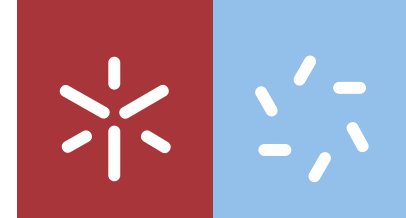




Jiullie Delany Bastos Monteiro

Extração de celulose com vista à produção de compostos antimicrobianos: síntese, caracterização e aplicações

Universidade do Minho
Escola de Ciências





Universidade do Minho

Escola de Ciências

Jiullie Delany Bastos Monteiro

**Extração de celulose com vista à produção
de compostos antimicrobianos: síntese,
caracterização e aplicações**

Dissertação de Mestrado
Biofísica e Bionanossistemas

Trabalho efetuado sob a orientação de

**Professora Doutora Andreia Ferreira Castro Gomes e
Mestre Catarina Dias Costa**

Junho de 2022

Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos. Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do Repositório UM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição
CC BY

Agradecimentos

Aprender é sobretudo saber pensar, para além da lógica retilínea e evidente, porque nem o conhecimento é reto, nem a vida é caminho linear (Norretranders, 1998). Como dito por Habermas (1988) “entre teoria e prática há o mundo da vida”, nesse sentido deixo aqui um agradecimento a todas as pessoas que direta e indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento científico e pessoal.

À minha família, pelo suporte, carinho e amor sempre; aos amigos pela motivação.

À minha Mãe Marcilene e aos meus companheiros de vida Élida e Pedro por toda a compreensão, paciência, carinho, apoio e incentivo, vocês foram essenciais para a superação das adversidades;

Às minhas orientadoras pela contribuição sem a qual este trabalho não teria sido possível.

À Catarina Dias Costa e ao Nuno Azoia, por todo acompanhamento, disponibilidade, ensinamentos, paciência e compreensão.

À Professora Andreia Gomes e ao Mário Fernandes pela disponibilidade, acolhida e partilha de conhecimentos.

Ao Centro de Nanotecnologia e Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes (CeNTI), pela recção e oportunidade; E a todos os seus colaboradores e pesquisadores pelo acolhimento.

À Universidade do Minho, ao departamento de biologia, ao Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA) e ao Instituto de Ciência e Inovação para a Bio-Sustentabilidade da Universidade do Minho (IB-S) pelo apoio.

Aos meus colegas de estágio e laboratório.

Este trabalho é o resultado da confiança e da colaboração de cada um de vocês.

*“O sucesso não teria sido atingido se não tivéssemos
pessoas capazes construindo nossos projetos”.*

Declaração de integridade

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Extração de celulose com vista à produção de compostos antimicrobianos: síntese, caracterização e aplicações

Resumo

O processamento da celulose gera um grande volume de resíduos, com bilhões de toneladas de biomassa ao ano. A destinação destes, é uma das problemáticas ambientais que precisa ser tratada como um dos grandes desafios a serem solucionados. Em paralelo a isto, o emprego de recursos renováveis no desenvolvimento de novos materiais tem atraído a atenção de pesquisadores em todo o mundo, devido ao impacto ambiental a ser mitigado, a disponibilidade limitada de recursos naturais, o aumento da tecnologia empregada, e ainda a busca crescente por alternativas de recursos renováveis para aumentar a eficiência destas cadeias produtivas. Nesse contexto, devido à sua versatilidade química e estrutural, a celulose pode ser empregue para obtenção de novos materiais funcionais e inteligentes, pois a sua modificação química pode atribuir propriedades de interesse e ampliar sua aplicabilidade, de modo a inserir este recurso no contexto do desenvolvimento sustentável.

Portanto, este projeto de dissertação objetivou o desenvolvimento de celulose modificada com propriedades antimicrobianas, sua síntese, caracterização e possíveis aplicações. Foram utilizados como pontos de partida para as reações químicas: celulose proveniente de resíduos (obtida e caracterizada neste trabalho), celulose regenerada, celulose comercial, nano-alfa celulose e carboximetilcelulose. Recorreu-se a três diferentes mecanismos de modificação química: esterificação para obtenção de aminocelulose, esterificação com recurso a lactamas e quaternização da celulose, a partir dos quais, foram obtidos dois derivados de celulose solúvel em água, um catiónico (16) e outro Zwitteriónico (36).

As celulosas modificadas foram estudadas com o uso de técnicas de FTIR-ATR, análise elementar, análise termogravimétrica, espalhamento de luz eletroforética e ainda foi avaliada a capacidade antimicrobiana, que permitiram conhecer melhor a influência da modificação química nas propriedades da mesma. Este trabalho permitiu a obtenção de celulose microcristalina a partir de resíduos celulósicos e sua respetiva esterificação, com propriedades antimicrobianas.

Palavras-chave: celulose catiónica; celulose Zwitteriónica; ésteres de celulose; modificação química;

Cellulose extraction to produce antimicrobial compounds: synthesis, characterization, and applications

Abstract

Cellulose processing generates a large volume of waste, with billions of tons of biomass per year. The destination of these is one of the environmental problems that need to be addressed as one of the great challenges to be solved. In parallel to this, the use of renewable resources in the development of new materials has attracted the attention of researchers around the world, due to the environmental impact to be mitigated, the limited availability of natural resources, the increase in the technology used, and the growing search for alternative renewable resources to increase the efficiency of these production chains. In this context, due to its chemical and structural versatility, cellulose can be used to obtain new functional and intelligent materials, since its chemical modification can attribute properties of interest and expand its applicability, to insert this resource in the context of development sustainable.

Therefore, this dissertation project aimed at the development of modified cellulose with antimicrobial properties, its synthesis, characterization, and possible applications. They were used as starting points for chemical reactions: cellulose from waste (obtained and characterized in this work), regenerated cellulose, commercial cellulose, nano-alpha cellulose and carboxymethyl cellulose. Three different chemical modification mechanisms were used: esterification to obtain aminocellulose, esterification using lactams and cellulose quaternization, from which two water-soluble cellulose derivatives were obtained, one cationic (16) and the other Zwitterionic (36).

The modified celluloses were studied using techniques the FTIR-ATR, elemental analysis, thermogravimetric analysis, electrophoretic light scattering, and the antimicrobial capacity was also evaluated, which allowed a better understanding of the influence of chemical modification on its properties. This work made it possible to obtain microcrystalline cellulose from cellulosic residues and its respective esterification, with antimicrobial properties.

Keywords: chemical modification; cationic cellulose; cellulose esters; Zwitterionic cellulose.

Índice Geral

Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros	ii
Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Índice Geral	vii
Lista de siglas e abreviatura	xi
Lista de Figuras	xiv
Lista de Tabelas	xviii
Prefácio	1
Apresentação das entidades de acolhimento	1
Centro de Nanotecnologia e Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes (CeNTI) ..	1
Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA)	1
Objetivos do trabalho	2
I. Introdução	4
1. Resíduos celulósicos e a importância da Sustentabilidade	4
2. Celulose.....	6
2.1. Hidrólise Ácida	10
2.2. Modificação química da celulose	12
2.2.1. Carboximetilcelulose (CMC).....	13
2.2.2. Celulose Catiónica.....	14
2.2.2.1. Lactamas	15
2.2.2.2. Cloreto de Glicidiltrimetilamónio (CHPTAC).....	17
2.2.2.3. AminoCelulose.....	19

3.	Importância dos acabamentos antimicrobianos nos têxteis	21
II.	Metodologia.....	25
1.	Materiais utilizados.....	26
2.	Extração de celulose A	28
3.	Sínteses / Modificações químicas da celulose	29
3.1.	Tosilcelulose (Amostra 25)	29
3.2.	Carboximetilcelulose (CMC).....	29
4.	Aminocelulose.....	30
4.1.	Aminocelulose I (amostra 14)	30
4.2.	AminoCelulose II (amostra 34)	30
5.	Modificação com recurso a lactamas.....	31
5.1.	Épsilon-caprolactama (ϵ -caprolactama).....	31
5.1.1.	Reação com - ϵ -caprolactama com solubilização (amostra 03)	31
5.1.2.	Reação com - ϵ -caprolactama com CMC (amostra 36)	31
5.2.	1-Metil-2-pirrolidinona (NMP)	32
5.2.1.	Reação com NMP (amostra 19).....	32
5.2.2.	Reação com NMP / TsCl em NMP / LiCl como solvente (amostra 28)	32
5.3.	2-pirrolidinona (amostra 20)	32
6.	Reação de quaternização com cloreto de glicidiltrimetilamónio (CHPTAC)	33
7.	Técnicas de Caracterização	33
7.1.	Viscosimetria capilar para determinação da massa molar e grau de polimerização	33
7.2.	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)	36
7.3.	Termogravimetria (TGA)	36

