 mesh	CANILHA et al.(2007)	CARASCHI et al. (1996)	GOUVEIA et al. (2009)
holocelulose	90,43±4,45	87,82±3,87	72,49±2,37		76,5	
α-celulose da holocelulose (5h)	35,46±4,86	26,41±3,36	46,02±0,51	46,86±0,22	51,0	42,8
α-celulose (α) da polpa branqueada (3h)	49,33±0,53	39,38±1,02	45,80±0,72			
polioses	30,09± 1,87	37,25± 2,32	6,53± 1,86	27,50±0,14	27,0	25,8
lignina	21,96±0,54	23,36±2,56	23,93±3,92	26,27±0,71	23,3	22,1
cinzas	1,77±0,19	2,25±0,11	5,34±0,85	1,61±0,02	0,4	1,4
Extrativos (água quente)	9,24±2,39	7,97±2,55	11,10±0,98		6,8	
Extrativos (solv. orgânicos)	3,68±2,27	4,89±1,13	3,11±1,62	6,13±0,04	8,1	6,1
Total	102,2	102,13	96,03	108,37±0,22	116,6	98,2

Fonte: A autora

Uma análise da Tabela 4 permite verificar que o valor obtido para holocelulose da amostra de bagaço retida na peneira de 60 mesh se assemelha aos trabalhos da literatura. A mesma observação pode ser feita para o valor obtido na análise do teor de α -celulose (da holocelulose) obtido a partir do bagaço retido na peneira de 60 mesh.

Os resultados de porcentagem de holocelulose obtidos a partir do bagaço retido nas peneiras de 20 e 35 mesh são superiores aos relatados na literatura, enquanto os resultados obtidos da celulose para as fibras desta granulometria estão inferiores aos relatados.

A lignina total está de acordo com a literatura e os teores de extrativos solúveis em água quente e em solventes orgânicos também estão relativamente próximos ao descrito na literatura. Por outro lado, os teores de polioses estão distintos entre si, apenas o teor obtido com as fibras de 20 mesh se assemelham ao descrito em literatura.

Observa-se que os teores de α -celulose, da polpa branqueada e da holocelulose obtidos a partir das fibras retidas na peneira de 60 mesh estão muito próximos. Sendo assim, pode-se dizer que o tempo de branqueamento não influenciou significativamente, nem para maior extração da α -celulose, nem na degradação da mesma, que resultaria em redução no valor final.

Contudo, para as amostras de 20 e 35 mesh, os teores de α -celulose obtidos a partir da holocelulose estão inferiores em relação aos teores obtidos a partir a polpa branqueada, provavelmente, devido à superfície de contato da polpa ser maior do que a das fibras e por tratar-se de uma polpa, possui maior propriedade de inchamento, ambas as características favorecem o ataque químico da solução à amostra, o que não ocorre para as fibras de maior granulometria.

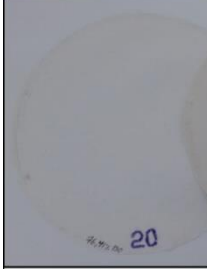


O teor de cinzas das fibras retidas na peneira de 60 mesh pode estar acima do descrito em literatura devido à possibilidade de haver uma grande quantidade de medula misturada às fibras desta granulometria, devido ao bagaço não ter sido moído, mas apenas separado no peneirador. De acordo com PATURAU (1989), a medula de bagaço de cana-de-açúcar possui teor de cinzas de 3,2%, enquanto a fibra apresenta teor de 1,2%. Quanto menor a granulometria, maior o teor de cinzas obtido.

5.3 Polpa branqueada

5.3.1 Alvura

Os resultados obtidos a partir das análises de alvura demonstraram que quanto maior a granulometria, maior foi o grau de alvura obtido. O grau de branqueamento das polpas, assim como as folhas formadas e utilizadas para a análise estão indicadas na Figura 23, de forma que pode-se observar a menor alvura da polpa obtida a partir do bagaço retido na peneira de 60 mesh.

Figura 23: Alvura das polpas branqueadas

20 mesh	35 mesh	60 mesh
		
76,41%	64,61%	42,80%

Fonte: A autora

Os dados de alvura mostram que, quanto menor o tamanho das fibras, mais difícil torna-se a extração da lignina, o que reflete em menor porcentagem de alvura, visto que a lignina confere coloração à polpa. As menores fibras, presentes na peneira de 60 mesh têm uma maior área superficial comparativamente as demais, o que deveria facilitar a entrada e ataque dos reagentes às cadeias poliméricas.

De uma forma inversa ao que se poderia imaginar, os resultados de porcentagem de alvura para a polpa obtida a partir das fibras retidas na peneira de 60 mesh mostram que um outro fator deve ser mais importante do que a área superficial. Acredita-se que as partículas menores possuem menor grau de inchamento na presença do solvente da polpação, o que seria uma característica morfológica intrínseca das menores partículas quando comparadas as maiores fibras. Isso pode ser percebido também nas reações de acetilação, onde quanto menor a granulometria, mais heterogênea foi a reação como será mostrado nos itens seguintes.

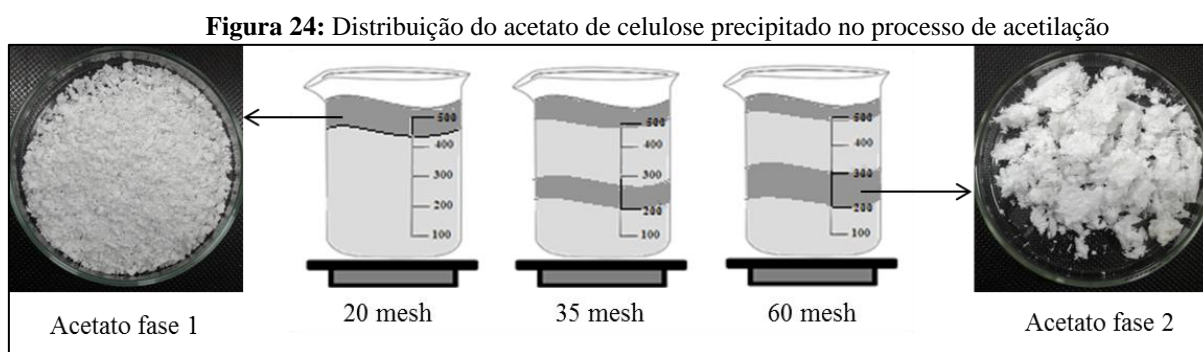
Esse resultado é particularmente interessante, pois mostra que a extração da lignina está associada a morfologia das fibras e este fato não tem sido discutido com detalhes na literatura que trata de processos de polpação de fibras de bagaço de cana-de-açúcar.

5.4 Acetato de celulose e determinação do grau de substituição (GS)

Após extração em água quente, extração em solventes orgânicos, polpação acetossolve e branqueamento, foram acetiladas 5g de cada polpa branqueada, resultantes das fibras retidas nas peneiras de 20, 35 e 60 mesh, utilizando a reação heterogênea de acetilação.

Ao adicionar água destilada para precipitação do AC, verificou-se que as amostras de 20, 35 e 60 mesh precipitaram, porém, as amostras de 35 e 60 mesh formaram três fases e não

apenas duas conforme esperado (solvente e acetato), obtendo assim duas fases de acetato distintas, onde a fase formada na parte superior da solução apresentou-se como um pó, que foi tratado neste trabalho como fase 1, enquanto a intermediária apresentou uma aparência mais “plastificada” quando seca e foi chamada de fase 2. O esquema do ocorrido após a precipitação está ilustrado na Figura 24.



Fonte: A autora

Foi efetuada a determinação do GS através de titulação das cinco amostras obtidas, a fim de verificar se haviam variações no mesmo, obtendo os valores descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Graus de substituição obtidos para cada mesh

Acetatos de celulose obtidos e seus respectivos graus de substituição				
Mesh	Fase 1 (massa em g)	GS	Fase 2 (massa em g)	GS
20	7,87	2,1	Não ocorreu	
35	4,34	1,99	3,27	1,45
60	2,48	2,79	4,32	2,30

Fonte: A autora

A partir da Tabela 5 pode se observar que as amostras de 60 mesh apresentaram maior massa de AC na fase 2 do que a de 35 e que a amostra de 20 mesh não apresentou esta fase, o que sugere que quanto menor a granulometria mais heterogênea torna-se a reação, tendo em vista que os graus de substituição são diferentes para cada amostra.

O AC comercial da marca Rhodia possui grau de substituição 2.54, portanto, pode-se considerar que a reação de acetilação foi bem sucedida em relação à substituição dos grupos hidroxila pelos acetila, apenas houve separação de fases devido à presença de medulas nas polpas branqueadas, que por sua vez, quanto menor a granulometria, maior a quantidade de medulas presente.

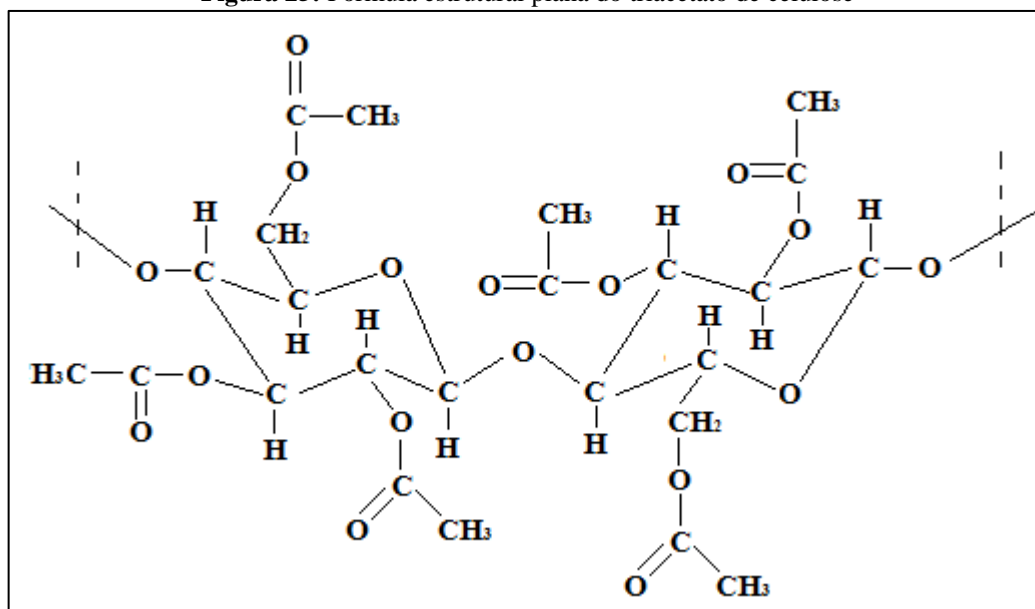
Rodrigues Filho et al. (2008) obteve acetatos de celulose a partir de reciclagem química de jornal com graus de substituição 2,79 e 1,98 com tempos de reação de 24 e 48

horas respectivamente, enquanto Carvalho (2009) obteve acetatos de celulose de bagaço de cana-de-açúcar com graus de substituição 2,69 com tempo de reação de 24 horas.

5.5 Determinação das massas molares médias dos acetatos de celulose obtidos

As massas molares dos acetatos de celulose obtidos foram calculadas considerando-se a fórmula molecular da celulose em cadeia $(C_6H_{10}O_5)_n$, a partir da qual, os hidrogênios presentes nos grupos hidroxila (OH) foram substituídos pelos elementos dos grupos acetila (C_2H_3O) de acordo com cada grau de substituição. A fórmula estrutural plana do triacetato de celulose está ilustrada na Figura 25.

Figura 25: Fórmula estrutural plana do triacetato de celulose



Fonte: A autora

A partir da fórmula estrutural plana e dos graus de substituição dos acetatos de celulose obtidos, foram determinadas as fórmulas moleculares de cada acetato em questão. Assim, considerando as massas atômicas dos elementos presentes na molécula (C=12u, H=1u e O=16u), foram calculadas também as massas molares médias das moléculas dos acetatos. Tais resultados estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6: Graus de substituição, fórmulas moleculares e massas molares dos acetatos de celulose obtidos

Acetatos obtidos	Graus de substituição	Fórmulas moleculares	Massas molares (M)
20 mesh (fase 1)	2,10	$C_{10,2}H_{12,2}O_{7,1}$	248,2 g/mol
35 mesh (fase 1)	1,99	$C_{10}H_{14}O_7$	246,0 g/mol
35 mesh (fase 2)	1,45	$C_{8,9}H_{12,9}O_{6,45}$	222,9 g/mol
60 mesh (fase 1)	2,79	$C_{11,6}H_{15,6}O_{7,8}$	279,6 g/mol
60 mesh (fase 2)	2,30	$C_{10,6}H_{14,6}O_{7,3}$	258,6 g/mol

Fonte: A autora

De acordo os dados descritos na Tabela 6, pode-se verificar que as massas molares dos acetatos de celulose aumentam de acordo com o aumento do grau de substituição, isso deve-se à maior quantidade de ramificações (grupos acetila).

5.6 Viscosimetria

A partir das análises de viscosidade foi possível obter diversos dados importantes, tais como viscosidade relativa (η_{rel}), viscosidade intrínseca $[n]$, grau de polimerização (GP) e massa molar viscosimétrica (Mv). Na Tabela 7 estão descritos os dados acima citados, referentes às polpas branqueadas obtidas através do processo acetossolve realizado com as fibras retidas nas peneiras de 20, 35 e 60 mesh e dos acetatos de celulose fase 1 obtidos com essas granulometrias. Devido à alta concentração de grumos, não foi possível efetuar as medidas de tempo de escoamento dos acetatos de celulose fase 2, pois entupiram o capilar do viscosímetro, impossibilitando a análise.

Tabela 7: Viscosidades relativa e intrínseca, grau de polimerização e massa molar viscosimétrica

mesh	Polpa branqueada (celulose)				Acetato de celulose (fase 1)				GS
	η_{rel}	$[n]$ (cm ³ /g)	GP	Mv (g/mol)	η_{rel}	$[n]$ (cm ³ /g)	GP	Mv (g/mol)	
20	5,276	377,95	512,79	83.071,98	4,442	91,38	106,81	26.510,24	2,1
35	4,064	332,48	443,59	71.861,58	5,544	112,76	134,74	33.146,04	1,99
60	4,017	316,25	421,12	68.221,44	5,194	96,93	114,00	31.874,40	2,79

Fonte: A autora

O processo de separação das fibras por peneiramento promove a obtenção de fibras de diferentes aspectos anatômicos. Dessa maneira, peneiras com maior mesh possuem capacidade de reter menores partículas. Conhecidamente, o bagaço é muito heterogêneo e constituído de fibras e medula. As medulas não possuem características de fibras, embora tenham composição química semelhante, apresentam características esféricas e assim sendo, essas partículas apresentam área superficial superior quando comparadas às fibras.

Uma análise da Tabela 7 indica que os processos acetossolve e de branqueamento com clorito de sódio causam efeito diferenciado sobre as diferentes fibras de acordo com suas características anatômicas. Fica evidenciado também, que as fibras de menores granulometrias apresentaram uma tendência a fornecer polpas com menores valores de viscosidade, grau de polimerização e massa molar viscosimétrica.

Este fato é muito interessante e mostra que existe uma maior tendência à degradação das cadeias de celulose presentes nas fibras de menor granulometria, tipicamente o que poderia ser esperado de uma reação em fase heterogênea.

Souza (2009) obteve uma massa molar viscosimétrica média de 108.000 g/mol para a α -celulose obtida a partir do bagaço de cana-de-açúcar e 160.000 g/mol para a celulose da marca Rhodia (obtida com madeira de *Pinus*) e justificou estes dados como a diferença entre a estrutura das fibras da madeira de *Pinus* e do bagaço de cana-de-açúcar e principalmente a influência do processo de isolamento da celulose, pois apesar de terem como função a extração da lignina, isso não ocorre sem degradação das cadeias poliméricas, nas quais a hidrólise das unidades de celulose resultam na diminuição da massa molar da mesma e que cada processo de polpação e branqueamento implica em valores diferentes de massas molares do material final.

De acordo com Souza (2009), comparando os resultados descritos para a celulose da marca Rhodia, obtida com madeira de *Pinus*, com os obtidos com bagaço de cana-de-açúcar, verifica-se que a massa molar viscosimétrica média está inferior devido às diferentes estruturas para cada tipo de fibra.

Além disso, a massa molar viscosimétrica média deste trabalho foi obtida a partir da polpa branqueada, que não trata-se de celulose pura, uma vez que apresenta polioses e pode apresentar também uma pequena parcela de lignina, que certamente influenciaram no valor final, resultando em massa molar inferior em relação à α -celulose, que é a celulose pura. Desta forma, a massa molar obtida é inferior também à massa molar viscosimétrica média descrita para o bagaço de cana-de-açúcar.

Através da Tabela 7, pode-se verificar que as viscosidades relativa e intrínseca, o grau de polimerização e a massa molar viscosimétrica diminuem conforme diminuição da granulometria. Além disso, quando comparadas as massas molares viscosimétricas dos acetatos de celulose e da celulose, verifica-se que devido a acetilação houve uma redução de 68,08% na massa molar viscosimétrica para os materiais obtidos com as fibras retidas na peneira de 20 mesh, 53,87% para os de 35 mesh e 53,27% para os de 60 mesh.

Observa-se que quanto maior a granulometria, maior foi a porcentagem de redução na massa molar viscosimétrica dos acetatos de celulose, o que deve-se a maior porcentagem de celulose presente nos obtidos com as fibras de 20 mesh, tendo em vista que a reação de acetilação é um processo de hidrólise e degrada principalmente as ligações éster presentes na celulose, resultando em uma considerável quebra das cadeias celulósicas.

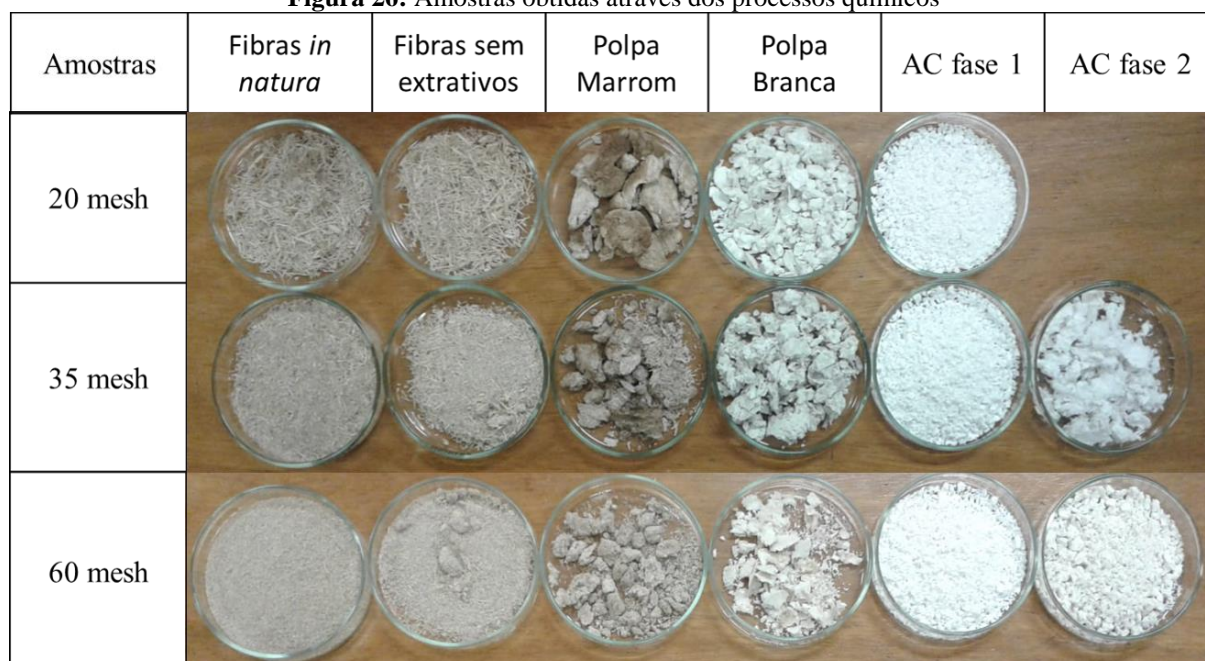
Sabe-se que a variação na redução das massas molares observadas é devido à degradação, que por sua vez, depende da extensão das regiões amorfas presentes no material, pois estas são mais susceptíveis ao inchamento e quebra de ligações. Conforme explicado anteriormente, quanto menor a granulometria das fibras, mais difíceis e heterogêneas foram as reações, o que sugere que possuem maior quantidade ou extensão de regiões cristalinas do que as de maiores granulometrias.

Em todos os casos a acetilação provocou redução das massas molares. Todas as massas molares viscosimétricas das polpas são superiores as dos acetatos de celulose, o que sugere possível quebra de ligações éster por hidrólise ácida no processo de acetilação.

5.7 Características das amostras obtidas em cada processo

Ao longo dos processos realizados foram obtidas diversas amostras para as três granulometrias de fibras utilizadas. As amostras estão ilustradas na Figura 26.

Figura 26: Amostras obtidas através dos processos químicos



Fonte: A autora

As fibras *in natura* são o bagaço sem nenhum tratamento, apenas separado nas granulometrias 20, 35 e 60 mesh.

As fibras sem extrativos foram obtidas após os processos de extração em água quente e em solução de cicloexano/etanol (1:1 v/v), perdendo assim contaminantes como terra e os compostos de baixa massa molar, como resinas e açúcares.

A polpa marrom é uma massa aparentemente homogênea, formada pelas fibrilas após desagregação das fibras e extração de boa parte da lignina durante o processo de polpação acetossolve, mas há uma pequena quantidade de lignina ainda presente, o que confere a cor marrom.

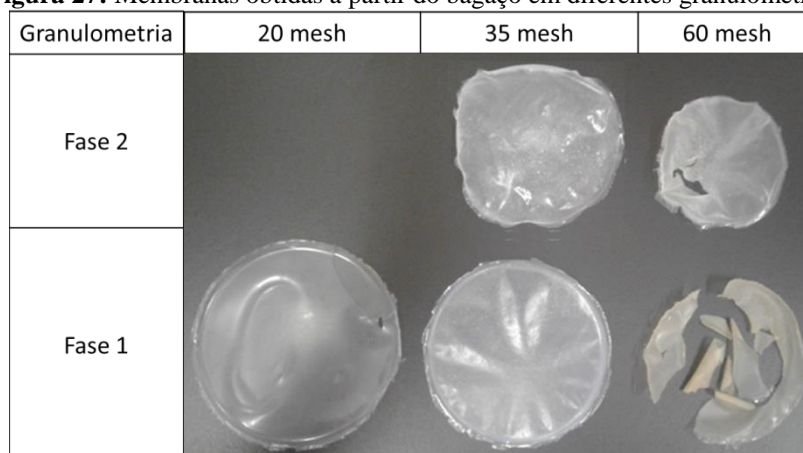
A polpa branqueada é resultado do processo de branqueamento da polpa marrom com clorito de sódio e possui ainda, uma pequena quantidade de lignina, o que pode ser observado a partir do grau de alvura das folhas, conforme já citado.

Após o processo de acetilação pela reação heterogênea, foi obtido o AC, que neste caso, trata-se de um pó branco, chamado de fase 1 e no caso das amostras de 35 e 60 mesh há também a fase 2, já citada anteriormente.

5.8 Obtenção das membranas

Foram obtidas membranas com as cinco amostras de AC, utilizando 1g de AC e 25 mL de clorofórmio para a formação de cada uma e, conforme é possível observar na Figura 27, as membranas obtidas diferem entre si.

Figura 27: Membranas obtidas a partir do bagaço em diferentes granulometrias



Fonte: A autora

Foi possível observar que, quanto menor a granulometria, mais frágeis tornaram-se as membranas resultantes, o que pode ser resultante das medulas presentes não terem sido processadas corretamente e estarem presentes no AC como contaminantes, gerando pontos de tensão.

A presença de lignina na polpa branqueada obtida para a amostra de 60 mesh pode ter afetado de maneira importante a qualidade da membrana obtida por acetilação dessa polpa. A presença de lignina já havia sido relatada nos ensaios de alvura mostrados na Figura 23.

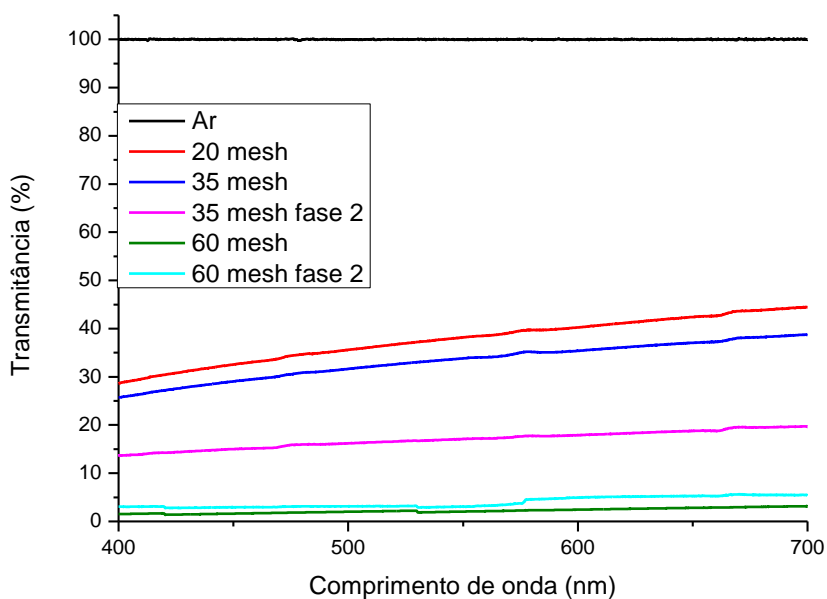
De acordo com Freitas (2016), quanto menor o GS, maior foi o índice de cristalinidade obtido, que por sua vez, é explicado pela substituição dos grupos acetila por grupos hidroxilas, que possuem menor volume e massa molar do que os grupos acetila, resultando em maior aproximação das cadeias e interações intermoleculares. Esta é uma possível explicação para a redução em volume que ocorreu durante a formação das membranas, tendo em vista que a massa de acetato de celulose utilizada foi a mesma em todas as sínteses.

É possível visualizar também, a presença de lignina nas membranas de 60 mesh, pois a coloração apresenta tonalidade marrom. Não há relatos em literatura do efeito da lignina em filmes ou membranas de AC, mas acredita-se que ela também seja responsável pela fragilidade das mesmas, interferindo na acetilação e até mesmo na dissolução do AC, tornando a membrana mais quebradiça, além da considerável presença de material particulado e não acetilado, que por sua vez, também afeta as propriedades mecânicas, agindo como pontos de tensão.

Provavelmente, tanto a presença de medula quanto de lignina foram responsáveis pela divisão do acetato em duas fases durante o processo de acetilação da polpa branqueada, conforme descrito anteriormente, tendo em vista que, quanto maior a presença destes contaminantes, mais leve ficou a fase, pois o acetato é mais denso do que as mesmas, e a fase mais leve ficou na parte superior da solução e justamente a fase mais acima, resultou em menor qualidade das membranas, mesmo possuindo maior GS do que as fases intermediárias.

5.8.1 UV-VIS das membranas para determinação do grau de transparência

Foi obtido o espectro no modo transmitância para avaliar o grau de transparência das membranas na região do espectro visível, conforme Figura 28.

Figura 28: Transmitância das membranas na região do espectro visível

As membranas produzidas a partir de fibras de menores granulometrias possuem menor grau de transparência e, conforme Tabela 8, é possível observar que a variação total de transparência ao longo do espectro visível também é menor para as membranas de menores granulometrias, tornando-se cada vez mais linear. Fato este que deve-se a presença de lignina em maior quantidade nas membranas de menores granulometrias.

Assim, a partir da Tabela 8 pode-se verificar que a maior variação de transparência ao longo do espectro visível foi observada na membrana obtida a partir das fibras retidas na peneira de 20 mesh com 15,8% de variação, seguida pela membrana de 35 mesh com 12,9%, 35 mesh fase 2 com 5,9%, 60 mesh fase 2 com 2,3% e 60 mesh com 1,6% de variação.

Mesmo com as variações, o comportamento óptico das membranas é o mesmo, onde a transmitância iniciada em 400 nm aumenta em porcentagem até 700 nm.

Tabela 8: Variação da transparência das membranas ao longo do espectro visível

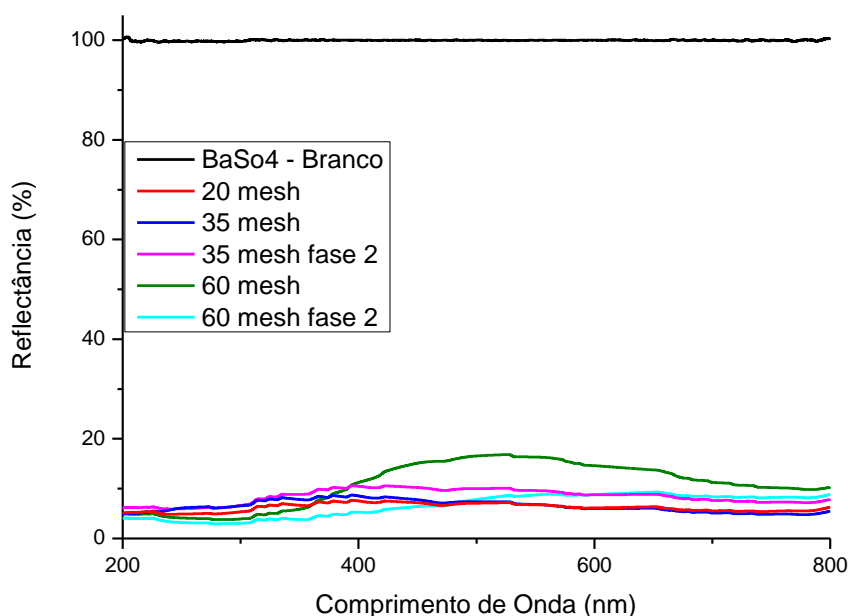
Grau de transparência das membranas (%)						
Comp. de Onda (nm)	Cor absorvida	20 mesh	35 mesh	35 mesh (fase 2)	60 mesh	60 mesh (fase 2)
400 a 450	Violeta	28,6 a 32,5	25,7 a 29,0	13,6 a 15,0	1,5 a 1,6	3,0 a 2,9
450 a 480	Anil	32,5 a 34,6	29,0 a 30,8	15,0 a 15,9	1,6 a 1,8	2,9 a 3,1
480 a 495	Azul	34,6 a 35,3	30,8 a 31,3	15,9 a 16,1	1,8 a 1,9	3,1
495 a 570	Verde	35,3 a 39,0	31,3 a 34,4	16,1 a 17,3	1,9 a 2,2	3,1 a 3,5
570 a 590	Amarelo	39,0 a 39,8	34,4 a 35,1	17,3 a 17,7	2,2 a 2,3	3,5 a 4,6
590 a 620	Laranja	39,8 a 41,1	35,1 a 36,1	17,7 a 18,2	2,3 a 2,5	4,6 a 5,1
620 a 700	Vermelho	41,1 a 44,4	36,1 a 38,6	18,2 a 19,5	2,5 a 3,1	5,1 a 5,3
Variação total de transparência		15,8	12,9	5,9	1,6	2,3

Fonte: A autora

A membrana que possui maior índice de transparência é a que foi obtida a partir das fibras retidas na peneira de 20 mesh, chegando a 44,4% de transparência, seguida pela membrana de 35 mesh com 38,6% e 35 mesh fase 2 com 19,5%. As membranas obtidas a partir das fibras retidas na peneira de 60 mesh, ficaram mais opacas, o que pode ser explicado pela maior quantidade de medulas e lignina presentes como contaminantes conforme já explicado anteriormente, possuindo índice de transparência de 2,3% e 1,6% para 60 mesh fase 2 e 60 mesh fase 1 respectivamente.

Foi obtido também o espectro no modo reflectância para avaliar a porcentagem de energia refletida entre a região do ultravioleta e infravermelho próximo conforme Figura 29.

As membranas de acetato de celulose possuem índices de reflectância distintos entre si e variam ao longo do espectro. Na Tabela 9 estão os índices de reflectância das membranas do ultravioleta ao infravermelho próximo.

Figura 29: Reflectância das membranas**Tabela 9:** Variação da reflectância das membranas ao longo do espectro

Reflectância das membranas (%)						
Comp. de Onda (nm)	Cor absorvida	20 mesh	35 mesh	35 mesh (fase 2)	60 mesh	60 mesh (fase 2)
< 380	Ultravioleta	5,1 a 7,4	5,1 a 8,5	6,1 a 10,2	5,0 a 9,1	4,0 a 4,8
380 a 450	Violeta	7,4 a 7,1	8,5 a 7,7	10,2	9,1 a 15,1	4,8 a 6,4
450 a 480	Anil	7,1 a 6,8	7,7 a 7,2	10,2 a 9,8	15,1 a 15,8	6,4 a 6,9
480 a 495	Azul	6,8 a 7,0	7,2 a 7,3	9,8 a 10,0	15,8 a 16,4	6,9 a 7,6
495 a 570	Verde	7,0 a 6,5	7,3 a 6,4	10,0 a 9,3	16,4 a 15,9	7,6 a 8,8
570 a 590	Amarelo	6,5 a 6,1	6,4 a 6,0	9,3 a 8,7	15,9 a 14,8	8,8 a 8,6
590 a 620	Laranja	6,1 a 6,2	6,0	8,7 a 8,8	14,8 a 14,2	8,6 a 9,0
620 a 780	Vermelho	6,2 a 5,5	6,0 a 4,8	8,8 a 7,1	14,2 a 9,8	9,0 a 8,1
> 780	Infravermelho próximo	5,5 a 6,2	4,8 a 5,4	7,1 a 7,8	9,8 a 10,2	8,1 a 8,8
Variação de reflectância no espectro visível						
< 380	Ultravioleta	2,3	3,4	4,1	4,1	0,8
380 a 780	Visível	1,9	3,7	3,1	7,3	4,2
> 780	Infravermelho próximo	0,7	0,6	0,7	0,4	0,7

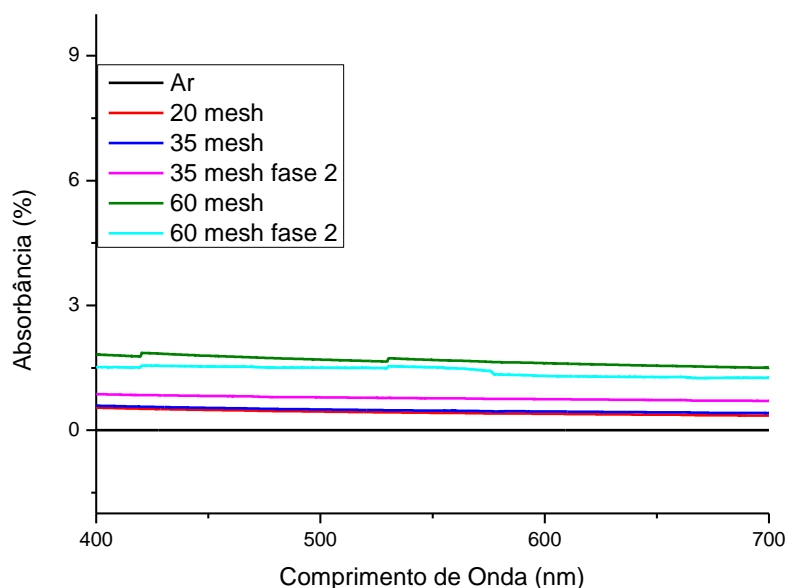
Fonte: A autora

Analisando a Figura 29 e a Tabela 9 pode-se observar que a membrana que possui maior índice de reflectância foi a obtida a partir das fibras retidas na peneira de 60 mesh, chegando a refletir 16,4% da luz na região azul-esverdeado do espectro, seguida pela membrana de 35 mesh fase 2 com 10% de reflexão na mesma região e 10,2% no ultravioleta próximo. A membrana de 60 mesh fase 2 foi a terceira melhor refletora, refletindo até 9% na região do laranja/vermelho. A membrana de 35 mesh refletiu na região ultravioleta até 8,5% da luz incidida. A membrana com menor índice de reflexão foi a de 20 mesh, com 7,4% também no ultravioleta. Tal resultado foi inversamente proporcional ao índice de transparência.