7.4.	Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) para determinação do índice de cristalinidade	37
7.5.	Morfologia por microscopia ótica e eletrônica.....	38
7.6.	Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)	38
7.7.	Análise elementar	38
7.8.	Espalhamento de luz eletroforética (ELS) - Potencial Zeta.....	39
7.9.	Avaliação da capacidade antimicrobiana.....	39
7.9.1.	Concentração inibitória mínima (MIC - Minimum inhibition concentration) e ensaio concentração bactericida mínima (MBC - Minimum bactericidal concentration)	39
7.9.2.	Protocolo de inibição de produção de biofilme (MBIC).....	40
III.	Resultados e Discussões	43
1.	Extração e caracterização da celulose.....	43
1.1.	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada	44
1.2.	Determinação da massa molar e grau de polimerização	45
1.3.	Termogravimetria (TGA)	46
1.4.	Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) / Cristalinidade	47
2.	Modificação química da celulose	48
2.1.	Reações com Lactama	49
2.2.	Reações de Aminocelulose	50
3.	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR)	51
3.1.	Celulose Zwitteriônica	51
3.2.	Celulose Catiônica	52
4.	Termogravimetria (TGA)	53

5.	Espalhamento de luz eletroforética (ELS) - Potencial Zeta	54
6.	Microscopia Eletrónica de varredura (SEM)	55
7.	Análise elementar e Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)	56
8.	Avaliação da capacidade antimicrobianas	57
8.1.	Concentração inibitória mínima (MIC - <i>Minimum inhibition concentration</i>) e ensaio concentração bactericida mínima (MBC - <i>Minimum bactericidal concentration</i>)	57
8.2.	Protocolo de inibição de produção de biofilme	62
IV.	Conclusões gerais e perspectivas futuras	65
	Referências Bibliográficas	67
	Anexos	77
1.	Cálculos de Viscosimetria/Grau de polimerização	77
2.	Micrografias	79
4.2.1.	Micrografias de celulose A	79
4.2.2.	Micrografias de celulose catiónica	80
3.	TGA	82
4.	DSC	83
5.	Espectros de FITR-ATR	84
4.5.1.	Reações com lactama	84
4.5.2.	Reações de amino celulose	95
6.	MIC	96

Lista de siglas e abreviatura

AGU – unidade de anidrogucose

ATCC – American Type Culture Collection

AATCC – American Association of Textile Chemists and Colorists

BMIMCl – cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio.

c – Concentração do polímero.

CBMA – Centro de Biologia Molecular e Ambiental

CEIIA – Centro para a Excelência e Inovação na Indústria Automóvel.

Celulose A – Celulose proveniente de resíduos;

Celulose B – Celulose Regenerada;

Celulose C – Celulose comercial;

Celulose D – Nano-alfa celulose;

Celulose E – Carboximetilcelulose (derivado de celulose)

CeNTI – Centro de Nanotecnologia e Materiais Inteligentes

CHPTAC – Cloreto de glicidiltrimetilamónio.

CITEVE – Centro Tecnológico das Indústrias Têxtil e do Vestuário de Portugal

CTIC – Centro Tecnológico das Indústrias de Couro.

DMA – Dimetilacetamida.

DMSO – Dimetilsulfóxido

DP – Grau de polimerização (do inglês Degree of polymerization).

DS – Grau de Substituição (do inglês *Degree Substitution*).

DSC – Calorimetria diferencial de varrimento.

EDS – Espectroscopia de raios X por dispersão em energia.

ELS – Espalhamento de luz eletroforética.

EPTAC – Cloreto de 2,3-epoxipropiltrimetilamónio.

FTC – Fundação para a Ciência e a Tecnologia

FTIR-ATR – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada.

HCl – Ácido clorídrico

I&D – Investigação e Desenvolvimento.

IB-S – Instituto de Ciência e Inovação para a Bio-Sustentabilidade

k – Constante geométrica do viscosímetro.

LiCl – Cloreto de lítio.

MBC – Ensaio concentração bactericida mínima (do inglês *Minimum bactericidal concentration*)

MBIC – Concentração inibitória mínima do biofilme (do inglês *The minimal biofilm inhibitory concentration*).

MHS – Equação de Mark-Houwink-Sakurada.

MIC – Concentração inibitória mínima (do inglês *Minimum inhibition concentration*)

Mv – Massa molar média viscosimétrica.

NMP – N-metil-2-pirrolidona.

PBS – Tampão fosfato-salino

Py – Piridina

SEM – Microscopia eletrônica de varredura (do inglês *Scanning electron microscope*).

S_N – Reações de deslocamento nucleofílico.

t – Tempo de escoamento.

T_c – Temperatura de cristalização.

T_f – Temperatura de fusão.

TGA – Termogravimetria.

TsCl – Cloreto de ácido p-toluenossulfônico.

T_v – Temperatura de transição vítrea.

UFC – Unidade formadora de colônia.

ρ – Densidade do fluido.

η_0 – Viscosidade do solvente puro.

η_{cin} – Viscosidade cinemática.

η_{din} – Viscosidade dinâmica.

η_{esp} – Viscosidade específica.

η_r – Viscosidade relativa.

η_{red} – viscosidade reduzida.

η_s – Viscosidade dinâmica.

η – Viscosidade intrínseca do polímero.

ΔH_o – Entalpia necessária para desidratar uma amostra de celulose completamente amorfa.

ΔH_s – Entalpia necessária para desidratar a amostra a ser medida.

Lista de Figuras

Figura 1 – Unidade de repetição de cadeia única de celulose (celobiose), mostrando a direcionalidade da ligação 1 → 4 e ligação de H intracadeia (linha pontilhada) (Moon et al., 2011).	6
Figura 2 – Local específico, natureza anfifílica na estrutura química da celulose (adaptado de Kondo, 2007).	7
Figura 3 – Estrutura esquemática do polímero celulose, mostrando as ligações glicosídicas e as interações de hidrogénio intra e inter cadeias presentes (Pinto, 2019).	8
Figura 4 – Arquitetura morfológica da celulose, desde a microfibrila até a cadeia de celulose (Pinto, 2019).	9
Figura 5 – (a) Modelo Fibrilar Franjado. Regiões cristalinas e amorfas; (b) Organização esquemática de domínios cristalinos e amorfos em fibra de celulose (Mariano et al., 2014).	9
Figura 6 – Esquema hipotético do processo de pré-tratamento com ácido diluído para isolar os domínios cristalinos da celulose das regiões amorfas. Adaptado de (Tayeb & Tayeb, 2019).	11
Figura 7 – Representação esquemática da introdução do grupo carboximetilo no anel de glucopirranose, com R=H ou CH ₂ COONa ⁺ .	14
Figura 8 – Representação esquemática da conversão de álcoois (R – OH) com N-metil-2-pirrolidona na presença de cloreto de ácido p- toluenossulfónico (TsCl) para produzir grupo amino. Adaptado de Zarth et al., (2011).	17
Figura 9 – Formação de celulose aniônica e conversão de CHPTAC em EPTAC (Correia et al., 2020).	18
Figura 10 – Reação de celulose com EPTAC em solução alcalina (Correia et al., 2020).	18
Figura 11 – Esquema de via geral da estrutura de um novo tipo de amino celulose solúvel (Heinze et al., 2016).	20
Figura 12 – Etapas da extração de celulose, (1) Resíduos celulósicos em ácido sob refluxo; (2) Arrefecimento; (3) Lavagem e filtração da celulose e (4) celulose em pó após secagem a temperatura ambiente.	28
Figura 13 – Conversão de celulose com lactamas na presença de TsCl para obter ésteres de celulose catiónicos. Adaptado de Zarth et al., 2011.	31
Figura 14 – (1, 2) Foto da realização de viscosimetria capilar, usando o viscosímetro de tubo em U Ubbelohde e (3) foto das soluções de celulose diluídas.	36
Figura 15 – Passo a passo ilustrativo do protocolo de MIC e MBC. (Adaptado de Pharma, n.d.).	40
Figura 16 – Passo a passo ilustrativo do protocolo de MBIC. (Adaptado de Pharma, n.d.).	41
Figura 17 – Micrografias obtidas utilizando microscópio eletrônico de varrimento da celulose A. Cujas magnificações são (A1 e A2) 10000 x, (A3, A4 e B1) 2500 x, (B2) 500 x e (B4) 250 x;	43

Figura 18 – Espectros FTIR das diferentes fontes de celulose utilizadas.	44
Figura 19 – Termograma da celulose A.	46
Figura 20 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados, CMC e zwitteriônico (36).	51
Figura 21 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado quaternizado (16).	52
Figura 22 – Termograma comparativo da celulose A, celulose catiónica (16) e celulose (36).	53
Figura 23 – Potencial Zeta das amostras de celulose catiónica (16) e zwitteriônica (36).	54
Figura 24 – Micrografias de microscopia eletrônica de varrimento de celulose catiónica (16). Cujas magnificações são (A1, B1 e C1) 10000x, (A2, B2 e C2) 2500 x, (A3, B3 e C3) 1000x, (A4, B4 e C4) 500x;	55
Figura 25 – MIC da CMC, do derivado catiónico (16) e zwitteriônica (36) para <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Figura 26 – MIC da celulose E (CMC), do derivado catiónico (16) e zwitteriônica (36) para <i>Escherichia coli</i>	59
Figura 27 – MIC da celulose E, do derivado catiónico (16) e zwitteriônico (36) para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
Figura 28 – Fotos das placas do ensaio MBC para a celulose quaternizada (16).	60
Figura 29 – Fotos das placas do ensaio MBC para a celulose zwitteriônica (36).	61
Figura 30 – Fotos das placas do ensaio MBC para a carboximetilcelulose (Celulose E).	61
Figura 31 – MBIC da CMC, do derivado catiónico (Q16) e zwitteriônica (36) para <i>Staphylococcus aureus</i>	62
Figura 32 – MBIC da CMC, do derivado catiónico (16) e zwitteriônico (36) para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
Figura 33 – Gráfico de viscosidade reduzida, celulose A.	78
Figura 34 – Micrografias de celulose A obtidas por microscopia ótica, com magnificações 10 x e 20 x.	79
Figura 35 – Micrografias de celulose A obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 250 x e 1000 x.	79
Figura 36 – Micrografias de celulose A obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 5000 x e 2500 x.	80
Figura 37 – Micrografias de celulose catiónica (16) obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 80 x e 10000 x.	80
Figura 38 – Micrografias de celulose catiónica (16) obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 5000 x e 1000 x.	81
Figura 39 – Micrografias de celulose catiónica (16) obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 2500 x e 5000 x.	81

Figura 40 – Espectro experimental de TGA para a amostra de celulose A, com derivada.	82
Figura 42 – Espectro experimental de DSC para a amostra de celulose A, aquecimento.	83
Figura 44 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 03.	84
Figura 45 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 05.	84
Figura 46 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 06.	85
Figura 47 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 07.	85
Figura 48 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 08.	86
Figura 49 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 09.	86
Figura 50 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 10.	87
Figura 51 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 11.	87
Figura 52 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 13.	88
Figura 53 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 15.	88
Figura 54 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 17.	89
Figura 55 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 18.	89
Figura 56 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 19.	90
Figura 57 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 20.	90
Figura 58 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 21.	91
Figura 59 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 23.	91
Figura 60 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 28.	92
Figura 61 – Espectros de FTIR da celulose D e seu derivado n° 29.	92
Figura 62 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 30.	93
Figura 63 – Espectros de FTIR da celulose C e seu derivado n° 32.	93
Figura 64 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 33.	94
Figura 65 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 36.	94
Figura 66 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados tosilcelulose n° 12 e aminocelulose I (14).	95
Figura 67 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados tosilcelulose n° 25 e aminocelulose II (27).	95
Figura 68 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados tosilcelulose n° 12 e 25 e aminocelulose I (14) e II (27).	96
Figura 69 – MIC da CMC, do derivado catiónico (16) e zwitteriônica (36) para <i>Staphylococcus aureus</i>	96

Figura 70 – MIC da celulose E, do derivado catiónico (16) e zwitteriónico (36) para *Pseudomonas aeruginosa*.

.....97

Figura 71 – MIC da celulose E (CMC), do derivado catiónico (16) e zwitteriónica (36) para *Escherichia coli*. .97

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Lista geral de reagentes.	26
Tabela 2 – Pureza, massa molar e estrutura química do agente de modificação usados nas modificações químicas.	27
Tabela 3 – Culturas celulares e bactérias utilizadas.	28
Tabela 4 – Resultados da análise de viscosimetria, cálculo de massa molar e grau de polimerização (DP)....	45
Tabela 5 – Percentagem de cristalinidade das celulosas extraídas A e B.	47
Tabela 6 – Condições e proporções das reações realizadas com lactamas, bem como dados referentes a sua solubilidade em água.	49
Tabela 7 – Resultados de análise elementar para a celulosas funcionalizadas.	56
Tabela 8 – Valores de MIC e MBC para a celulose E e para os derivados catiónico (16) e zwitteriônico (36). 58	
Tabela 9 – Resultados de BMIC para a celulose E e para os derivados obtidos.	62
Tabela 10 – Cálculos de tempo de escoamento médio de soluções de celulose em diferentes concentrações para a amostra Celulose A.	77
Tabela 11 – Densidade de soluções de celulose em diferentes concentrações para a amostra Celulose A.	77
Tabela 12 – Cálculo de viscosidade, massa molar e grau de polimerização da amostra de Celulose A.	77
Tabela 13 – Constantes utilizadas no cálculo de viscosidade.	78
Tabela 14 – Cálculo de cristalinidade das celulosas A e B.	83

Prefácio

Apresentação das entidades de acolhimento

Centro de Nanotecnologia e Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes (CeNTI)

O trabalho desenvolvido no âmbito deste estágio foi realizado no CeNTI, que se trata de um centro de investigação e de transferência de tecnologia sem fins lucrativos, com sede em Portugal, localizado em Vila Nova de Famalicão. Este foi fundado em 2006, como resultado de uma parceria estreita de 3 Universidades, 2 Centros Tecnológicos e 1 Instituto de Novas Tecnologias, todos reconhecidos pela sua relevância nacional e internacional: a Universidade do Minho, a Universidade do Porto, a Universidade de Aveiro, o CITEVE (Centro Tecnológico das Indústrias Têxtil e do Vestuário de Portugal), o CTIC (Centro Tecnológico das Indústrias do Couro), e o CEIIA (Centro para a Excelência e Inovação na Indústria Automóvel).

A equipa de investigação do CeNTI dedica-se ao estudo e desenvolvimento de novos produtos nas áreas de nanotecnologia e materiais inteligentes, com enfoque na transferência de tecnologia e criação de produtos de valor acrescentado para o mercado. O trabalho desenvolvido no âmbito desta dissertação enquadra-se em projetos de I&D do CeNTI. Tendo em conta que todos os projetos de I&D e Inovação desenvolvidos no CeNTI são executados de forma a não colocar em causa os direitos de propriedade intelectual referentes aos resultados obtidos, a informação apresentada neste relatório poderá estar condicionada.

Centro de Biologia Molecular e Ambiental (CBMA)

Parte do trabalho realizou-se no Centro de Biologia Molecular e Ambiental, que é uma Unidade de Investigação da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), criada em 2008 e sediada no Campus de Gualtar em Braga, Portugal, com instalações no Edifício da Escola de Ciências da Universidade do Minho e no Instituto de Ciência e Inovação para a Bio-Sustentabilidade da Universidade do Minho (IB-S).

A missão do CBMA é proporcionar excelência na investigação e formação pós-graduada em Ciências Biológicas, promovendo a literacia científica e a transferência de conhecimento aos *stakeholders* a nível nacional e internacional. Sua equipa é composta por pesquisadores e alunos de doutorado e mestrado, que desenvolvem investigação orientada para a resolução de problemas, criação de novas ferramentas e estratégias, com impacto nos setores ambiental, biotecnológico, saúde, agroalimentar e industrial. Ao abordar a complexidade dos sistemas biológicos a diferentes níveis de organização, das moléculas à biosfera, a investigação realizada no CBMA permite uma abordagem holística para tratar de questões de biosustentabilidade, que abrangem diferentes perspetivas da biodiversidade.