Pode-se verificar que a maior variação de reflectância ao longo do espectro foi observada na membrana obtida a partir das fibras retidas na peneira de 60 mesh com 7,3% de variação, seguida pela membrana de 60 mesh fase 2 com 4,2%, ambas na região visível do espectro. As membranas de 35 mesh apresentaram diferentes comportamentos refletivos, pois a de 35 mesh possui variação de 3,7% na região do visível, enquanto a de 35 mesh fase 2 apresentou variação de 4,1% na região do ultravioleta. A membrana de 20 mesh apresentou 2,3% de variação também na região do ultravioleta.

A partir destas informações, verifica-se que o acetato de celulose possui baixo índice de reflexão na região do infravermelho, quando comparado ao ultravioleta e visível.

Além dos gráficos de transmitância e reflectância, foi obtido também o gráfico de absorbância, calculado a partir dos dados de transmitância (Figura 30).

Figura 30: Absorbância das membranas

A absorbância possui um comportamento inversamente proporcional ao da transmitância e proporcional ao da reflectância, o que faz sentido, tendo em vista que quanto maior o índice de absorção de um material, menor será a porcentagem de luz transmitida.

O índice de absorbância obtido na região visível do espectro foi praticamente linear para todas as membranas, não sendo necessário verificar as variações nem os comprimentos de onda em que ocorreram.

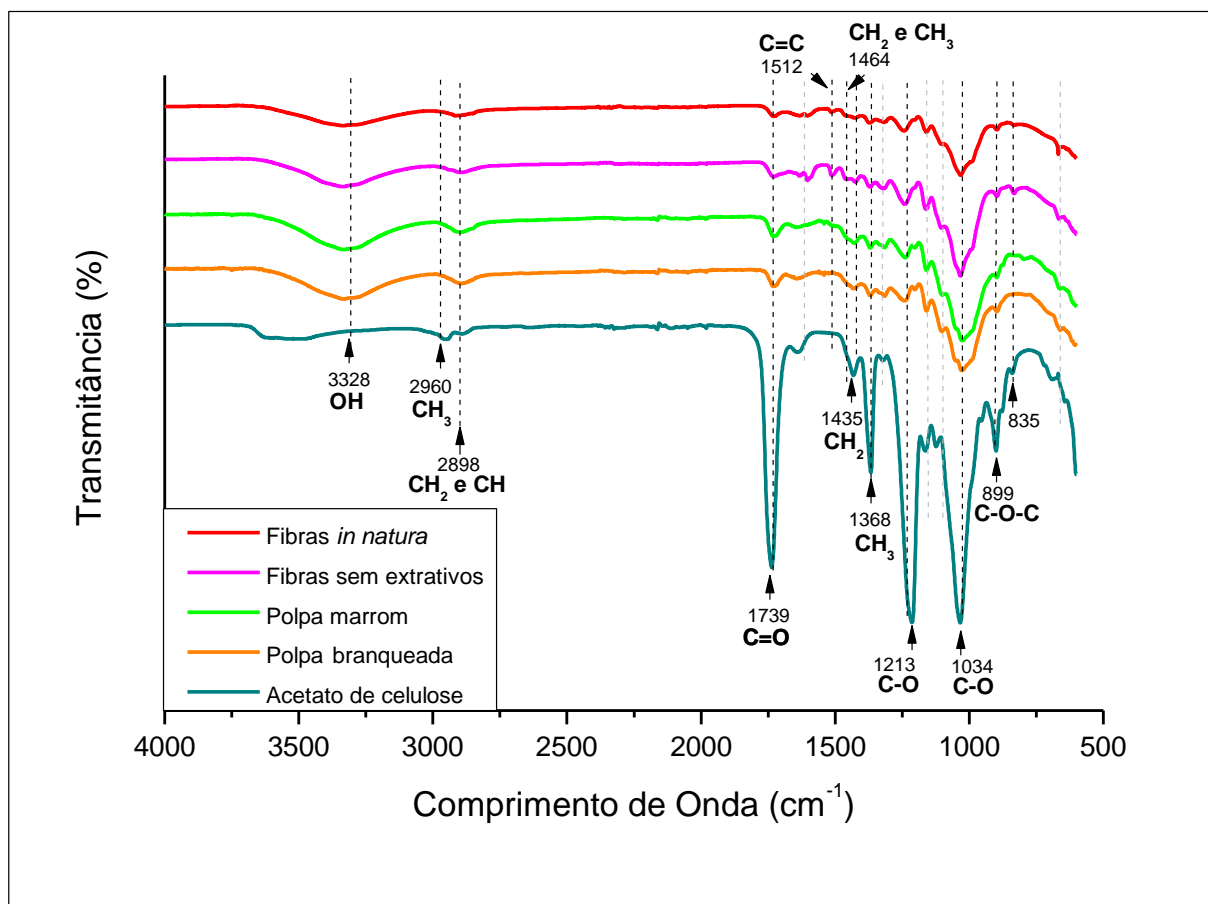
A maior absorção foi observada para a membrana obtida com as fibras retidas na peneira de 60 mesh, seguida pela de 60 mesh fase 2, 35 mesh fase 2, 35 mesh e 20 mesh, com aproximadamente 1,5%, 1,3%, 0,8%, 0,5% e 0,4%, de absorção respectivamente.

5.9 Análises das amostras obtidas após cada etapa do processo

5.9.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A amostra de fibras *in natura* (bagaço) retida na peneira de 20 mesh foi comparada com as amostras sem extrativos solúveis em água quente e cicloexano/etanol. Uma comparação igualmente importante, mostra as mudanças ocorridas nas polpas marrom e branqueada em comparação ao bagaço sem extrativos. Finalmente, a Figura 31 apresenta também o espectro de FTIR da celulose acetilada a partir da polpa branqueada.

Figura 31: Amostras de 20 mesh obtidas após cada processo



Fonte: A autora

Após a análise dos espectros, assim como da literatura, foi possível entender as diferenças entre as bandas características de cada material, resultantes do bagaço de cana-de-açúcar e dos processos químicos de retirada de extrativos, polpação acetossolve, branqueamento com clorito de sódio e acetilação heterogênea, conforme pode ser verificado na Tabela 10, em que ν são os estiramentos, ν_s são os estiramentos simétricos, ν_{as} os estiramentos assimétricos e δ deformação angular no plano.

Tabela 10: Principais bandas de absorção dos espectros das amostras obtidas após cada processo químico

Número de Onda (cm ⁻¹)						
Fibras <i>in natura</i>	Fibras sem extrativos	Polpa marrom	Polpa branqueada	Acetato de celulose	Atribuição	Espécie química
3328	3328	3328	3328		$\nu(\text{O-H})$	água e celulose
				2960	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$	Acetato de celulose
2898	2898	2898	2898	2898	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2 \text{ e } \text{CH})$	celulose
1739	1739	1739	1739	1739	$\nu(\text{C=O})$ não conjugada	Polioses, lignina e acetato de celulose
1634	1634	1634	1634	1634	$\delta(\text{HOH})$	água
1603	1603	1603	1603		$\nu(\text{C=C})$ e $\nu(\text{C=O})$ anel aromático	lignina
1512	1512				$\nu(\text{C=C})$ anel aromático	lignina
1464	1464	1464	1464	1464	$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_2 \text{ e } \text{CH}_3)$	lignina
1435	1435	1435	1435	1435	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$	celulose, polioses, lignina e acetato de celulose
1368	1368	1368	1368		$\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$	celulose, polioses e lignina
				1368	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	Acetato de celulose
1326	1326	1326	1326	1326	$\delta(\text{OH})$	celulose, polioses e lignina
				1326	$\delta(\text{CH}_2)$	Acetato de celulose
1239	1239	1239	1239		$\nu(\text{C-O})$	polioses e lignina
				1213	$\nu(\text{C-O})$	Acetato de celulose
1207	1207	1207	1207		$\nu(\text{C-O})$	celulose
1156	1156	1156	1156	1156	$\nu_{\text{as}}(\text{C-O-C})$ vibração do anel de piranose	celulose e polioses
1104	1104	1104	1104	1120	$\nu(\text{C-O})$ e $\nu(\text{C-C})$	celulose e polioses
1034	1034	1034	1034	1034	$\nu(\text{C-O})$	Celulose, polioses e acetato de celulose
988	988	988	988	988	$\nu(\text{C-O})$	celulose e polioses
899	899	899	899	899	$\nu(\text{C-O-C})$	Celulose e acetato de celulose
835	835	835	835	835	ligação de anel aromático para-dissubstituído	lignina
606	606	606	606	606	(C-O) grupos acetila	Celulose e acetato de celulose

Fonte: bagaço *in natura* - adaptado de: RODRIGUES (2012); polpa marrom e branqueada (lignina) - adaptado de: AGARWAL; ATALLA (2009), LIN; DENCE (1992), SCHRADER (1995); acetato de celulose - adaptado de: SILVA (2014); CANDIDO (2015).

- **Algumas discussões sobre os espectros de FTIR das fibras *in natura* e fibras sem extrativos**

As amostras de fibras *in natura* possuem seu espectro representado pelo bagaço de cana-de-açúcar. No caso das fibras sem extrativos, embora os extrativos tenham sido retirados, não há diferenças entre os espectros provavelmente devido à sensibilidade do espectrofotômetro.

Em ambas as amostras as principais bandas características são: 3328 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo hidroxila (OH) de água e celulose, 2898 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico de CH_2 e CH característicos da celulose, 1739 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo carbonila (C=O) não conjugada das polioses, lignina e acetato de celulose, 1634 cm^{-1} referente à deformação angular no plano (HOH) da água, 1603 cm^{-1} e 1512 cm^{-1} referentes aos estiramentos C=C e C=O, respectivamente, dos anéis aromáticos da lignina, 1464 cm^{-1} referente à deformação assimétrica angular no plano dos grupos CH_2 e CH_3 da lignina, 1435 cm^{-1} referente à deformação simétrica angular no plano do grupo CH_2 da celulose, polioses e lignina, 1368 cm^{-1} e 1326 cm^{-1} referentes à deformação simétrica angular no plano do grupo CH e deformação angular no plano do grupo OH, respectivamente, também da celulose, polioses e lignina, 1239 cm^{-1} referente ao estiramento C–O das polioses e lignina, 1207 cm^{-1} referente ao estiramento C-O da celulose, 1156 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico do grupo C–O–C da vibração do anel de piranose das polioses, 1104 cm^{-1} referente aos estiramentos C-O e C-C da celulose e polioses, 1034 cm^{-1} e 988 cm^{-1} , também referentes ao estiramento C-O da celulose e polioses, 899 cm^{-1} referente ao estiramento C-O-C da celulose, 835 cm^{-1} referente à ligação de anel aromático para-dissubstituído que ocorre na lignina e 606 cm^{-1} referente ao estiramento C-O dos grupos acetila da celulose.

- **Algumas discussões sobre os espectros de FTIR da polpa marrom**

A banda 1512 cm^{-1} , referente aos estiramentos C=C dos anéis aromáticos presentes na lignina desapareceu e a banda em 1464 cm^{-1} referente a deformação assimétrica angular no plano dos grupos CH_2 e CH_3 da lignina foi reduzido, decorrente da extração de lignina.

- **Algumas discussões sobre os espectros de FTIR da polpa branqueada**

Assim como na polpa marrom, a banda 1512 cm^{-1} , referente aos estiramentos C=C dos anéis aromáticos presentes na lignina não está presente e a banda em 1464 cm^{-1} referente a deformação assimétrica angular no plano dos grupos CH_2 e CH_3 da lignina foi reduzido, decorrente da extração de lignina.

Embora durante o processo de branqueamento a lignina residual seja extraída, a sensibilidade do espectrofotômetro não permitiu visualizar essa redução.

- **Algumas discussões sobre os espectros de FTIR do acetato de celulose**

Pode-se observar que as bandas localizadas nos comprimentos de onda 3328 cm^{-1} , referente ao estiramento do grupo hidroxila (OH) praticamente desaparece devido à substituição dos grupos hidroxila pelos grupos acetil na cadeia celulósica durante o processo de acetilação.

A banda em 2898 cm^{-1} , referente ao estiramento assimétrico de CH_2 e CH característicos da celulose se mantém e aparece um pico em 2960 cm^{-1} , referente ao estiramento assimétrico CH_3 do acetato de celulose.

A banda em 1739 cm^{-1} , referente ao estiramento do grupo carbonila (C=O) não conjugada, se torna muito intensa em função da reação de esterificação.

A banda presente em 1435 cm^{-1} referente CH_2 de acetato aumenta em relação às demais, devido à reação de esterificação.

A banda em 1368 cm^{-1} torna-se mais intensa, referente ao aumento das ligações com deformação simétrica angular no plano CH_3 presentes no AC em relação à polpa branqueada.

A banda em 1326 cm^{-1} , que no bagaço *in natura*, sem extrativos, polpa marrom e polpa branqueada eram referentes à deformação angular no plano do grupo hidroxila presente na celulose, polioses e lignina, no AC refere-se à deformação angular no plano CH_2 do acetato de celulose.

Aparece uma banda em 1213 cm^{-1} intensa, representando o estiramento do grupo C-O de acetado de celulose.

A banda que aparece em 988 cm^{-1} (conjugada ao pico em 1034 cm^{-1}), referente ao estiramento do grupo C-O praticamente desaparece, devido à redução dos grupos hidroxila após a acetilação, tendo em vista que parte destes foi substituída pelos grupos acetila.

A banda em 1034 cm^{-1} referente ao estiramento C-O da celulose, polioses e acetato de celulose torna-se intensa, pois o número de ligações éster aumenta em decorrência da reação de esterificação.

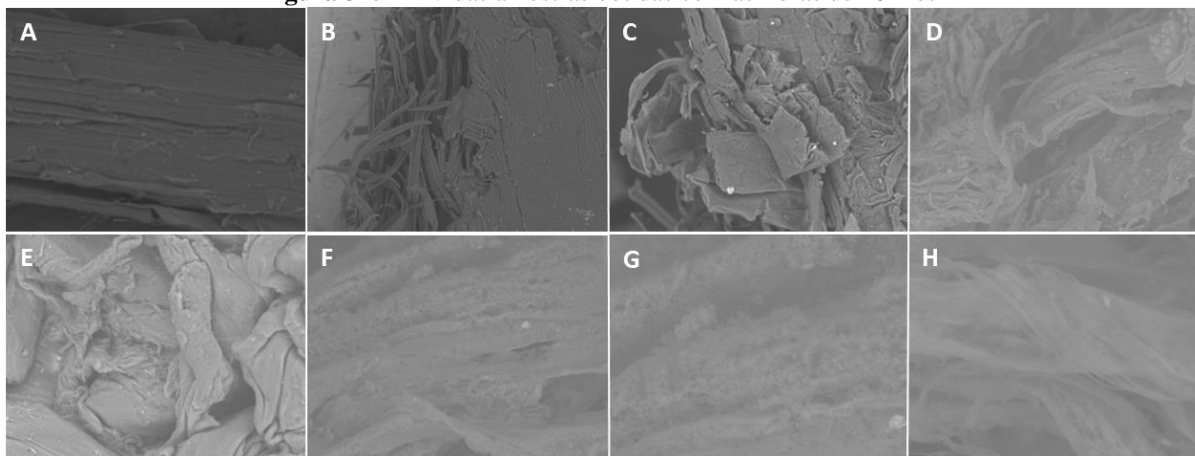
A partir da banda presente em 835 cm^{-1} , referente à ligação de anel aromático para-dissubstituído, que ocorre na lignina, pode-se verificar ainda a presença de uma pequena quantidade de lignina na polpa branqueada e acetato de celulose, visto que esta banda está presente em todos os espectros, o que sugere que o branqueamento não foi completo. Fato também comprovado a partir da análise de alvura, onde o maior índice de branqueamento obtido foi de 76,41%, resultante da amostra obtida a partir das fibras retidas na peneira de 20 mesh.

Não foram observadas bandas entre 1840 cm^{-1} e 1760 cm^{-1} relacionadas ao anidrido acético nem em 1700 cm^{-1} , relacionada ao ácido acético (FAN et al., 2014), utilizados na reação de acetilação. O que indica que a retirada dos resíduos da reação foi eficiente.