Objetivos do trabalho

Este projeto de dissertação teve por objetivo geral a investigação e o desenvolvimento de celulose modificada com propriedades antimicrobianas, sua síntese, caracterização e possíveis aplicações.

Para atingir o objetivo geral, este projeto dividiu-se em objetivos específicos:

- Extração de celulose microcristalina a partir de resíduos celulósicos da indústria portuguesa, sua respetiva caracterização em termos de grau de polimerização e cristalinidade, através de técnicas como microscopia, DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial), FTIR (Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier) e viscosimetria.
- Modificação química da celulose extraída, por diferentes vias de reação química.
- Caracterização físico-química e microbiológica dos derivados sintetizados identificados como mais promissores relativamente às suas propriedades antimicrobianas e solubilidade em água;

I. Introdução

I. Introdução

1. Resíduos celulósicos e a importância da Sustentabilidade

A industrialização deu-se a partir da revolução industrial devido às inovações tecnológicas, a produção que antes era lenta, pouco intensiva e com baixo volume, deu lugar a uma nova lógica de mercado com produção em larga escala, o que tornou os impactos do processo produtivo no ambiente muito mais intensos. As mudanças significativas provocadas por esta revolução tecnológica e pela lógica de mercado linear que foi instaurada, marcou o processo produtivo, pois a cadeia de bens e serviços interage com o meio ambiente, sobretudo, durante as entradas e saídas de matéria e energia (Foster et al., 2016).

O modelo de produção linear, em que se extrai a matéria-prima, e produz-se um bem, e este é consumido e em seguida descartado, gera um grande volume de resíduos e rejeitos, ou seja, há dissipação de energia ao longo do processo produtivo. Esse modelo de produção pressupõe a depleção contínua de recursos naturais e também se caracteriza pelo descarte acelerado e precoce dos bens consumidos. Assim, como consequência do aumento da produção e do consumo ocorre o aumento da extração de recursos naturais e da deposição de resíduos, provenientes do processo produtivo e do pós-consumo (Foster et al., 2016). Esta lógica industrial encontra-se ameaçada, devido à disponibilidade limitada de recursos naturais ao longo do tempo e aos efeitos adversos na cadeia produtiva e no ambiente.

Portanto, um dos maiores desafios do século XXI é a inovação de produtos, serviços, sistemas produtivos e modelos de negócio, a partir de um novo paradigma de sustentabilidade para gerar crescimento económico, bem-estar social e restauração ecológica dentro dos limites dos ecossistemas (Leitão, 2015). Nesse cenário, tornam-se cada vez mais necessários modelos de produção voltados aos ideais de sustentabilidade, que se insiram no âmbito da economia circular¹. Diante do uso abusivo dos recursos naturais, este modelo permite repensar as práticas económicas da sociedade atual e inspira-se no funcionamento da própria natureza, buscando ser capaz de neutralizar os desequilíbrios que atualmente se acumulam entre a oferta e a demanda destes (EMF, 2013). Deste modo, é essencial um adequado planeamento de produtos e processos por meio de ações que resultem no prolongamento da vida útil daquilo que será produzido ou ainda que sejam voltadas

¹ A Economia Circular base-se no princípio de “fechar o ciclo de vida” dos produtos, o que permite a redução no consumo de matérias-primas, energia e água, ou seja, atua como fonte de inovação, além de permitir a redução da procura de recursos naturais com a recuperação de desperdícios e resíduos (Leitão, 2015).

ao reprocessamento de subprodutos para a sua reintegração à cadeia de produção, de modo a aumentar o ciclo de vida destes (EMF, 2013; Oliveira et al., 2019).

Com um olhar sempre no futuro e na crescente conscientização sobre o impacto da cadeia produtiva no meio ambiente e no entendimento de que o padrão de produção de bens e consumo não teria possibilidade de se manter, aumentou o interesse na busca por alternativas de recursos renováveis, como biocombustíveis, bioquímicos e biomateriais. Neste sentido, estudos sobre os biopolímeros, veem sendo realizados, pois estes intrigam a humanidade desde o início da civilização (Habibi et al., 2010).

De todos os biopolímeros existentes no planeta Terra, a celulose é o mais abundante com capacidade de produção anual de 50 bilhões de toneladas. Devido à sua bio-renovabilidade, abundância e baixo custo de produção, tem sido explorada como matéria-prima sustentável para a concepção e fabricação de novos produtos tecnológicos. Apesar da celulose ser uma matéria-prima renovável, esta também representa um elevado volume na produção de resíduos no contexto das produções industriais, seja na indústria de papel, de têxteis, de embalagens, de alimentos, cosmética, farmacêutica, médica e muitas outras. Todos os anos, bilhões de toneladas de biomassa são gerados em todo o mundo, espera-se que o tamanho do mercado global aumente US \$ 305,08 bilhões até 2026, com uma taxa composta de crescimento anual (CAGR) de 4,2% (Annamalai et al., 2021; Insights, 2020).

A biomassa celulósica derivada de diferentes recursos naturais oferece um alto potencial para funcionar como um precursor sustentável, propício para um ambiente mais ecológico e limpo, através do uso de técnicas avançadas de síntese e fabricação, tem aplicações em tratamento de água, biomédico, remediação de solo, filtragem de poluição (Thakur et al., 2022) e muitos outros. Por estar presente em uma infinidade de materiais no cotidiano, torna-se crucial a busca por processos produtivos sustentáveis em circuito fechado, que visem otimizar o uso destes recursos e possibilitar ciclos contínuos de reconversão. Nesse sentido, a modificação química de polissacarídeos, como a celulose, é um dos meios mais importantes para conferir propriedades e inserir este recurso renovável no contexto do desenvolvimento sustentável (Dogsa et al., 2014).

Dessa forma, a utilização de matérias-primas como a biomassa celulósica ou resíduos celulósicos, vem se popularizando e novas aplicações industriais para obtenção de produtos funcionais estão sendo uma aposta em constante crescimento, devido a sua disponibilidade e bio-renovabilidade. Portanto, este projeto de dissertação objetivou o desenvolvimento de celulose modificada com propriedades antimicrobianas, sua síntese, caracterização e possíveis aplicações.

2. Celulose

A celulose ($C_6H_{10}O_5$)_n, é um biopolímero linear e não ramificado de cadeia longa composto de dímeros ou dissacarídeos, consistindo de 10000 a 15000 unidades de D-anidroglicopirranose (AGU - sua unidade monomérica que formam a cadeia de celulose), com massa molecular de 162 g.mol⁻¹. A massa molecular média da celulose depende do grau de polimerização (DP). Ou seja, a massa molecular da celulose é $n \times 162$. Por outro lado, o DP depende da fonte de celulose, sendo que por exemplo, no caso do algodão é de cerca de 10000. Devido à configuração espacial alternada das ligações glicosídicas, a sua unidade repetitiva é formada por duas unidades de AGU, sendo denominada celobiose (Moon et al., 2011; Taiz & Zeiger, 2003).

As suas cadeias têm ligações glicosídicas equatorial-equatorial presentes na estrutura química básica, sendo que as unidades β-D-glucopirranose ligadas (1 → 4) estão posicionadas de modo que seus anéis adjacentes possam formar ligações de hidrogénio entre o átomo de oxigénio do anel de uma unidade de glicose e o átomo de hidrogénio do grupo hidroxilo C-3 do anel anterior. Essas ligações de hidrogénio impedem a rotação livre dos anéis nas suas ligações glicosídicas, resultando no enrijecimento da cadeia. Seus monómeros estão girados 180° em relação à sua unidade vizinha e devido a essa rotação, a celulose é altamente simétrica, uma vez que cada lado da cadeia possui um número igual de grupos hidroxilo (**Figura 1**) (De Souza Lima & Borsali, 2004a; Moon et al., 2011; Taiz & Zeiger, 2003; Whistler & BeMiller, 1997).

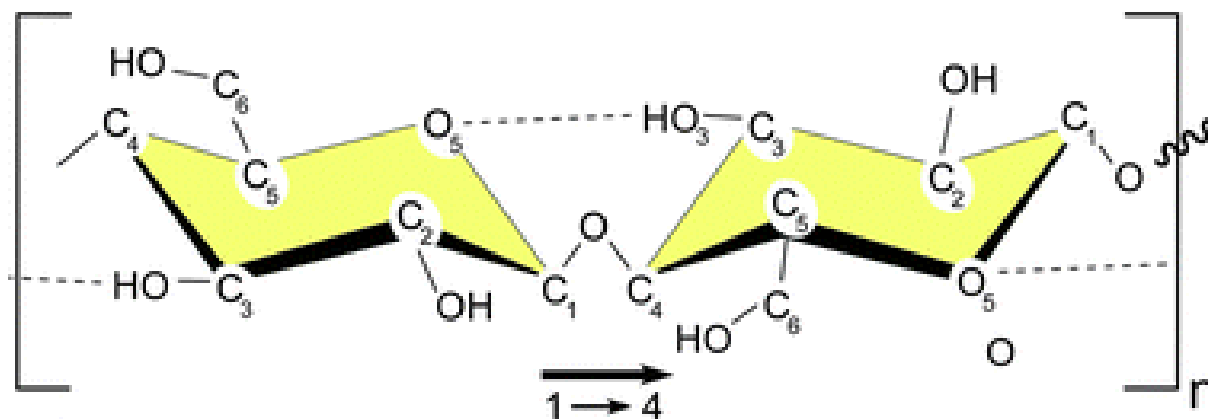


Figura 1 – Unidade de repetição de cadeia única de celulose (celobiose), mostrando a direcionalidade da ligação 1 → 4 e ligação de H intracadeia (linha pontilhada) (Moon et al., 2011).

Dessa forma, a celobiose é composta por duas moléculas de glicose invertidas com relação ao plano, que apresentam grupos hidroxila (-OH) nos carbonos C2, C3 e C6, disponíveis para reações típicas de álcoois primários e secundários. Cada cadeia de celulose possui uma assimetria química direcional com respeito às

terminações de seu eixo molecular: a extremidade C1-OH apresenta funcionalidade química redutora (uma unidade hemiacetal) e a outra um grupo hidroxilo pendente, extremidade C4-OH não redutora nominal. O DP da celulose é a média da quantidade relativa entre as ligações glicosídicas terminais e interiores, e varia em algumas centenas a 20000 unidades de AGU, dependendo da fonte e da técnica de extração (Habibi et al., 2010).

Este biopolímero apresenta natureza anfifílica (**Figura 2**), devido à presença de três grupos hidroxilo nas posições equatoriais do anel, esta direção apresenta um carácter hidrofílico. Em contrapartida, a direção axial do anel é hidrofóbica, devido à presença de átomos de hidrogénio, que realizam ligação C-H. Portanto, as moléculas de celulose apresentam uma anisotropia estrutural intrínseca (Biermann et al., 2001; Yamane et al., 2006).

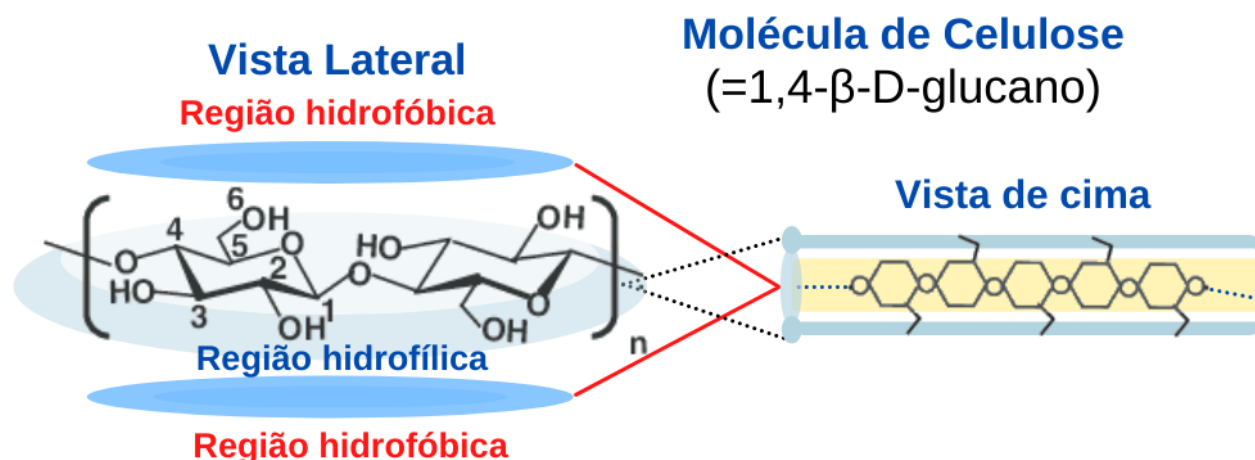


Figura 2 – Local específico, natureza anfifílica na estrutura química da celulose (adaptado de Kondo, 2007).

O acoplamento das moléculas de celulose adjacentes dá-se por meio das ligações de hidrogénio e das forças de *van der Waals*, que resultam em um alinhamento paralelo das macromoléculas apresentando uma forma de “fita”, o que permite que cadeias de celulose adjacentes encaixem-se para formar uma região cristalina ordenada (De Souza Lima & Borsali, 2004a; Kondo, 2007). As ligações intramoleculares (entre OH dos carbonos C2 e C6 e entre o grupo hidroxilo do carbono C3 e os átomos de oxigénio presentes no anel) unem unidades de glicose adjacentes na mesma cadeia de celulose, e são responsáveis pela rigidez da molécula. Por outro lado, as ligações intermoleculares (entre os OH dos carbonos C3 e C6) unem cadeias adjacentes de celulose, e são responsáveis pela formação de sua estrutura supramolecular (**Figura 3**).

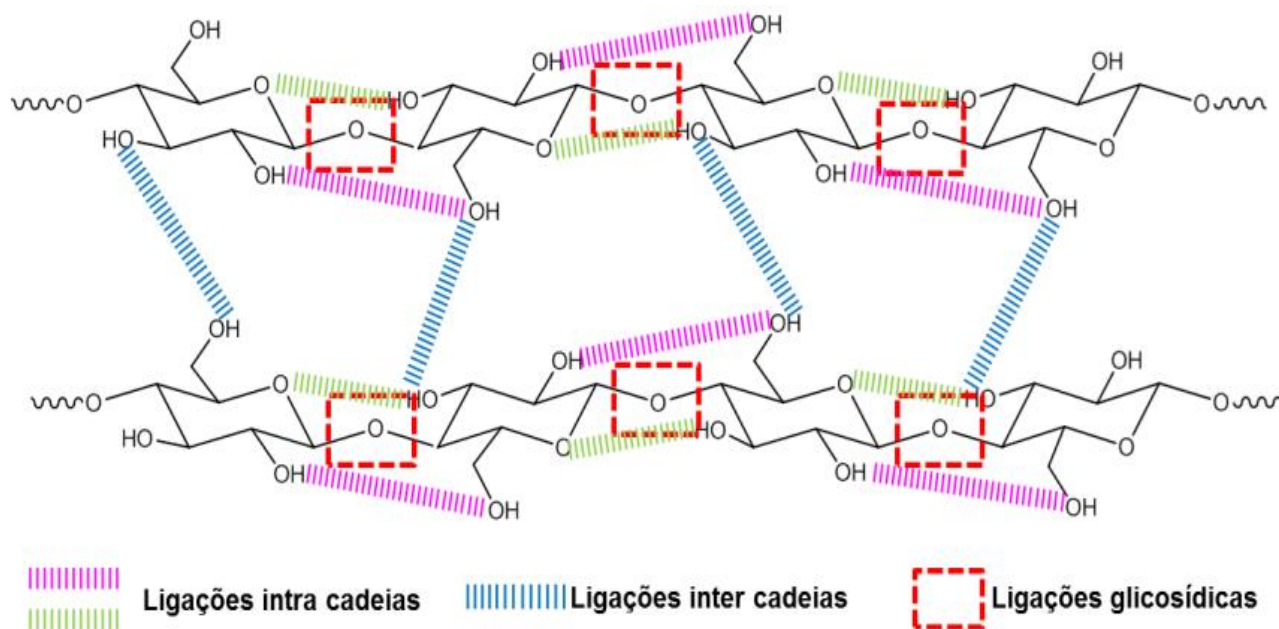


Figura 3 – Estrutura esquemática do polímero celulose, mostrando as ligações glicosídicas e as interações de hidrogénio intra e inter cadeias presentes (Pinto, 2019).