5.9.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Microscopia eletrônica de varredura foi efetuada para as amostras obtidas com as fibras retidas na peneira de 20 mesh, a partir da qual foi possível observar a diferença morfológica superficial entre as amostras. As imagens podem ser observadas na Figura 32, em que: A é a fibra *in natura*, B a polpa marrom, C a polpa branqueada e D o acetato de celulose, todas com ampliação de 300X, em E está uma imagem obtida a partir do AC comercial da marca Rhodia com ampliação de 800X, em F, G e H está o acetato sintetizado a partir do bagaço de cana-de-açúcar, com ampliações de 1000X, 2000X e 3000X respectivamente, com o intuito de observar os detalhes presentes na amostra.

Figura 32: MEV das amostras obtidas com as fibras de 20 mesh



Fonte: A autora

Em A observa-se uma fibra de bagaço de cana-de-açúcar, que apresenta uma estrutura organizada e levemente fibrosa, contendo pequenos pontos brancos que são as medulas presentes (RAVEN; EVERT; EICHCHORN, 2001).

De A para B (polpa marrom) pode-se observar que as fibras foram desagregadas em fibrilas, que formam uma massa homogênea. De acordo com Silva, 2014, estas fibrilas são alongadas em forma de bastonetes e possuem superfície rugosa. Este fato é decorrente da extração de grande parte da lignina presente no bagaço *in natura*.

De B para C (polpa branqueada), observa-se que as fibras estão mais dispersas e desorganizadas, devido à extração de quase toda lignina, que atua como uma resina ligante

entre as mesmas. As fibrilas possuem formato mais achatado, não mais em bastonetes como na polpa marrom. Estas modificações também foram observadas por Silva, 2014.

Observa-se em D, F, G e H que trata-se do acetato de celulose em diferentes ampliações, que este, forma uma estrutura fibrosa similar ao acetato de celulose comercial, cuja imagem está em E, no entanto, o acetato obtido possui poros ao longo das fibras, que podem ser observados em F e G, o que não foi observado no acetato comercial.

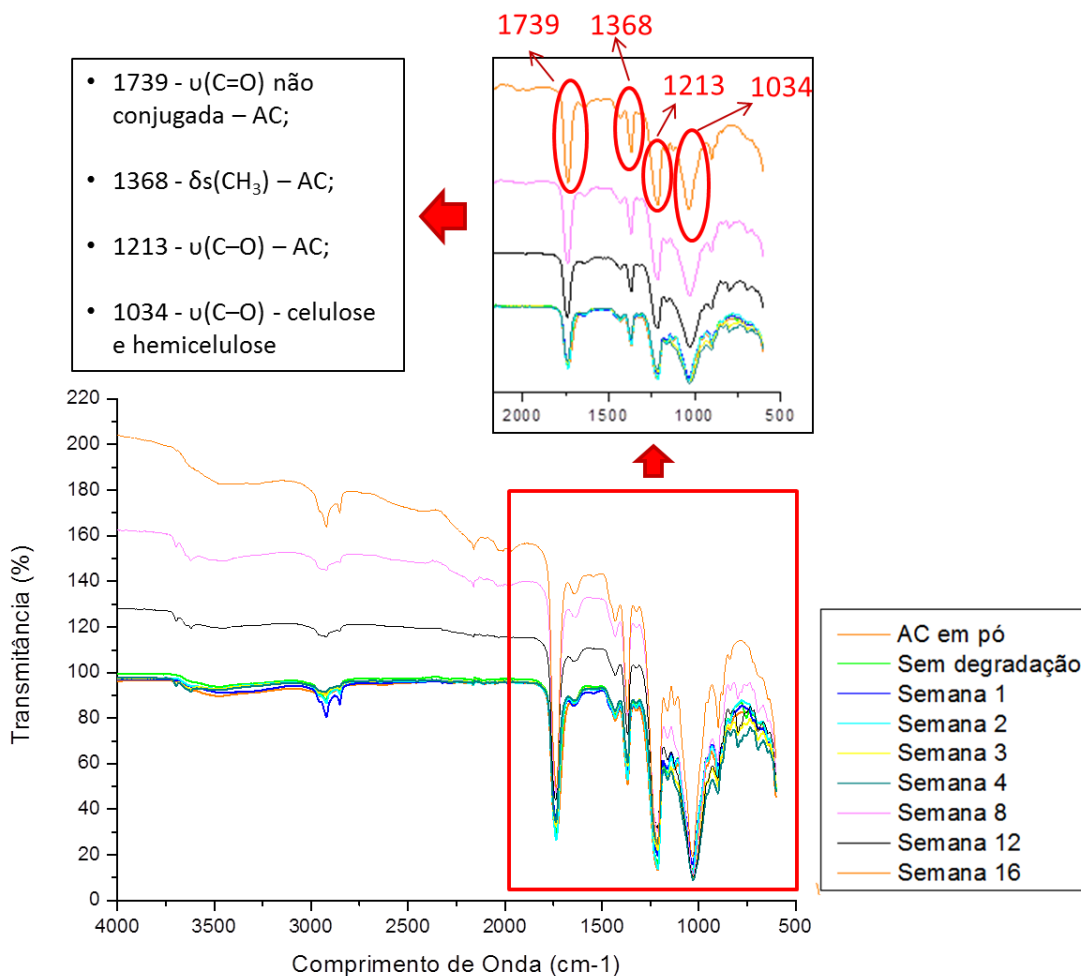
5.10 Degradação *in vitro*

As amostras de acetato de celulose submetidas à degradação foram analisadas comparativamente com as amostras não submetidas, com o intuito de verificar alterações físicas, químicas e morfológicas nas mesmas.

5.10.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para verificação de desacetilação

Tendo em vista que uma das formas de degradação do acetato de celulose é a desacetilação, foi feito FTIR das amostras submetidas à degradação ao longo dos quatro meses. Os espectros e principais bandas características do acetato de celulose estão na Figura 33.

Figura 33: Espectros de FTIR das amostras submetidas à degradação em solução PBS



A partir da análise de FTIR das membranas em degradação, pode-se verificar que não houve alteração de intensidade nas bandas dos espectros durante as primeiras quatro semanas de degradação, mas ocorreu aumento de intensidade no sinal gerado de forma crescente para os meses de janeiro, dezembro e fevereiro, nesta sequência.

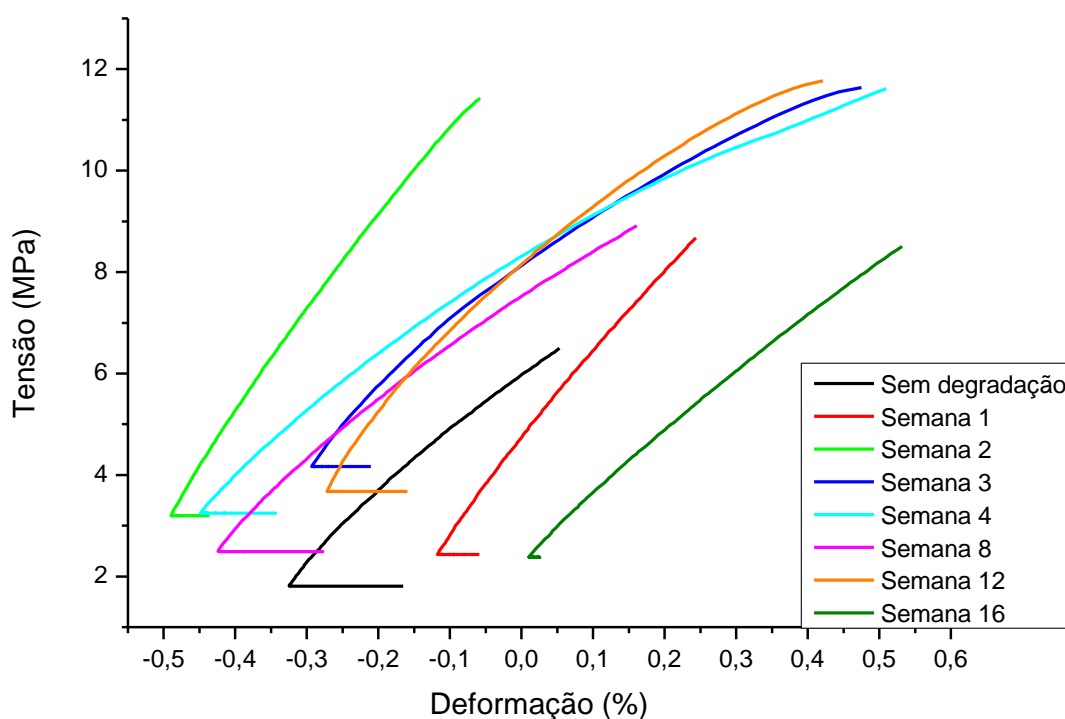
As principais bandas características do acetato de celulose: 1739 cm^{-1} , 1368 cm^{-1} e 1213 cm^{-1} continuam presentes no espectro, onde é possível verificar que houve um leve aumento na intensidade das mesmas. As bandas 1034 cm^{-1} referentes ao estiramento C-O da celulose e polioses também aumentaram em intensidade ao longo do período de dezesseis semanas. Assim, pode-se afirmar que não houve desacetilação durante o período analisado, mas que as bandas tornaram-se mais intensas devido a “purificação” do material por conta da extração da lignina, fato este, comprovado pela análise de UV-VIS das soluções PBS.

5.10.2 Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)

Para verificar a resistência à deformação das membranas submetidas à degradação, as amostras foram tracionadas utilizando-se garra de tração à temperatura ambiente. Foi verificado que o comportamento do material varia independentemente do tempo de degradação, o que deve-se à heterogeneidade das membranas.

A Figura 34 apresenta o comportamento dos corpos de prova quando submetidos à tensão/deformação até a força máxima do equipamento que é de 18N, porém, como a análise atingiu sua força máxima e parou antes de ocorrer deformação plástica e ruptura dos corpos de prova, não foi possível obter tensão e deformação no escoamento, tensão e deformação na ruptura e tenacidade.

Figura 34: Gráfico de tensão/deformação das membranas de acetato de celulose submetido à degradação



A partir dessa análise foi possível verificar a tensão e deformação máximas que o material suportou aplicando-se uma força máxima de 18N (força máxima aplicada pelo equipamento DMA) e foi possível calcular também o módulo de Young.

Decorrente dos dados obtidos a partir do gráfico de tensão/deformação, foi construída a Tabela 11, que contém a tensão e deformação máximas e módulo de Young para as amostras submetidas à degradação em solução PBS e sem degradação.

Tabela 11: Tensão, deformação e módulo de Young das amostras submetidas à degradação e sem degradação

Tensão/Deformação			
Tempo de degradação	Tensão máxima (MPa ou N/mm²)	Deformação máxima (%)	Módulo de Young (MPa)
Sem degradação	4,69	0,37	1267,56
Semana 1	6,25	0,35	1785,71
Semana 2	8,23	0,43	1913,95
Semana 3	7,53	0,76	990,78
Semana 4	8,40	0,94	893,61
Semana 8	6,42	0,58	1106,89
Semana 12	8,10	0,69	1557,69
Semana 16	6,13	0,52	1178,84

Fonte: A autora

A tensão, deformação e módulo de Young variam dentro de uma margem, ficando entre 4.69 e 8.40 MPa, 0.35 e 0.94 MPa e 893.61 e 1913.95 MPa, respectivamente, contudo, não foi possível estabelecer um padrão de comportamento em relação ao tempo de degradação, o que sugere que a degradação não interferiu em tais resultados e que as variações devem-se apenas à heterogeneidade das amostras.

De acordo com Silva (2014), a reação de acetilação heterogênea, utilizada neste trabalho, é iniciada nas regiões amorfas, mais acessíveis ao ataque químico, prosseguindo gradativamente para as regiões cristalinas, que por serem mais organizadas, são menos acessíveis aos reagentes. De acordo com Edgard et al. (1998), essa substituição irregular dos grupos hidroxila ao longo da cadeia resulta em acetatos de celulose heterogêneos e propriedades mecânicas irregulares, fato também observado neste trabalho nesta e nas demais análises mecânicas.

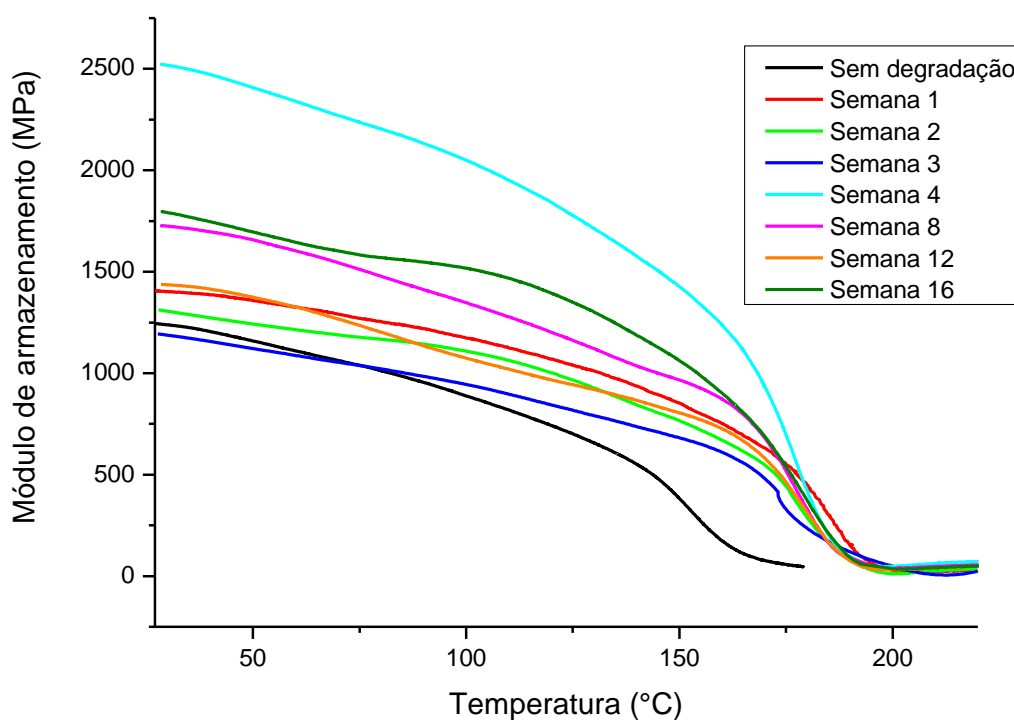
De acordo com Abdel-Nabi e Al-Ghamdi (2014a e 2014b) o módulo de Young do acetato de celulose é de aproximadamente 1500 MPa, valor próximo aos obtidos para as amostras em questão.

O DMTA permite também analisar a variação de temperatura em relação a quantidade de energia armazenada, chamado de módulo de armazenamento e energia dissipada pelo material em forma de calor, que trata-se do módulo de perda. Além disso, a razão entre o módulo de armazenamento e o módulo de perda é a tangente de delta ($\tan\delta$), que permite a

avaliação das movimentações moleculares do material em relação à temperatura (CALLISTER, 2008).

Na Figura 35 podem ser observadas as curvas típicas do módulo de armazenamento das amostras submetidas à degradação em solução PBS e sem degradação.

Figura 35: Módulo de armazenamento das amostras submetidas à degradação e sem degradação



Na Tabela 12 estão apresentados os valores médios correspondentes ao módulo de armazenamento (E') nas temperaturas inicial e final da análise, sendo 27°C e 220°C respectivamente.

Tabela 12: Módulo de armazenamento das amostras submetidas à degradação e sem degradação

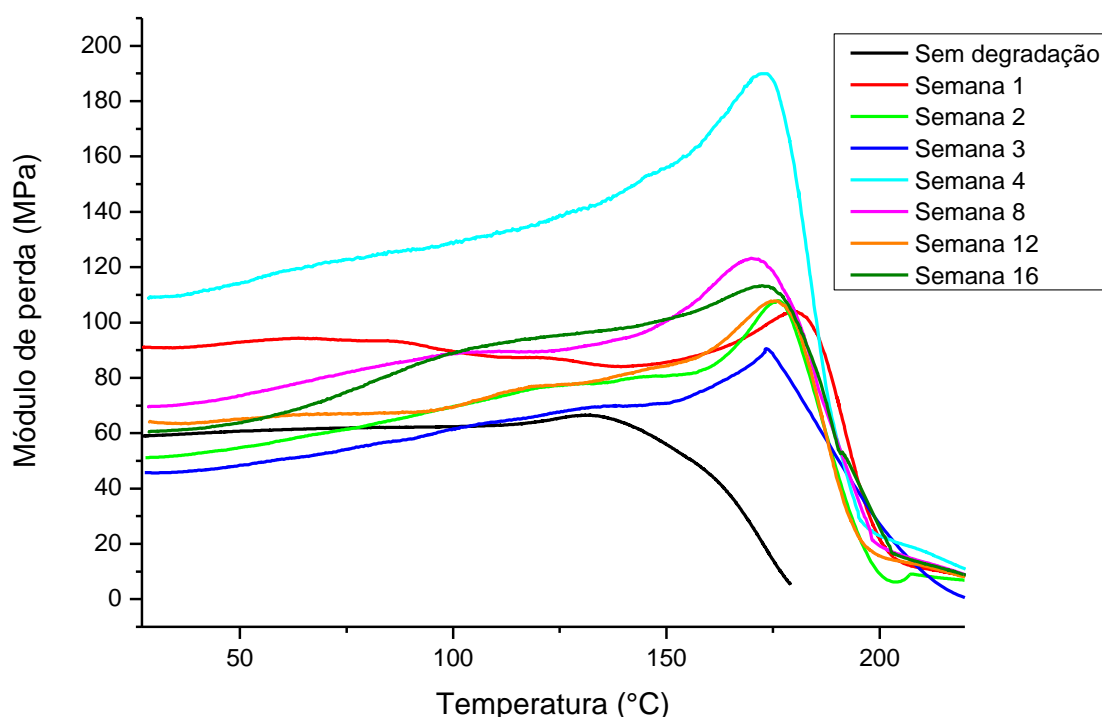
Módulo de Armazenamento		
Tempo de degradação	Módulo elástico (E') (MPa) a 27 °C	Módulo elástico (E') (MPa) a 220 °C
Sem degradação	1244,60	46,09
Semana 1	1404,96	29,83
Semana 2	1312,23	36,11
Semana 3	1193,57	24,73
Semana 4	2521,87	71,77
Semana 8	1726,84	55,61
Semana 12	1437,38	47,58
Semana 16	1795,51	49,50

Fonte: A autora

Assim como na análise de tensão/deformação, não foi possível estabelecer um padrão de comportamento em relação ao tempo de degradação, o que sugere que a degradação não interferiu em tais resultados e que as variações devem-se apenas à heterogeneidade das amostras.

Os valores do módulo de armazenamento variam de 1193,57 a 2521,87 MPa para a temperatura de 27°C e de 24,73 a 71,77 MPa para a temperatura de 220°C, sendo as variações proporcionais entre as duas temperaturas analisadas.

O módulo de perda corresponde à resposta viscosa do material, sendo que quanto maior é o módulo de perda do material, maior é sua capacidade de dissipação de energia mecânica. O mesmo pode ser observado na Figura 36.

Figura 36: Módulo de perda das amostras submetidas à degradação e sem degradação

Devido aos resultados de tensão/deformação e módulo de armazenamento, era esperado que as curvas de módulo de perda também não apresentassem um padrão referente à degradação em solução PBS, logo, o resultado ocorreu como esperado.

O módulo de perda (E'') nas temperaturas inicial (27°C) e final (220°C) da análise e o ponto máximo do mesmo estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13: Módulo de perda das amostras submetidas à degradação e sem degradação

Módulo de Perda				
Tempo de degradação	E'' (MPa) a 27 °C	E'' (MPa) a 220 °C	E'' máximo (MPa)	T (°C)
Sem degradação	58,94	5,24	66,52	131,46
Semana 1	91,10	8,87	103,81	179,43
Semana 2	51,18	6,88	107,33	175,38
Semana 3	45,73	0,60	90,54	173,37
Semana 4	108,92	10,79	189,88	172,55
Semana 8	69,65	8,80	123,11	170,21
Semana 12	64,08	8,01	107,69	176,24
Semana 16	60,53	8,68	113,11	173,21

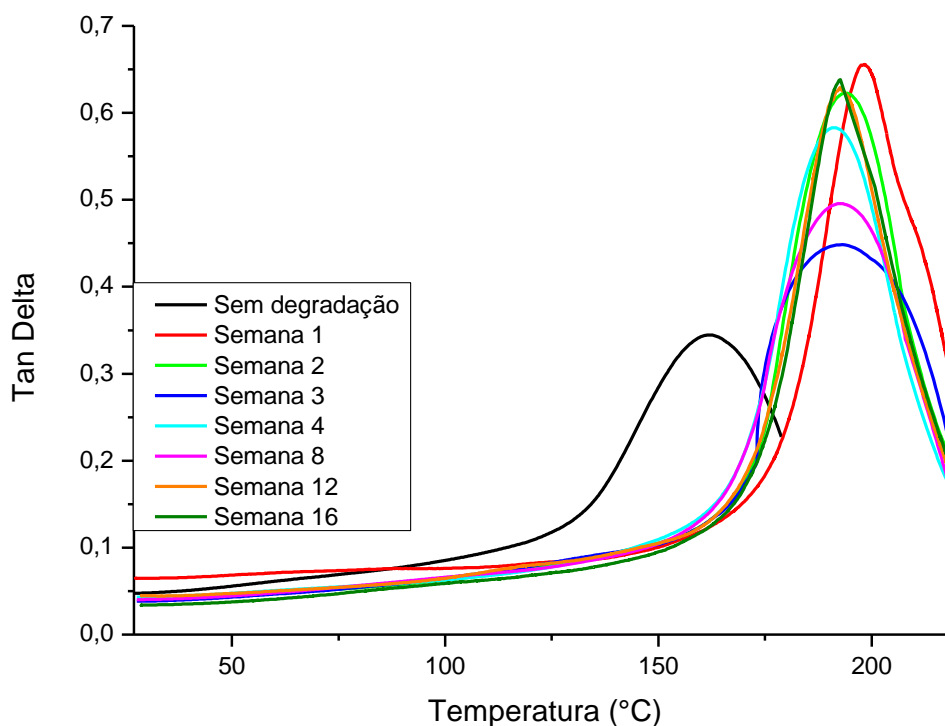
Fonte: A autora

Embora não haja um padrão, pode-se verificar que o ponto máximo do módulo de perda da amostra não degradada foi menor quando comparado às amostras submetidas à degradação, ou seja, a amostra sem degradação possui menor capacidade de dissipação de energia, o que pode ser devido à presença de lignina, que possui um alto poder calorífico.

A análise DMTA permite também a verificação de transições de segunda ordem, que estão relacionadas à relaxação de grupos laterais da cadeia polimérica, como temperatura de transição vítrea (T_g) e temperatura de fusão cristalina de polímeros semicristalinos (T_m). Essas transições podem ser definidas através dos pontos máximos do gráfico de Tan delta (CANEVAROLO, 2003).

No caso das amostras de acetato de celulose submetidas à degradação e não degradada foi identificada apenas uma transição, sendo a temperatura de transição vítrea (T_g). O gráfico está na Figura 37.

Figura 37: Tan delta das amostras submetidas à degradação e sem degradação



Através do gráfico de Tan delta é possível verificar que a amostra não submetida à degradação apresenta temperatura de transição vítrea menos do que as submetidas à

degradação, o que sugere que esta possui um menor impedimento para movimentações moleculares.

Verifica-se também, que a intensidade dos pontos máximos apresentados são maiores para as amostras submetidas à degradação, o que sugere que estas possuem uma maior quantidade de material relaxado ou em transição nas temperaturas em que possuem maior intensidade de Tan delta.

Para melhor visualização das temperaturas de transição vítrea, os dados foram organizados na Tabela 14.

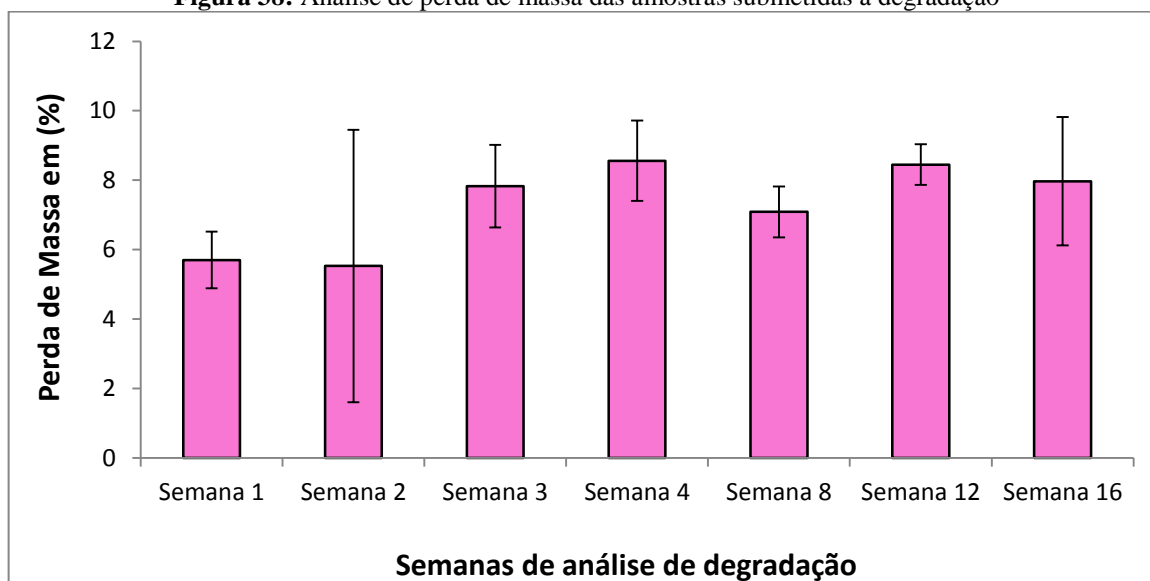
Tabela 14: Tan delta das amostras submetidas à degradação e sem degradação

Tan δ	
Tempo de degradação	Temperatura de transição Vítrea (Tg) (°C)
Sem degradação	162,17
Semana 1	198,36
Semana 2	193,57
Semana 3	193,17
Semana 4	191,03
Semana 8	192,85
Semana 12	192,56
Semana 16	192,66

Fonte: A autora

5.10.3 Análise de Perda de Massa

Como análise complementar foi verificada a perda de massa, que poderia ocorrer em caso de degradação das amostras durante o período de quatro meses. Os corpos de prova foram pesados antes e após a degradação em solução PBS e as análises foram feitas em quintuplicata. Os valores médios obtidos estão na Figura 38.

Figura 38: Análise de perda de massa das amostras submetidas à degradação

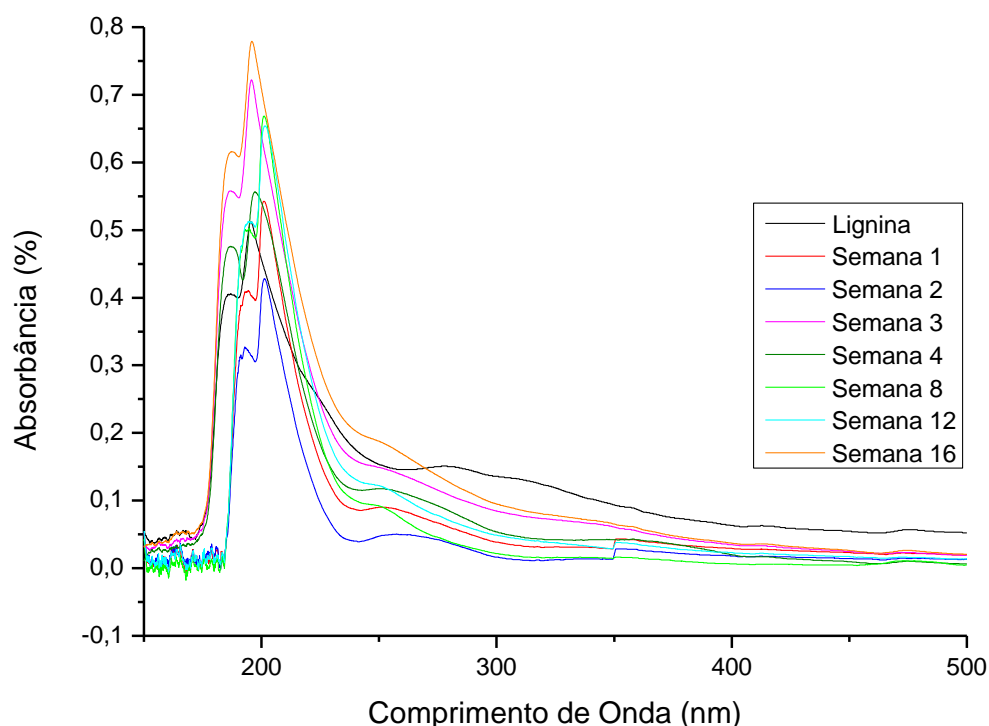
Através do gráfico pode-se verificar que houve perda de massa, entre 5,6% e 8,7%, contudo, não há uma sequência de perda de massa em relação ao tempo em que as amostras ficaram submetidas à degradação.

A partir das análises de UV-VIS das soluções PBS nas quais os corpos de prova ficaram em degradação, que será explicada a seguir, verifica-se que houve liberação de lignina mas não foi possível concluir se a perda de massa deve-se apenas à liberação de lignina ou se houve também degradação das membranas de acetato de celulose.

5.10.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS) das soluções PBS das amostras submetidas à degradação.

Tendo em vista que as análises foram feitas em quintuplicata, as curvas apresentadas tratam-se da curva média das soluções PBS das cinco amostras para cada tempo. Os espectros médios obtidos para a solução PBS em que cada amostra foi submetida à degradação estão na Figura 39.

Figura 39: UV-VIS das soluções PBS das amostras submetidas à degradação



A partir do gráfico, verifica-se que não há uma sequência lógica entre as intensidades das curvas, mas que as diferenças são devido à heterogeneidade das membranas.

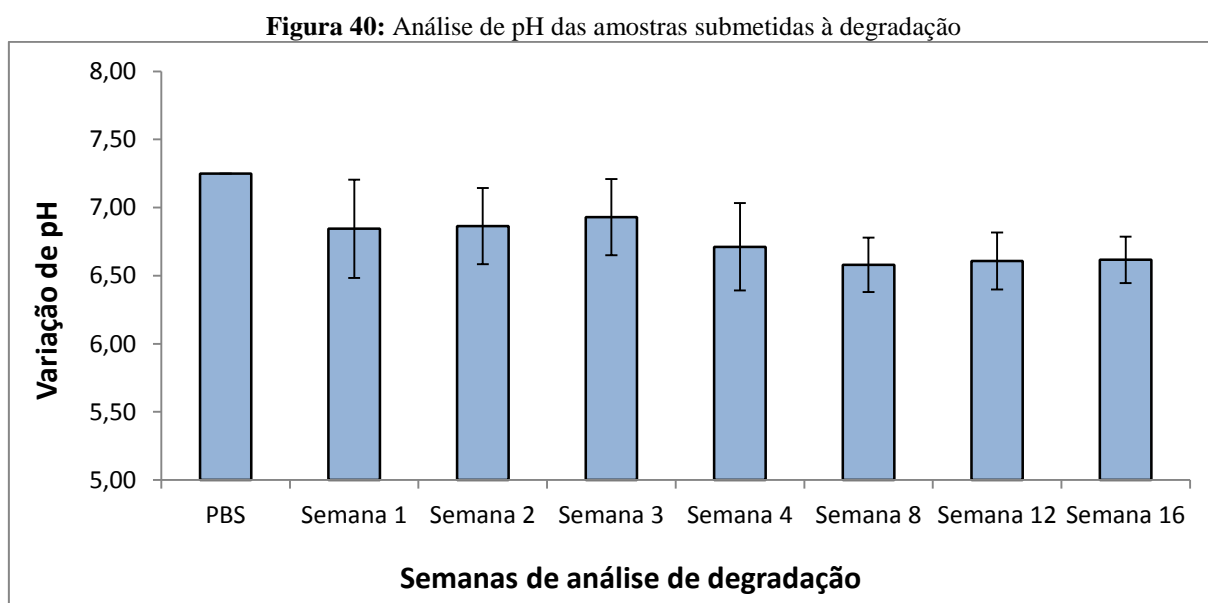
As soluções não tiveram absorção no espectro visível, apresentaram apenas três bandas na região do ultravioleta, sendo uma banda conjugada localizada em cerca de 195 nm, uma banda em cerca de 200 nm referente muito intensa quando comparada à primeira e uma banda pouco intensa por volta de 250 nm, todos grupos característicos da lignina.

De acordo com Fengel e Wegener (1984) devido à sua natureza aromática, a lignina absorve fortemente na região do ultravioleta, apresentando três bandas características, sendo por volta de 200, 230 e 280 nm. Sendo um máximo de absorção em torno de 280 nm com um ombro por volta de 230 nm, ambos característicos de grupos fenólicos não condensados da lignina, um segundo máximo entre 200 e 215 nm (FENGEL; WEGENER, 1984).

A lignina de palha de cana-de-açúcar apresentou o primeiro máximo e o ombro em 275 e 277 nm e não foi observada a banda de 200 a 215 nm, notando-se apenas um ombro nessa região (MARABEZI, 2009). Desta forma, verifica-se que as bandas presentes no espectro estão deslocadas.

5.10.5 Análise de PH das soluções

Assim como as análises de perda de massa e UV-VIS das soluções PBS, as análises de pH foram realizadas em quintuplicata. Os valores médios de pH obtidos para cada tempo estão na Figura 40.



Através do gráfico pode-se verificar que todos os pHs se mantiveram abaixo de 7,25 (pH do PBS), ficando entre 6,58 e 7,25.

Tendo em vista que cada valor inteiro de pH abaixo de sete é dez vezes mais ácido do que o próximo valor mais elevado, pode-se considerar que a variação foi significativa, ficando entre 3,2 e 6,7 vezes mais ácido do que a solução PBS sem as amostras em degradação.

Esta variação pode ser devido à liberação de grupos fenol da lignina na solução, o que foi comprovado pela análise de UV-VIS das soluções PBS.

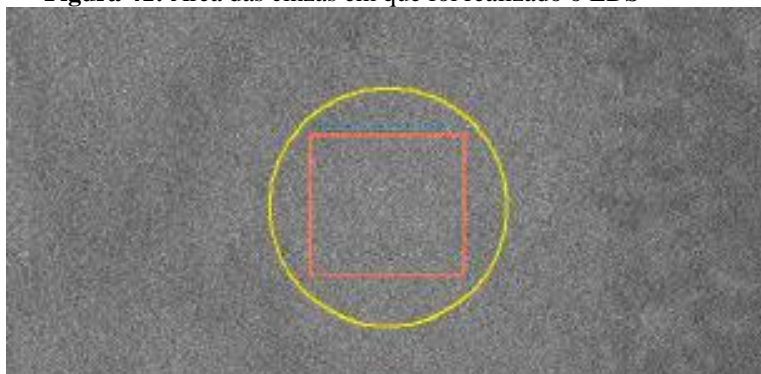
5.11 MEV/EDS para verificação de metais pesados

Com o intuito de verificar a presença de metais pesados nas fibras in natura, através das cinzas e nas membranas de 20 mesh, a partir da qual foi feita a análise de degradação in vitro e cultura celular, foram feitas análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) com Energy Dispersive System (EDS), pois esta análise permite uma verificação semiquantitativa dos elementos presentes na amostra.