Essas ligações de hidrogénio inter e intramoleculares (2 e 2~3 por anidro glucopiranosose) respetivamente, mostradas na **Figura 3** resultam na formação de um conjunto de agregados, denominados fibrilas elementares (estruturas altamente ordenadas, retas e compactas, com grande resistência à tensão) de forma que a resistência à degradação deriva em maior parte por sua estrutura cristalina e pelo “empacotamento” biológico do que pela ligação β -1,4-glicosídica propriamente dita. Dessa forma, pode-se descrever a fibrila de celulose como sendo o empilhamento sucessivo de cadeias de anéis de glicopiranososes umas sobre as outras, semelhantes a lâminas e este arranjo confere à fibrila duas faces distintas (Y. H. P. Zhang & Lynd, 2004a).

Essas fibrilas de celulose são a principal fase de reforço para árvores, plantas, algumas criaturas marinhas (tunicados), algas e bactérias (algumas bactérias secretam fibrilas de celulose criando uma estrutura de rede externa). As fibrilas elementares se agregam e formam as microfibrilas maiores (5-50 nm de diâmetro e vários microns de comprimento) e os agregados dessas microfibrilas formam as macrofibrilas, apresentando dimensões micrométricas (**Figura 4**) (Taiz et al., 2017).

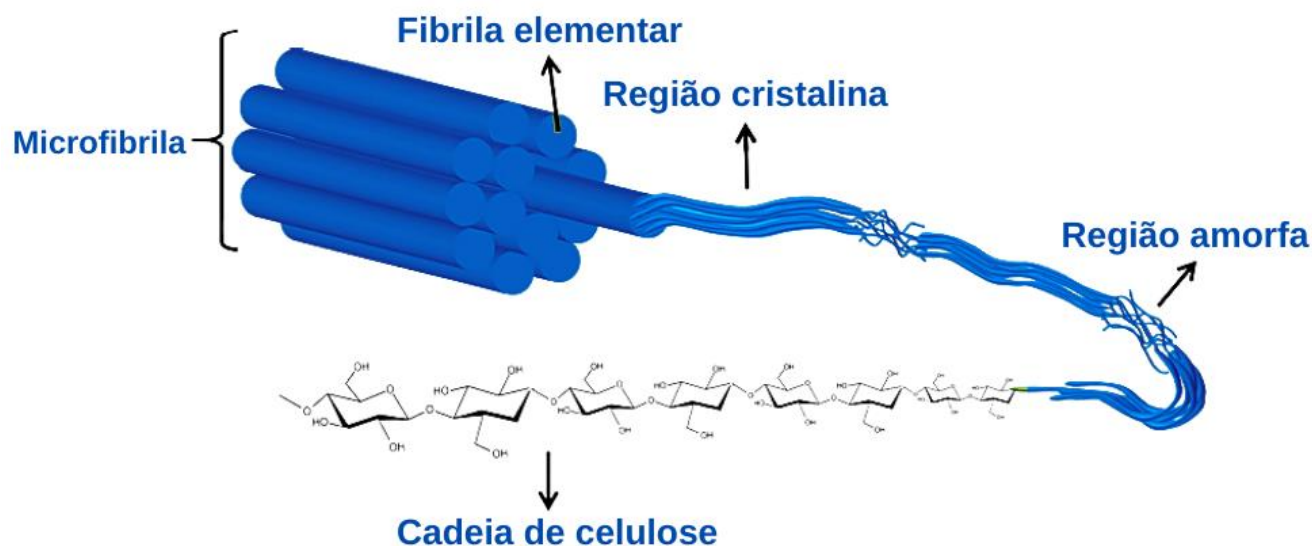


Figura 4 – Arquitetura morfológica da celulose, desde a microfibrila até a cadeia de celulose (Pinto, 2019).

Cada fibrila é constituída por cerca de 18 a 24 cadeias paralelas de (1→4)- β -D-glicose fortemente ligadas entre si para formar um centro (core) altamente ordenado em uma estrutura cristalina, que estão interconectadas com partes menos ordenadas e amorfas da celulose - segmentos curtos onde a organização cristalina é interrompida em intervalos de 150 a 300 nm (**Figura 5**) (Moon et al., 2011; Taiz et al., 2017).

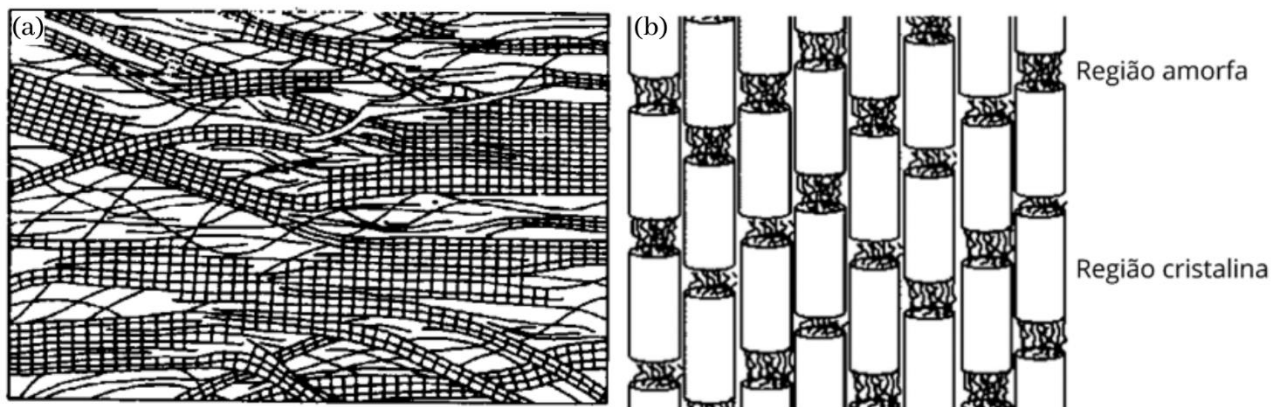


Figura 5 – (a) Modelo Fibrilar Franjado. Regiões cristalinas e amorfas; (b) Organização esquemática de domínios cristalinos e amorfos em fibra de celulose (Mariano et al., 2014).

Dessa forma, a região cristalina resulta da ação combinada da biopolimerização e da cristalização da celulose comandada pelos processos enzimáticos, e as suas cadeias são compactas, insolúveis em água (superfícies hidrofóbicas preenchidas pelos grupos não polares C–H) (De Souza Lima & Borsali, 2004a).

Enquanto que a absorção da água ocorre quase inteiramente nas regiões amorfas da celulose (superfícies hidrofílicas preenchidas pelos grupos polares –OH) (Taiz et al., 2017).

A fração cristalina da fibra de celulose é determinada pelo índice de cristalinidade (razão entre a massa dos domínios cristalinos e a massa total da celulose). Embora o mecanismo biossintético seja o mesmo em todos os organismos, as suas dimensões típicas dependem de sua origem. Por exemplo, as microfibrilas nas paredes primárias das plantas terrestres têm cerca de 3 nm de largura, enquanto aquelas formadas por algumas algas podem ter até 20 nm de largura, e podem ser mais cristalinas do que as encontradas nas plantas terrestres (De Souza Lima & Borsali, 2004a; Taiz et al., 2017).

Nas regiões cristalinas existe um arranjo geométrico que se repete nos eixos principais da estrutura cristalina (eixos cristalográficos) para formar o volume total do cristal. Em cristalografia, a esse arranjo geométrico dá-se o nome de célula unitária, esta apresenta dimensões bem definidas e, no caso da celulose, não há uma dimensão única visto que existe mais de uma forma polimórfica de celulose cristalina (I, II, III I, III II, IV I e IV II) sendo as I e II as formas cristalinas dominantes (Salama, 2019).

A celulose I, é produzida naturalmente por diversos organismos (árvores, plantas, tunicados, algas e bactérias) sendo por vezes chamada de celulose “natural”. A sua estrutura é termodinamicamente metaestável e pode ser convertida em celulose II ou III. Enquanto a celulose II, apresenta estrutura monoclinica, é mais estável e de maior relevância técnica, podendo ser produzida por regeneração ou mercerização. E a celulose III pode ser concebida a partir da celulose I ou II por meio de tratamentos alcalinos e tratamentos térmicos subsequentes podem ser usados para formar a celulose IV (Moon et al., 2011; Salama, 2019).