5.11.1 EDS das cinzas

Para verificar a presença de metais pesados nas cinzas foi realizado um MEV com EDS, cuja imagem da área das cinzas analisada está na Figura 41.

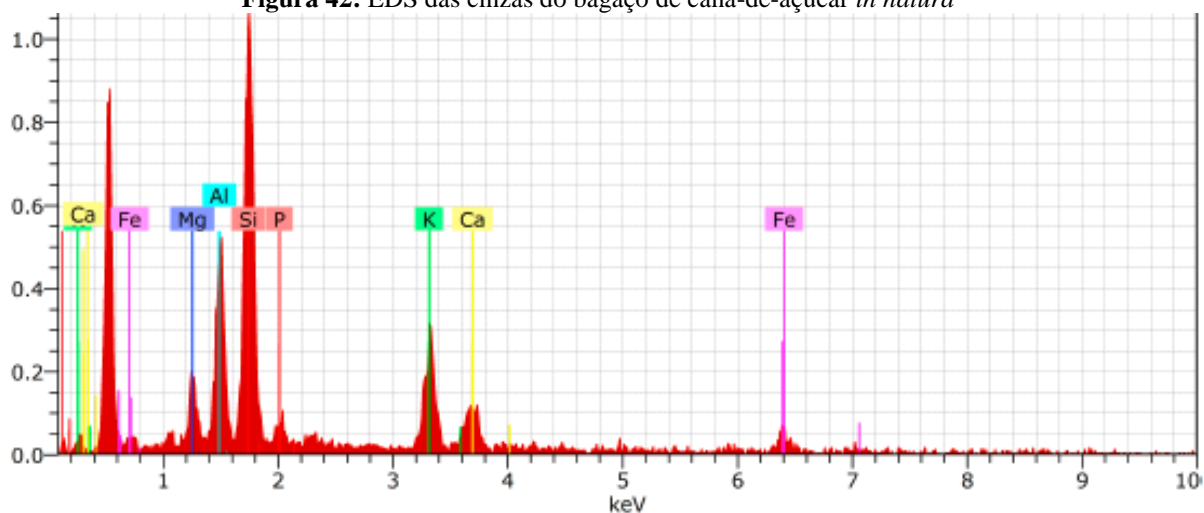
Figura 41: Área das cinzas em que foi realizado o EDS



Fonte: A autora

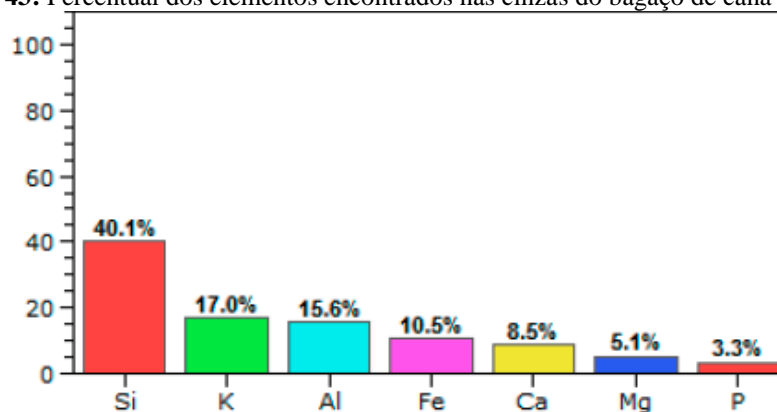
O gráfico com a distribuição semiquantitativa dos elementos presentes nas cinzas está ilustrado na Figura 42.

Figura 42: EDS das cinzas do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*



Fonte: A autora

Além do gráfico com a distribuição semiquantitativa dos elementos presentes na amostra, pode-se obter também um gráfico contendo as porcentagens encontradas para cada elemento, que pode-se observar na Figura 43.

Figura 43: Percentual dos elementos encontrados nas cinzas do bagaço de cana-de-açúcar

Fonte: A autora

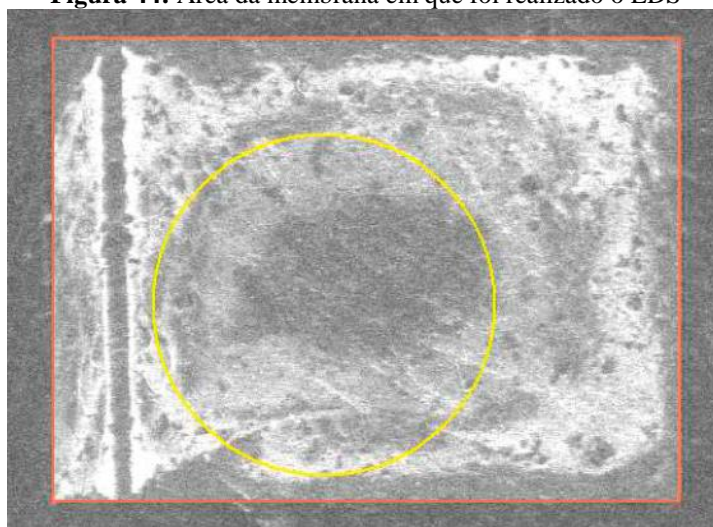
A partir desta análise, foi observado que o bagaço de cana-de-açúcar possui elementos como cálcio, ferro, magnésio, alumínio, silício, fósforo e potássio. No caso, os metais pesados encontrados foram: potássio, cálcio, ferro, magnésio, alumínio. De acordo com Fengel; Wegener (1984), as cinzas do bagaço de cana-de-açúcar possuem naturalmente os elementos cálcio, potássio, magnésio, manganês e sódio.

Desta forma, pode-se verificar que os elementos que não deveriam ser encontrados são cálcio, ferro e alumínio, que são contaminantes presentes no bagaço, seja por adubação como provavelmente é o caso do cálcio ou contaminação durante os processos de colheita, moagem, armazenamento e transporte, no caso do alumínio e do ferro.

5.11.2 EDS das membranas

A análise de EDS das membranas foi efetuada para verificar a presença de metais pesados, pois estes prejudicariam a análise de cultura celular, o que indicaria um problema a ser solucionado para aplicação das membranas como biomaterial. A imagem da área da membrana analisada está na Figura 44.

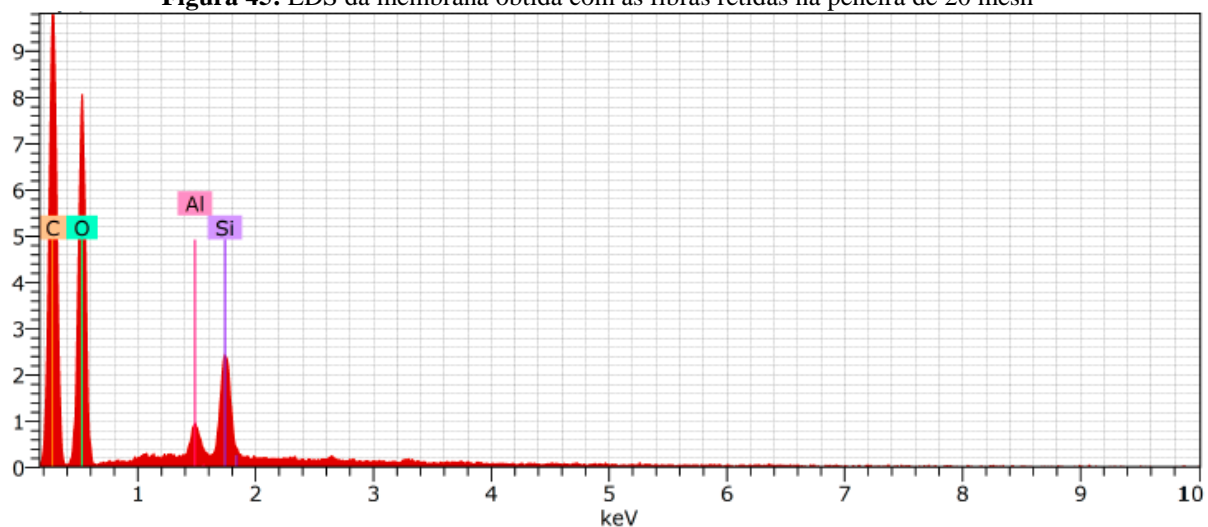
Figura 44: Área da membrana em que foi realizado o EDS



Fonte: A autora

O gráfico com a distribuição semiquantitativa dos elementos presentes nas cinzas está ilustrado na Figura 45.

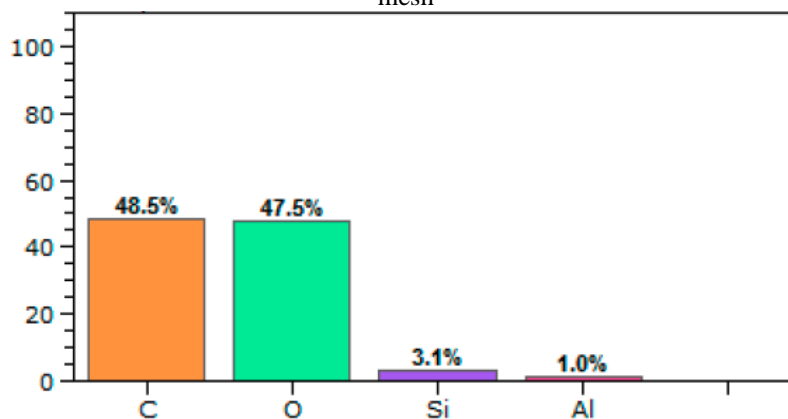
Figura 45: EDS da membrana obtida com as fibras retidas na peneira de 20 mesh



Fonte: A autora

Além do gráfico com a distribuição semiquantitativa dos elementos presentes na amostra, pode-se obter também um gráfico contendo as porcentagens encontradas para cada elemento, que pode-se observar na Figura 46.

Figura 46: Percentual dos elementos encontrados na membrana obtida com as fibras retidas na peneira de 20 mesh



Fonte: A autora

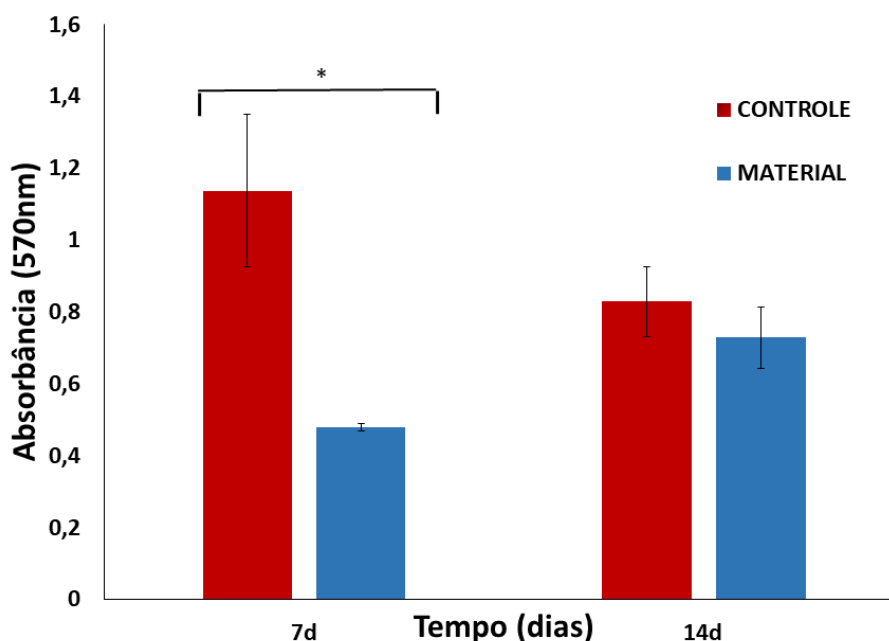
No EDS das membranas foram encontrados carbono e oxigênio em maior quantidade, pois trata-se de um material orgânico, 3,1% de silício e 1% de alumínio, valores muito inferiores aos das cinzas, o que era esperado tendo em vista que as cinzas são a porção inorgânica do bagaço. Observa-se também que não foram encontrados elementos como cálcio, ferro, magnésio, fósforo e potássio, o que indica que os pré-tratamentos feitos anteriormente à acetilação foram eficientes para a completa retirada dos mesmos.

5.12 Cultura celular

5.12.1 Ensaio de redução de tetrazólio (MTT)

A partir do ensaio de MTT foi possível efetuar a contagem de células vivas presentes nas membranas de acetato de celulose e no grupo controle, onde foram cultivadas apenas no meio de cultura. Com a análise estatística foi possível obter o gráfico de Figura 47.

Figura 47: MTT das células cultivadas em membrana obtida com as fibras retidas na peneira de 20 mesh



Análise estatística da viabilidade e crescimento celular comparando o grupo controle com material de acetato de celulose, nos tempos de 7 e 14 dias. O gráfico mostra que no tempo de 7 dias houve uma diferença significativa em que $*p < 0,05$.

De acordo com o ensaio de MTT que visa compreender não apenas a viabilidade celular por meio da medição da atividade metabólica das células (RISS, et al., 2016), mas também a proliferação e citotoxicidade do material (MOSMANN, 1983), houve uma diferença significativa, no tempo de 7 dias onde $p < 0,05$. O grupo do material, quando comparado com o controle, teve um decaimento em relação à quantidade de célula na fase inicial do experimento. No entanto, no tempo de 14 dias, verificou-se que houve um lento crescimento celular no material.

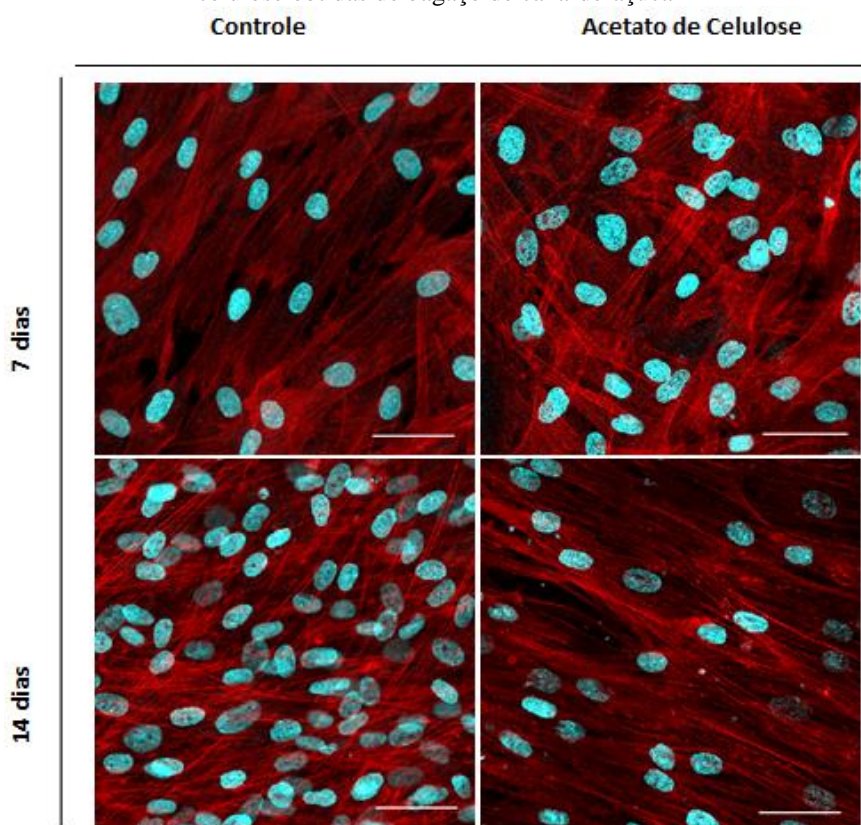
Segundo Anselme e Bigerelle (2006) as células podem apresentar diferentes tipos de comportamento sobre o material, uma delas são um pequeno declínio na quantidade celular decorrido os dias de experimento, chegando a ter uma proliferação lenta ao longo do tempo. Já o grupo controle foi observado um decaimento no tempo de 14 dias. Esse decaimento pode ser compreendido pela fase de platô, no qual, ao chegar a este estado, o mesmo entra em declínio, situação natural na curva de crescimento celular (NIH, 2016).

Contudo, apesar de não haver uma diferença estatística significativa entre o grupo do material e grupo controle nos tempos de 7 e 14 dias, é possível afirmar a biocompatibilidade do material, uma vez que, quando comparado o grupo do material de 7 e 14 dias, é viável assegurar um crescimento celular sobre o acetato de celulose.

4.12.2 Microscopia de varredura confocal

Embora a análise de redução de tetrazólio (MTT) tenha apresentado proliferação celular na cultura feita sobre as membranas de acetato de celulose, a microscopia confocal possibilita essa visualização a partir das marcações dos citoplasmas e núcleos das células, conforme Figura 48.

Figura 48: Microscopia confocal das células fibroblásticas humanas cultivadas em membranas de acetato de celulose obtidas de bagaço de cana-de-açúcar



Imagens de microscopia confocal a laser demonstrando cultura de fibroblastos humanos após 7 e 14 dias em cultivo. Em azul evidencia o núcleo marcado com DAPI enquanto que em vermelho se identifica o citosqueleto de actina pela marcação com faloidina-Alexafluor 647. Barras 50 μ m.

A partir da observação das células fibroblásticas na Figura 48, é possível evidenciar que estas estão vivas, pois a morte celular alteraria visivelmente a morfologia dos núcleos e citoplasmas das mesmas. A morte celular pode ocorrer por apoptose, necrose, autofagia e mitose catastrófica.

Além de apresentar proliferação e viabilidade celular, as amostras de acetato de celulose demonstraram que as células se alinham em razão do tempo (14 dias), provavelmente aderindo-se nas microfibrilas presentes no acetato de celulose, que podem ser

observadas através das análises de MEV e provavelmente estão presentes também nas membranas.

A partir da microscopia confocal, foi feita também a contagem das células, a fim de comparar com a análise de MTT. O gráfico está na Figura 49.

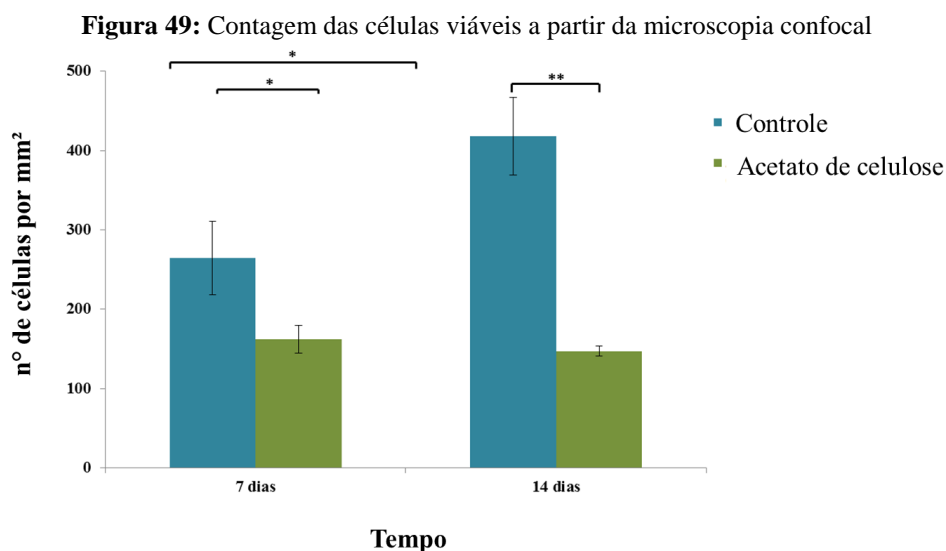


Gráfico representativo da contagem de células em membranas de acetato de celulose cultivado com células fibroblásticas e grupo controle nos tempos de 7 e 14 dias. Dados demonstram uma significância de crescimento celular quando comparado o grupo Controle com grupo material no tempo de 7 dias, Grupo controle 7 dias com o grupo controle 14 dias e grupo controle com grupo material no tempo de 14 dias, em que $*p < 0.001$; $**p < 0.0001$. A comparação do grupo material nos tempos de 7 e 14 dias não houve significância sendo $p > 0.05$.

Por meio do gráfico realizado a partir das contagens de células e do Teste T One Way Anova (corrigido pelo teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95%), tanto do material (Acetato de Celulose) quanto do controle, é possível observar um crescimento no grupo controle de 7 e 14 dias. Esse crescimento celular foi considerado significativo, uma vez que o valor de p foi $< 0,001$. Já a comparação do crescimento de células no material, nos tempos de 7 e 14 dias, não houve significância, mesmo compreendendo que o material não apresenta toxicidade para as células (KAMAL, et al., 2014). Estudos mostram que essa pequena variância no decaimento da quantidade de células após 14 dias, pode ser constatado pela confluência do número de células, o que pode ocasionar a falta de nutrientes no meio (ATILA, et al., 2015). Em contrapartida, pesquisas mostram que a viabilidade celular do acetato de celulose sem associações com outros tipos de materiais, não obtém uma densidade celular significativa quando comparado, por exemplo, com o acetato de celulose associado ao colágeno (RUBENSTEIN, et al., 2010).

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Antes de efetuar a separação granulométrica, o bagaço poderia ser desmedulado, o que facilitaria todos os processos químicos e poderia resultar em membranas com maior transparência.

Tendo em vista que foi possível preparar acetatos de celulose com diferentes graus de substituição, seria interessante analisar a influência do grupo acetila na adesão celular para análises de viabilidade celular, pois trata-se de um grupo ácido.

Para complementar as análises efetuadas e concluir se houve ou não degradação das membranas em solução PBS podem ser feitas análises de difratometria de raios-X para verificar alterações na cristalinidade das membranas, cromatografia líquida de permeação em gel para verificar se houve redução de massa molar, termogravimetria para verificar alterações composicionais por meio da degradação térmica, UV-VIS para verificar se houve alterações de transparência e ângulo de contato para avaliar alterações superficiais.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi comprovada a possibilidade de formação de membranas de AC obtidas a partir de bagaço de cana-de-açúcar, utilizando-se os processos de remoção de extrativos solúveis em água quente e em solventes orgânicos, polpação acetossolve, branqueamento com clorito de sódio e reação heterogênea de acetilação.

A granulometria interfere diretamente nos processos químicos, resultando em diferentes rendimentos e qualidade dos materiais intermediários, assim como das membranas de AC sintetizadas, além disso, os teores químicos obtidos são diferentes para cada tamanho de fibra testada.

Nas análises de viscosidade e alvura efetuadas utilizando a polpa branqueada, a amostra resultante das fibras retidas na peneira de 20 mesh demonstrou maior grau de polimerização e maior facilidade de branqueamento. Fato este, que justifica a melhor qualidade da membrana obtida, pois, possui menor quantidade de lignina residual e medulas como contaminantes, o que resulta em membranas com maior grau de transparência.

As análises efetuadas por MEV e FTIR demonstraram alterações morfológicas e químicas entre as amostras de fibras *in natura*, polpa marrom, polpa branqueada e acetato de celulose, assim, pode-se verificar que os processos químicos efetuados foram bem sucedidos, pois há claras alterações entre as bandas e imagens das amostras resultantes de cada processo.

As análises de UV-VIS das membranas demonstraram que a obtida com as fibras retidas na peneira de 20 mesh possui boa transparência, enquanto as de 35 e 60 mesh apresentaram índices inferiores, devido à presença de lignina e medulas em maior quantidade.

As análises de pH, perda de massa, DMTA e UV-VIS das soluções PBS não apresentaram um padrão em relação ao tempo de degradação das amostras, mas foi possível observar a presença de lignina residual nas membranas, que foi solubilizada na solução PBS, no entanto, não foi possível afirmar se houve ou não degradação do acetato de celulose durante o período, de forma que há necessidade de análises complementares.

As análises de EDS demonstraram que os processos foram eficientes para a retirada de metais pesados presentes no bagaço *in natura* e que a quantidade de sílica e alumínio presentes nas membranas não afetaram de maneira importante a proliferação celular, uma vez que a análise MTT da cultura celular demonstrou que houve proliferação celular.

Portanto, o bagaço de cana-de-açúcar apresenta-se como um bom material para a obtenção de AC, assim como possui possibilidade de ser aplicado como biomaterial mediante mais análises complementares.

REFERÊNCIAS

ABDEL-NABY, A. S.; AL-GHAMDI, A. A. Chemical modification of cellulose acetate by N-(phenyl amino) maleimides: Characterization and properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 68, p. 21-27, set. 2014b.

ABDEL-NABY, A. S.; AL-GHAMDI, A. A. Poly (vinyl chloride) blend with biodegradable cellulose acetate in presence of N-(phenyl amino) maleimides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 70, p. 124-130, jul. 2014a.

AGARWAL, U. P.; ATALLA, R. H. Vibrational Spectroscopy. In: HEITNER, C.; DIMMEL, D.; SCHIMIDT, J. A. (Eds.). . **Lignins and Lignans**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, p. 103–136, 2009.

ANSELME, K., BIGERELLE, M. Modelling approach in cell/material interactions studies. **Biomaterials**, v. 27, p. 1187-1199, 2006.

Associação Brasileira De Normas Técnicas NBR 14929:2017. Madeira - Determinação do teor de umidade de cavacos - Método por secagem em estufa, Rio de Janeiro, RJ, 2017.

ASTM (American Society for Testing and Materials) D871-96 (2004), Standard Test Method for Cellulose Acetate, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2004.

ASTM (American Society for Testing and Materials) D1102-84 (2013), Standard Test Method for Ash in Wood, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2013.

ASTM (American Society for Testing and Materials) D1103-60 (1977), Standard Test Method of test for alpha-cellulose in wood, ASTM International, Withdrawn, 1985.

ASTM (American Society for Testing and Materials) D1104-56 (1978), Standard Test Method of Test for Holocellulose in Wood, ASTM International, Withdrawn, 1985.

ASTM (American Society for Testing and Materials) D1106-96 (2013), Standard Test Method for Acid-Insoluble Lignin in Wood, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2013.

ASTM (American Society for Testing and Materials) D1110-84 (2013), Standard Test Methods for Water Solubility of Wood, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2013.

ATILA, D., KESKIN, D., TEZCANER, A. Cellulose acetate based 3-dimensional electrospun scaffolds for skin tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 251-261, 2015.

BOTARO. V. R. Análise e caracterização por métodos físico-químicos da lignina de bagaço de cana-de-açúcar obtida pelo processo acetossolve. Dissertação (Mestrado em Ciências – Físico-química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 1992.

BOTARO. V. R. Deslignificação organossolve de bagaço de cana-de-açúcar: fracionamento e benzilação das ligninas obtidas. Tese (Doutorado em Ciências – Físico-química) – Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 1996.

CALLISTER, W. D. Jr. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. Rio de Janeiro: LTC, 2008, 707 p. ISBN 978-85-216-1595-8.

CANDIDO, R. G. **Utilização da celulose de resíduos lignocelulósicos para obtenção de produtos de alto valor agregado**. Dissertação (Mestrado em Ciências – Biotecnologia industrial na área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, Brasil, 2011.

CANDIDO, R. G. **Produção de membranas a partir do bagaço de cana-de-açúcar e sua utilização na detoxificação do hidrolisado hemicelulósico**. Tese (Doutorado em Ciências – Biotecnologia industrial na área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, Brasil, 2015.

CANEVAROLO Jr., S. V. **Técnicas de Caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber Editora, 2003.

CANEVAROLO Jr., S. V. **Ciência dos polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 3ª edição. São Paulo: Artliber Editora, 2013.

CANILHA et al. Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar in natura, extraído com etanol ou ciclohexano/etanol. **Anais do Congresso Brasileiro de Química**, 17 a 21 de set. de 2007. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/11/11-570-713.htm>

CARASCHI, J. C.; FILHO, S. P. C.; CURVELO, A. A. S. Preparação e caracterização de polpas para dissolução obtidas a partir de bagaço de cana-de-açúcar. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, jul/set de 1996.

CARVALHO, L. C. **Obtenção de acetato de celulose proveniente do bagaço de cana-de-açúcar e avaliação da sua aplicação em Sistemas de Difusão Controlada**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 2009.

CERQUEIRA, D. A.; Rodrigues Filho, G.; Meireles, C. S. **Carbohydrate. Polymers**, v. 69, p. 579-582, 2007.

CERQUEIRA, D. A. et al. ¹H-NMR characterization of cellulose acetate obtained from sugarcane bagasse. **Polímeros**, v. 20, nº. 2, p. 85-91, jun. 2010.

CÉSAR, N. R. Nanocompósito de acetato de celulose reforçado com whiskers extraídos da macrófita *Typha Domingensis*. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais) – Programa de Pós graduação em Ciências dos Materiais. Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, Brasil, 2013.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**, v. 4 – safra 2017/18, n.4, abril de 2018. ISSN: 2318-7921. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 18 de julho de 2018.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **A geração termoelétrica com a queima do bagaço de cana-de-açúcar** – safra 2009/10, março de 2011. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/agroenergia/arquivos-termoeletrica-com-a-queima-do-bagaco-de-cana-de-acucar/termoeletrica-com-a-queima-do-bagaco-de-cana-de-acucar-no-brasil-safra-2009-2010.pdf>. Acesso em 18 de julho de 2018.

CONILHA, et al. Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar in natura, extraído com etanol ou ciclohexano/etanol. **Associação Brasileira de Química**, 2007. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/11/11-570-713.htm>.

CRUZ, A. C. et al. Utilization of cellulose acetate produced from mango seed cellulose as matrix for production of microparticles systems. **Química Nova**, v. 34, nº. 3, p. 385-389, 2011.

CRUZ, A.S.; CUPPOLONI, K.M.; MARTINEZ, C.H.O.; GOMES, L.F.S. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 47, n. 1/2, p. 51-57, 1987.

FORATO, L. A. et al. **A Espectroscopia na região do infravermelho e algumas aplicações**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, out., 2010.

FREITAS, R. R. M. Estudo das propriedades dinâmico-mecânicas e de biodegradação de acetatos de celulose com diferentes graus de substituição. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais) – Programa de Pós graduação em Ciências dos Materiais. Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, Brasil, 2016.

DENCE, C.; REEVE, D. **Pulp Bleaching: principles and practice**. Atlanta: TAPPI Press, 1996, p. 27-57.

DE PAOLI, M. A. **Degradação e estabilização de polímeros**. 2ª edição. 2008.

DUARTE, L. C.. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no Estudo de Gemas: exemplos brasileiros. Instituto de Geociências, UFRGS Porto Alegre, RS – Brasil, 2003.

EDGAR, K. J.; PECORINI, T. J.; GLASSER, W. G. Long-chain cellulose esters: preparation, properties, and perspective. **ACS Symposium Series**. Ser. v. 688, p. 38, 1998.

FAN, G. et al. Amberlyst 15 as a new and reusable catalyst for the conversion of cellulose into cellulose acetate. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 203-209, 2014.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood, chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1984.

FONTANETTI, Carmem Silvia; BUENO, Odair Correa (organizadores). **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. Bauru, SP: Canal 6, 2017.

GERON, L.J.V. et al. Composição química, valor de pH e temperatura do bagaço de cana-de-açúcar in natura e hidrolisado com cal (CaO) conservados em mini silos. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.8, n.1, p.57- 68, 2010.

GHAREEB, H. O.; RADKE, W. Characterization of cellulose acetates according to DS and molar mass using two-dimensional chromatography. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n°. 2, p. 1430-1437, 6 nov. 2013.

GOUVEIA et al. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, vol. 32, n°. 6, 1500-1503, 2009.

GUALANDI C. B. et al. Poly-l-Lactic Acid Nanofiber-Polyamidoamine Hydrogel Composites: Preparation, Properties, and Preliminary Evaluation as Scaffolds for Human Pluripotent Stem Cell Culturing. **Macromol Biosci**. 2016 Jun 10.

INSTITUTO CUBANO DE INVESTIGACIONES DE LOS DERIVADOS DE LA CAÑA DE AZUCAR (ICIDCA). **Manual de los derivados de la caña de azucar**. México: Ceplacea, 447 p, 1990.

ISO (International Organization for Standardization) ISO 5351-1:1981. Cellulose in dilute solutions: determination of limiting viscosity number. Part 1: Method in cupriethylene-diamine (CED) solution. Genève, 1981.

JIMÉNEZ, L.;DE LA TORRE, J, M.;BONILLA, J. I.;FERRER, J. L., Organosolv pulping of wheat straw by use of acetone-water mixtures. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 401-408, 1998.

JUNQUEIRA, L. C. e CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11^a edição, Rio de Janeiro, editora Guanabara Koogan, 2008.

KAMAL, H., ABD-ELRAHIM, F. M., LOTFY, S. Characterization and Some Properties of Cellulose Acetate-co-polyethylene Oxide Blends Prepared by the Use of Gamma Irradiation. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**. 7 (2), 146-153, 2014.

KONO, H. et al. NMR characterization of cellulose acetate: Chemical shift assignments, substituent effects and chemical shift additivity. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, n°. 2, p. 91-100,15 mar.. 2015.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P.; BOHN, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 44, n.22, p. 3358 – 3393, 2005.

KLEMM, D.; PHIPIP, B.; HEINZE, U.; WAGENKNECHT, W. **Comprehensive Cellulose Chemistry: fundamentals and analytical methods**. Weinheim: Wiley-VCH, v. 1, 1998.

KLOCK, U. et al. Apostila Química da Madeira. 3ª edição revisada. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

LIN, S.; DENCE, C. **Methods in Lignin Chemistry**. 1. ed. Berlin, Alemanha: Springer-Verlag, 1992.

LIU, C. F.; SUN, R. C. Cereal straw as a resource for sustainable biomaterials and biofuels – chemistry, extractives, lignins, hemicelluloses and cellulose. **Elsevier**, p. 138-146, 2010.

LIU, Z. et al. Preparation and characterization of regenerated cellulose from ionic liquid using different methods. **Carbohydrate Polimers**, v. 117, p. 99-105, 2015.

MACHADO, Fúlvio de Barros Pinheiro. **Brasil, a doce terra – História do setor**, 2003. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/historia_da_cana_000fhc62u4b02wyiv80efhb2attuk4ec.pdf. Acesso em 18 de julho de 2018.

MARABEZI, K. Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar. Dissertação (Mestrado em Ciências – Físico-química) – Programa de Pós-graduação em Química. Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil, 2009.

MEIRELES, C. S. Síntese e caracterização de membranas de acetato de celulose, obtido do bagaço de cana-de-açúcar, e blendas de acetato de celulose com poliestireno de copos plásticos descartados. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em química. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil. 2007.

MILLÁN, F. **Metodos Espectroscopícos UV Visible para Análisis Molecular y Elemental**. 2016. DOI: 10.13140/RG.2.2.16927.15528.