2.1. Hidrólise Ácida

Encontrada como o principal constituinte de plantas e fibras naturais, como algodão e linho, a celulose pode ser obtida a partir de resíduos celulósicos incluindo bioresíduos industriais (biomassa, papel, madeira e outros) e resíduos agroindustriais (casca de coco, bagaço de mandioca, fibra de banana, casca de amora, vagens de soja, caules de milho e casca de soja). Nestas diferentes matérias-primas as características ultraestruturais da celulose variam dependendo da origem e de como o material foi manuseado. Os fatores estruturais que podem influenciar a sua despolimerização são o índice de cristalinidade, o grau de polimerização, a área acessível a hidrólise, o tipo de ácido, a concentração de ácido, o tempo e a temperatura da reação de hidrólise (Souza Lima & Borsali, 2004b; Mishra et al., 2019; Y. H. P. Zhang & Lynd, 2004b)

A hidrólise ácida da celulose apresenta inúmeras aplicações tanto no panorama industrial quanto científico, seja industrialmente para libertar glicose na produção de etanol a partir da biomassa, seja na polpação e no branqueamento da madeira, e ainda na produção de micro e nano cristais de celulose (Palme et al., 2016).

A degradação parcial da celulose por hidrólise ácida, não afeta as partes cristalinas, pois o ácido reage apenas lentamente com as partes cristalinas, portanto, esta ocorre principalmente na celulose amorfa (**Figura 6**) (Palme et al., 2016; Siró & Plackett, 2010). As cadeias presentes nas regiões amorfas são orientadas aleatoriamente, o que leva a uma baixa densidade nessas regiões. Logo, as regiões amorfas são mais suscetíveis ao ataque de ácido, e os íons hidrônio penetram as cadeias de celulose a partir destes domínios amorfos, promovendo a clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas reduzindo o tamanho da cadeia. Ou seja resulta na redução do grau de polimerização e obtenção de celulose microcristalina (Lima & Borsali, 2004a; Whistler & BeMiller, 1997).

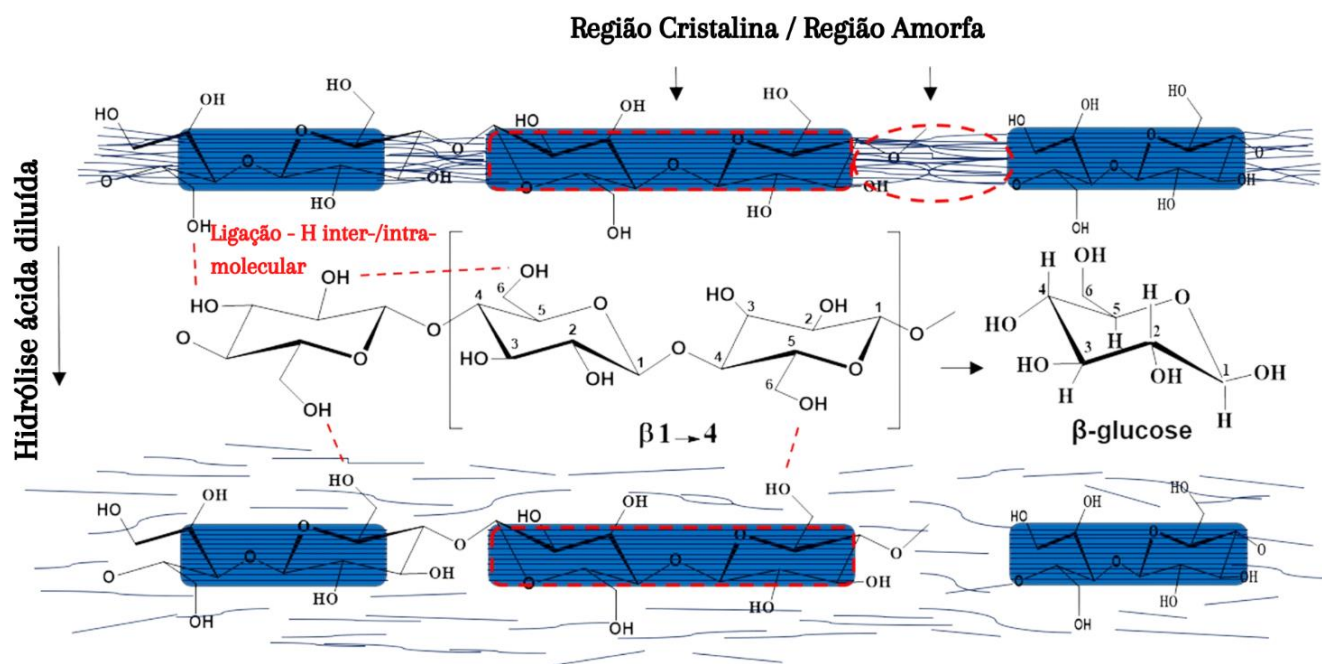


Figura 6 – Esquema hipotético do processo de pré-tratamento com ácido diluído para isolar os domínios cristalinos da celulose das regiões amorfas. Adaptado de (Tayeb & Tayeb, 2019).

2.2. Modificação química da celulose

A celulose apresenta boas propriedades mecânicas e térmicas, sendo igualmente biodegradável e biocompatível, mas também apresenta algumas desvantagens, como por exemplo a sua insolubilidade na maioria dos solventes comuns, incluindo a água. Outros fatores limitantes são a falta de termoplasticidade, alta hidrofiliabilidade e ausência de propriedades antimicrobianas. Uma forma de ultrapassar estas desvantagens é modificar quimicamente a celulose introduzindo-lhe grupos funcionais, que podem estender a empregabilidade da celulose e, assim, ampliar seu escopo de aplicação (Medronho et al., 2012).

Nesse sentido, muitos esforços foram feitos para entender a natureza da celulose, dos seus derivados, bem como copolímeros e misturas de celulose. Atualmente ela pode ser modificada por métodos químicos, enzimáticos ou microbiológicos para obter novos derivados e materiais. Por exemplo os seus derivados podem ser produzidos em larga escala (com base na esterificação e eterificação de grupos hidroxilo na celulose para a preparação de derivados orgânicos solúveis) e materiais regenerados (ou seja, fibras, filmes, invólucros de alimentos, membranas e esponjas, entre outros) que encontram aplicações em várias áreas comerciais importantes, como nas indústrias de membrana, polímeros, têxteis e tintas (Dieter Klemm et al., 2005; Medronho et al., 2012; Wu & Kuga, 2006).

Estas reações de modificações químicas podem ser classificadas em homogêneas ou heterogêneas. As reações heterogêneas são mais fáceis de aplicar pois não requer a solubilização completa da celulose, no entanto, não permite prever as condições da celulose modificada resultante (como por exemplo o seu grau de substituição), pois comumente são utilizadas quantidades superestequiométricas de reagentes, bem como ácidos ou bases para a ativação da celulose, gerando assim grandes quantidades de resíduos (Hummel, 2004; Dieter Klemm et al., 2005; Onwukamike et al., 2019).

As modificações por reações homogêneas apresentam um melhor controlo sobre o grau de substituição e regiosseletividade, tanto em relação aos grupos OH primários e secundários, quanto em termos de uma distribuição homogênea dos grupos funcionais ao longo da cadeia polimérica, resultando em derivados de celulose com propriedades de material aprimoradas e ajustáveis (Hummel, 2004; Dieter Klemm et al., 2005; Onwukamike et al., 2019). Este tipo de reação apresenta as condições necessárias para a obtenção de derivados solúveis, pois o polímero se encontra altamente dilatado ou dissolvido. Assim, a maioria dos derivados de celulose solúveis em água, são obtidos por meio da eterificação da celulose, que envolve a reação com espécies orgânicas, como unidades de metilo e etilo em condições de reação homogêneas (Liesiene, 2010).

Os principais aspetos da molécula de celulose responsáveis pelas suas características químicas são os três grupos álcool presentes em cada unidade de AGU e as ligações glicosídicas, pois conferem grande estabilidade à celulose por serem difíceis de quebrar. No entanto, estes três grupos OH podem ser modificados permitindo que a celulose adquira diversos derivados sem que prejudique as suas propriedades intrínsecas (Dieter Klemm et al., 2005). Dessa forma durante a modificação química da celulose, os átomos de hidrogénio nos grupos hidroxilo são substituídos por qualquer substituinte quando as ligações de hidrogénio são quebradas (Liesiene, 2010).