MORGADO, D. L. et al. Agregation of chains of cellulose acetates in LiCl/DMAc: evaluation via viscometry. **Polímeros**, v. 21, n°. 2, p. 142-145, 2011.

MORIYA, R. Y. Uso de xilanases e lacases de microrganismos no branqueamento de polpas organossolv de palha de cana-de-açúcar e estudo dos derivados celulósicos obtidos. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Universidade de São Paulo, Lorena, Brasil, 2007.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, 65, 55-63, 1983.

MURARIU M, DUBOIS P. PLA composites: From production to properties. **Adv Drug Deliv Rev.** 2016 Apr 13. pii: S0169-409X(16)30102-8.

MUURINEN, E. Organossolv pulping: A review and distillation study related to peroxyacid pulping. Dissertation (for public discussion) –Universidade de Oulu, Finlândia, 2000.

NAVARRO, F. Cellulose Nanocrystals: size characterization and controlled deposition by inkjet printing. Dissertation (Doctor of Philosophy in Macromolecular Science and Engineering) – faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA, 2010. Citado por SOUZA, V. C. Nanocristais de celulose como fase de reforço para filmes de quitosana: obtenção, caracterização e aplicação. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 2015.

NBR 14079:1998 – Pasta celulósica – Determinação da viscosidade intrínseca em solução de cuproetilenodiamina com viscosímetro tipo capilar, 1998.

NIH. Stem Cell Information Home Page. In *Stem Cell Information*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2016 , disponível em: [//stemcells.nih.gov/research/nihresearch/scunit/growthcurves.htm](http://stemcells.nih.gov/research/nihresearch/scunit/growthcurves.htm). Acesso em 7 de fevereiro de 2019.

NIMZ, H. Beech lignina – proposal of a constitutional scheme. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 13, n. 5, p 313 – 321, 1974.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, V. A. et al. Produção e degradação *in vitro* de estruturas tubulares de celulose bacteriana. **Polímeros**, vol. 23, n. 4, p. 559-564, 2013.

O' SULLIVAN, A. C. Cellulose: the structure slowly unravels. **Cellulose**, v.4,n. 3, p. 173-207, 1997.

PATURAU, J. M. By-products of the cane sugar industry. An introduction to their industrial utilization. Amsterdam: **Elsevier Science Publishers B.** v., 1989.

PIRES, A. L. R. et al. Biomateriais, tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, vol. 38, nº7, pg. 957-971, 2015.

RANBY, B. G. The colloidal properties of cellulose micelles, *Discussions of the Faraday Society*, 11, 158-164, 1951. Citado por SOUZA, V. C. Nanocristais de cellulose como fase de reforço para filmes de quitosana: obtenção, caracterização e aplicação. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 2015.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine**. London: Academic Press, 1996.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHCHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REED, S. J. B. *Electron Microprobe Analysis and Scanning Electron Microscopy in Geology*, New York, **Cambridge University Press**, 1996.

REVISTA PESQUISA FAPESP. **Propriedades do bagaço de cana-de-açúcar**. Edição 30 de abril de 1998, disponível em <http://revistapesquisa.fapesp.br/1998/04/01/propriedades-do-bagaco-da-cana-de-acucar/>, acesso em 05 de setembro de 2018.

RISS, T. L., MORAVEC, R. A., NILES, A. L., DUELLMAN, S., BENINK, H. A., WORZELLA, T. J., MINOR, L. **Cell Viability Assays. Assay Guidance Manual**, p. 358-359, 2016.

RODRIGUES FILHO, G. et al. Synthesis and characterization of cellulose acetate produced from recycled newspaper. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, p. 74-82, 2008.

RODRIGUES, L. N. Espectroscopia por FTIR de variedades híbridas de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratados para produção de etanol celulósico. Dissertação (mestrado em Física) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brasil, 2012.

ROGERO, S.O.; HIGA, O.Z.; SAIKI, M.; CORREA, O.V.; COSTA, I. **Toxicology in Vitro**, v. 14, n. 6, p. 497-504, 2000.

RUBENSTEIN, D. A., VENKITACHALAM, S. M., ZAMFIR, D., WANG, F., LU, H., FRAME, M. D., YIN, W. In Vitro Biocompatibility of Sheath-Core Cellulose-Acetate- Based Electrospun Scaffolds Towards Endothelial Cells and Platelets. **Journal of Biomaterials Science**, Polymer Edition, 21 (3), p. 1713-1736, 2010.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; MORAIS, S. A. L.; PILÓ-VELOSO, D. Ligninas – métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 917-928, 2001.

SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H. de; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; RESENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v. 35, n°5, p. 1004-1010, 2012.

SANTOS, L.A., et al. Influence of polymeric additives on the mechanical properties of atricalcium phosphate cement. **Bone**, v. 25; p. 99-102, 1999.

SARKANEN, K. V. Chemistry of solvent pulping. **Tappi Journal**, v. 73, p. 215-219, 1990.

SASSI, J. F.; SHANZY, H. Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose. **Cellulose**, v. 2, p. 111-127, 1995.

SCAN Standard C15:62, Viscosity of cellulose in cupriethylenediamine solution (CED). Scandinavian pulp, paper and board. Estocolmo, 1962.

SCHRADER, B. **Infrared and Raman Spectroscopy - Methods and Applications**. New York: VCH Publishers, 1995.

SILVA, A. R. et al. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, p. 661-671, 2009.

SILVA, D. J. e D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. **O Papel**, v. 70, n. 7, p. 34-52, jul de 2009.

SILVA, V. L. Aproveitamento sustentável do bagaço de cana-de-açúcar para obtenção do acetato de celulose. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil, 2014.

SJÖSTRÖM, E. Wood Chemistry fundamentals and Applications. 2 ed. New York: Orlando AcademicPress, 1993.

SMART SK, CASSADY AI, LU GQ, MARTIN DJ. The biocompatibility of carbon nanotubos. Carbon 44 1034-1047.2006.

SOUZA, E. E. Síntese e Caracterização de membranas de celulose regenerada a partir da celulose extraída do bagaço de cana-de-açúcar para produção de cuprofane. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil, 2009.

TAPPI (Technical Association of Pulp and Paper Industry) Standard Method T204 cm-97 – Tappi Test Methods, 2007.

TAPPI (Technical Association of Pulp and Paper Industry) Standard Method T230 om-08: viscosity of pulp: capillary viscometer method. Atlanta, 2008.

TAPPI (Technical Association of Pulp and Paper Industry). T 452 om-08: brightness of pulp, paper and paperboard: directional reflectance at 457 nm. Atlanta, 2008.

WILLIAMS, D.F. **Dictionary of biomaterial**. Liverpool: Liverpool university press, p. 42, 1999.

ANEXO

ANEXO A: Tabela da norma NBR 14079:1998 - $[\eta] \times C$ para diferentes valores de viscosidade relativa $\frac{\eta}{\eta_0}$.

$\frac{\eta}{\eta_0} \backslash [\eta].c$	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,1	0,097	0,107	0,116	0,125	0,134	0,144	0,153	0,162	0,171	0,180
1,2	0,189	0,198	0,207	0,216	0,224	0,233	0,242	0,250	0,259	0,268
1,3	0,276	0,285	0,293	0,302	0,310	0,318	0,326	0,335	0,343	0,351
1,4	0,359	0,367	0,375	0,383	0,391	0,399	0,407	0,415	0,423	0,431
1,5	0,438	0,446	0,454	0,462	0,469	0,477	0,484	0,492	0,499	0,507
1,6	0,514	0,522	0,529	0,537	0,544	0,551	0,558	0,566	0,573	0,580
1,7	0,587	0,594	0,601	0,608	0,616	0,623	0,629	0,636	0,643	0,650
1,8	0,657	0,664	0,671	0,678	0,684	0,691	0,698	0,705	0,711	0,718
1,9	0,725	0,731	0,738	0,744	0,751	0,757	0,764	0,770	0,777	0,783
2,0	0,790	0,796	0,802	0,809	0,815	0,821	0,827	0,834	0,840	0,846
2,1	0,852	0,858	0,865	0,871	0,877	0,883	0,889	0,895	0,901	0,907
2,2	0,913	0,919	0,925	0,931	0,937	0,943	0,949	0,954	0,960	0,966
2,3	0,972	0,978	0,983	0,989	0,995	1,001	1,006	1,012	1,018	1,023
2,4	1,029	1,035	1,040	1,046	1,051	1,057	1,062	1,068	1,073	1,079
2,5	1,084	1,090	1,095	1,101	1,106	1,111	1,117	1,122	1,127	1,133
2,6	1,138	1,143	1,149	1,154	1,159	1,164	1,170	1,175	1,180	1,185
2,7	1,190	1,196	1,201	1,206	1,211	1,216	1,221	1,226	1,231	1,236
2,8	1,241	1,246	1,251	1,256	1,261	1,266	1,271	1,276	1,281	1,286
2,9	1,291	1,296	1,301	1,306	1,310	1,315	1,320	1,325	1,330	1,335
3,0	1,339	1,344	1,349	1,354	1,358	1,363	1,368	1,373	1,377	1,382
3,1	1,387	1,391	1,396	1,401	1,405	1,410	1,414	1,419	1,424	1,428
3,2	1,433	1,437	1,442	1,446	1,451	1,455	1,460	1,464	1,469	1,473
3,3	1,478	1,482	1,487	1,491	1,496	1,500	1,504	1,509	1,513	1,517
3,4	1,522	1,526	1,531	1,535	1,539	1,544	1,548	1,552	1,556	1,561
3,5	1,565	1,569	1,573	1,578	1,582	1,586	1,590	1,595	1,599	1,603
3,6	1,607	1,611	1,615	1,620	1,624	1,628	1,632	1,636	1,640	1,644
3,7	1,648	1,653	1,657	1,661	1,665	1,669	1,673	1,677	1,681	1,685
3,8	1,689	1,693	1,697	1,701	1,705	1,709	1,713	1,717	1,721	1,725
3,9	1,729	1,732	1,736	1,740	1,744	1,748	1,752	1,756	1,760	1,764
4,0	1,767	1,771	1,775	1,779	1,783	1,787	1,790	1,794	1,798	1,802

$\frac{\eta}{\eta_0}$	[η].c									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
4,1	1,806	1,809	1,813	1,817	1,821	1,824	1,828	1,832	1,836	1,839
4,2	1,843	1,847	1,851	1,854	1,858	1,862	1,865	1,869	1,873	1,876
4,3	1,880	1,884	1,887	1,891	1,894	1,898	1,902	1,905	1,909	1,912
4,4	1,916	1,920	1,923	1,927	1,930	1,934	1,937	1,941	1,944	1,948
4,5	1,952	1,955	1,959	1,962	1,966	1,969	1,973	1,976	1,979	1,983
4,6	1,986	1,990	1,993	1,997	2,000	2,004	2,007	2,011	2,014	2,017
4,7	2,021	2,024	2,028	2,031	2,034	2,038	2,041	2,044	2,048	2,051
4,8	2,055	2,058	2,061	2,065	2,068	2,071	2,074	2,078	2,081	2,084
4,9	2,088	2,091	2,094	2,098	2,101	2,104	2,107	2,111	2,114	2,117
5,0	2,120	2,124	2,127	2,130	2,133	2,137	2,140	2,143	2,146	2,149
5,1	2,153	2,156	2,159	2,162	2,165	2,168	2,172	2,175	2,178	2,181
5,2	2,184	2,187	2,191	2,194	2,197	2,200	2,203	2,206	2,209	2,212
5,3	2,215	2,219	2,222	2,225	2,228	2,231	2,234	2,237	2,240	2,243
5,4	2,246	2,249	2,252	2,255	2,258	2,261	2,264	2,267	2,270	2,273
5,5	2,277	2,280	2,283	2,286	2,289	2,291	2,294	2,297	2,300	2,303
5,6	2,306	2,309	2,312	2,315	2,318	2,321	2,324	2,327	2,330	2,333
5,7	2,336	2,339	2,342	2,345	2,347	2,350	2,353	2,356	2,359	2,362
5,8	2,365	2,368	2,371	2,374	2,376	2,379	2,382	2,385	2,388	2,391
5,9	2,394	2,396	2,399	2,402	2,405	2,408	2,411	2,413	2,416	2,419
6,0	2,422	2,425	2,427	2,403	2,433	2,436	2,439	2,441	2,444	2,447
6,1	2,450	2,452	2,455	2,458	2,461	2,463	2,466	2,469	2,472	2,474
6,2	2,477	2,480	2,483	2,485	2,488	2,491	2,494	2,496	2,499	2,502
6,3	2,504	2,507	2,510	2,512	2,515	2,518	2,521	2,523	2,526	2,529
6,4	2,531	2,534	2,537	2,539	2,542	2,545	2,547	2,550	2,562	2,555
6,5	2,558	2,560	2,563	2,566	2,568	2,571	2,573	2,576	2,579	2,581
6,6	2,584	2,587	2,589	2,592	2,594	2,597	2,599	2,602	2,605	2,607
6,7	2,610	2,612	2,615	2,617	2,620	2,623	2,625	2,628	2,630	2,633
6,8	2,635	2,638	2,640	2,643	2,645	2,648	2,651	2,653	2,656	2,658
6,9	2,661	2,663	2,666	2,668	2,671	2,673	2,676	2,678	2,681	2,683
7,0	2,686	2,688	2,690	2,693	2,695	2,698	2,700	2,703	2,705	2,708
7,1	2,710	2,713	2,715	2,718	2,720	2,722	2,725	2,727	2,730	2,732
7,2	2,735	2,737	2,739	2,742	2,744	2,747	2,749	2,752	2,754	2,756
7,3	2,759	2,761	2,764	2,766	2,768	2,771	2,773	2,775	2,778	2,780
7,4	2,783	2,785	2,787	2,790	2,792	2,794	2,797	2,799	2,801	2,804
7,5	2,806	2,809	2,811	2,813	2,816	2,818	2,820	2,823	2,825	2,827
7,6	2,829	2,832	2,834	2,836	2,839	2,841	2,843	2,846	2,848	2,850
7,7	2,853	2,855	2,857	2,859	2,862	2,864	2,866	2,869	2,871	2,873
7,8	2,875	2,878	2,880	2,882	2,885	2,887	2,889	2,891	2,894	2,896
7,9	2,898	2,900	2,903	2,905	2,907	2,909	2,911	2,914	2,916	2,918
8,0	2,920	2,923	2,925	2,927	2,929	2,932	2,934	2,936	2,938	2,940

$\frac{\tau}{\eta_0}$	[η].c									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
8,1	2,943	2,945	2,947	2,949	2,951	2,954	2,956	2,958	2,960	2,962
8,2	2,964	2,967	2,969	2,971	2,973	2,975	2,978	2,980	2,982	2,984
8,3	2,986	2,988	2,991	2,993	2,995	2,997	2,999	3,001	3,003	3,006
8,4	3,008	3,010	3,012	3,014	3,016	3,018	3,020	3,023	3,025	3,027
8,5	3,029	3,031	3,033	3,035	3,037	3,040	3,042	3,044	3,046	3,048
8,6	3,050	3,052	3,054	3,056	3,058	3,061	3,063	3,065	3,067	3,069
8,7	3,071	3,073	3,075	3,077	3,079	3,081	3,083	3,085	3,087	3,090
8,8	3,092	3,094	3,096	3,098	3,100	3,102	3,104	3,106	3,108	3,110
8,9	3,112	3,114	3,116	3,118	3,120	3,122	3,124	3,126	3,128	3,130
9,0	3,132	3,134	3,136	3,138	3,140	3,142	3,144	3,147	3,149	3,151
9,1	3,153	3,155	3,157	3,159	3,161	3,163	3,165	3,166	3,168	3,170
9,2	3,172	3,174	3,176	3,178	3,180	3,182	3,184	3,186	3,188	3,190
9,3	3,192	3,194	3,196	3,198	3,200	3,202	3,204	3,206	3,208	3,210
9,4	3,212	3,214	3,216	3,218	3,220	3,222	3,223	3,225	3,227	3,229
9,5	3,231	3,233	3,235	3,237	3,239	3,241	3,243	3,245	3,247	3,249
9,6	3,250	3,252	3,254	3,256	3,258	3,260	3,262	3,264	3,266	3,268
9,7	3,270	3,271	3,273	3,275	3,277	3,279	3,281	3,283	3,285	3,287
9,8	3,288	3,290	3,292	3,294	3,296	3,298	3,300	3,302	3,303	3,305
9,9	3,307	3,309	3,311	3,313	3,315	3,316	3,318	3,320	3,322	3,324
10,0	3,326	3,344	3,363	3,381	3,399	3,416	3,434	3,452	3,469	3,487
11,0	3,504	3,521	3,538	3,554	3,571	3,588	3,604	3,620	3,636	3,653
12,0	3,669	3,684	3,700	3,716	3,731	3,747	3,762	3,777	3,792	3,807
13,0	3,822	3,837	3,852	3,866	3,881	3,895	3,910	3,924	3,938	3,952
14,0	3,966	3,980	3,994	4,008	4,021	4,035	4,048	4,062	4,075	4,088
15,0	4,101	4,115	4,128	4,141	4,153	4,166	4,179	4,192	4,204	4,217
16,0	4,229	4,242	4,254	4,266	4,279	4,291	4,303	4,315	4,327	4,339
17,0	4,351	4,362	4,374	4,386	4,397	4,409	4,420	4,432	4,443	4,455
18,0	4,466	4,477	4,488	4,499	4,510	4,521	4,532	4,543	4,554	4,565
19,0	4,576	4,586	4,597	4,608	4,618	4,629	4,639	4,650	4,660	4,670