As propriedades dos derivados dependem principalmente do tipo de distribuição e uniformidade dos grupos de substituição. Dessa forma, o Grau de Substituição (DS - do inglês *Degree Substitution*) para derivados da celulose é definido como número médio de grupos hidroxilo substituídos por outros grupos químicos nas unidades de anidrogucose, o que pode variar livremente dentro do intervalo entre zero – para uma celulose não substituída – até três – para um derivado celulósico trissubstituído. O DS é influenciado ainda pelo ajuste da razão molar de reagente derivatizante/AGU e condições reacionais (tempo e temperatura, por exemplo) (Thomas Heinze et al., 2018; Dieter Klemm et al., 2005).

A literatura descreve vários novos polímeros celulósicos solúveis em água que foram sintetizados e estudados para diversas aplicações nas últimas décadas. Dentre eles, destacam-se derivados catiónicos, como éteres de celulose que contém nitrogénio quaternizado produzidos por eterificação de material celulósico com haloidrinas quaternárias ou epóxidos quaternários (Zhang, 2001). É nesse cenário que no decorrer deste trabalho foram realizadas modificações químicas na estrutura da celulose com vistas a inserção de grupos azoto, de modo a estudar suas possíveis propriedades antimicrobianas.

2.2.1. Carboximetilcelulose (CMC)

A carboximetilcelulose é um polieletrólito linear aniónico, biocompatível, sendo um dos principais derivados da celulose solúveis em água, que apresenta grupos carboximetil ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$) ligados a alguns dos grupos hidroxil dos monómeros de glucopirranose que constituem a espinha dorsal da celulose. É frequentemente usado na forma de sal de sódio - carboximetilcelulose sódica (Lavanya et al., 2015).

A CMC apresenta uma infinidade de aplicações em diferentes ramos da indústria, sendo encontrada no processamento de alimentos, de produtos farmacêuticos, adesivos, tintas, couro, papel, têxteis, cerâmicas, produtos agrícolas, detergentes, entre muitos outros. Dentre as suas aplicações industriais, a CMC é usado

principalmente para controlar a viscosidade de um produto e, ao mesmo tempo, evitar a gelificação, atuando como espessante, estabilizador de fase e emulsão e/ou agente de suspensão (Dogsa et al., 2014).

Esta é sintetizada pela reação catalisada por álcali da celulose com ácido cloroacético (**Figura 7**). Os grupos carboxilo polares tornam a celulose solúvel e quimicamente reativa, e as suas propriedades funcionais dependem do grau de substituição na estrutura da celulose (ou seja, quantos grupos hidroxilo participaram da reação de substituição), bem como da sua concentração, força iônica e valor de pH (Lavanya et al., 2011; Zuidam & Nedović, 2010).



Figura 7 – Representação esquemática da introdução do grupo carboximetilo no anel de glucopirranose, com R=H ou $\text{CH}_2\text{COONa}^+$.

As modificações químicas da CMC podem oferecer propriedades adicionais que melhoram as suas características gerais. Por ser solúvel em água ela pode ser utilizada como material de partida para a obtenção de materiais melhorados. Dessa forma a CMC foi utilizada neste trabalho como uma das matérias-primas, a celulose E, empregadas nas reações de esterificação de modo a obter derivados de celulose solúveis em água com propriedades antimicrobianas.

2.2.2. Celulose Catiônica

Os derivados catiónicos da celulose apresentam grande importância industrial devido às suas características úteis, como hidrofilicidade, biodegradabilidade e propriedades antibacterianas. Por conta disso, esses são utilizados numa variedade de campos, como indústrias de papel, têxtil, alimentícias, cosméticas, químicas e farmacêuticas, bem como agentes antibacterianos em vários sistemas de água (Hasani et al., 2008; Zhang et al., 2015).

Agentes catiónicos, como grupos amino, amônio, sulfônio e fosfônio, são convencionalmente usados para modificar as estruturas de celulose (Iqbal et al., 2020; Khalil-Abad et al., 2009). Uma das principais estratégias para a cationização da celulose compreende a fixação de várias estruturas pré-construídas de nitrogénio quaternário à estrutura da celulose ou a quaternização de grupos amino previamente ligados. A

principal rota é por meio da eterificação com introdução das estruturas quaternárias pré-construídas. Os compostos mais conhecidos são os de amónio quaternário, como a celulose quaternizada, que é sintetizado a partir da reação da celulose com cloreto de glicidiltrimetilamónio (CHPTAC), em solução aquosa de hidróxido de sódio com uréia. Esta pode recorrer ao uso de sais de epoxipropil- ou 3-cloro-2-hidroxipropiltrialquilamónio como agentes de eterificação e ativação alcalina de grupos hidroxilo da celulose. Os derivados catiónicos de celulose solúveis em água por serem obtidos por reação com compostos que contêm grupos amina terciária por eterificação de acetatos de celulose com N , N- dietilpoxipropilamina (Gruber, 2002; Hasani et al., 2008; Liesiene, 2010).

Estes agentes catiónicos, incluindo derivados de sais de amónio quaternário, são biocidas importantes e são conhecidos pela sua ação antisséptica e desinfetante eficaz. São ativos contra um amplo espectro de microrganismos, como bactérias gram-positivos e gram-negativas, fungos e certos tipos de vírus (Bracone et al., 2016).

Neste trabalho o interesse em celulose catiónica diz respeito à sua atividade antimicrobiana atribuída a presença do átomo de azoto de carga positiva em sua estrutura. Assim a sua função antimicrobiana é devida a interações entre os grupos catiónicos e a membrana celular carregada negativamente dos microrganismos, o que resulta numa série de danos na membrana celular e desnaturação das proteínas. Ou seja, estas interações provocam grandes alterações na superfície da célula e na sua permeabilidade, levando à dispersão de substâncias intracelulares. Este composto tem ainda a vantagem dos átomos de azoto ficarem intactos mesmo após a inativação dos microrganismos, mantendo a suas propriedades antimicrobianas (Bracone et al., 2016). Entretanto esta depende do comprimento da cadeia alquil e o número de grupos catiónicos na molécula.

2.2.2.1. Lactamas

As lactamas (contração de lactona + amida) são amidas cíclicas de aminoácidos alifáticos que formam uma extensa série homóloga de monômeros, com uma grande variedade de exemplos não substituídos cujo tamanho até agora varia de 4 a 21 átomos no anel. Elas consistem em um grupo amida polar e uma porção de hidrocarboneto não polar formada por uma sequência de grupos - (CH₂)-(Russo & Casazza, 2012).

A família lactama pode ser amplamente estendida se os membros portadores de substituintes no átomo C e / ou N forem considerados, com grande variedade de outros tipos de análogos de lactamas (lactamas contendo heteroátomos, dilactamas, lactamas bicíclicas, tiolactamas, oxalactamas bicíclicas, etc.). E para além de sua utilização industrial na produção de algumas poliamidas alifáticas, algumas lactamas encontram

aplicações muito significativas na medicina, em particular para a preparação de antibióticos (antibióticos β -lactâmicos) (Gondal & Buisson, 2016; Russo & Casazza, 2012).

São uma classe importante de compostos amplamente distribuídos entre compostos naturais e sintéticos de interesse biológico, sendo ainda intermediários altamente versáteis para uso potencial em sínteses orgânicas, caracterizando-se como importantes pontos de partida para numerosos compostos naturais que são amplamente empregados para obter novas moléculas por meio de modificações químicas adicionais (Gondal & Buisson, 2016).

Nesse sentido, um caminho alternativo para a síntese de ésteres de celulose catiónicos é a abertura do anel das lactamas na presença de cloreto de ácido p-toluenossulfônico (cloreto de tosilo - TsCl). Neste tipo de reação podem ser utilizados como solventes da celulose N-metil-2-pirrolidona (NMP), Cloreto de lítio (LiCl), cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio (BMIMCl), Dimetilacetamida (DMA), e pode ter como produto um derivado de biopolímero catiónico aplicando NMP, N metil-2-piperidona, ϵ -caprolactama e N -metil- ϵ -caprolactama (Thomas Heinze et al., 2019; Zarth et al., 2011).

A lactama e NMP, forma um intermediário reativo na presença de TsCl de acordo com a reação de Vilsmeier-Haack (**Figura 8**). Assim, um éster de celulose catiónico é formado na segunda etapa, isto é, o íon imínio reage com os grupos hidroxilo do biopolímero e ocorre a abertura subsequente do anel pela água. Dependendo da lactama usada, porções de éster com diferentes comprimentos de cadeia de alquil (C4 a C6) podem ser ligadas à estrutura da celulose (Thomas Heinze et al., 2019; Zarth et al., 2011).

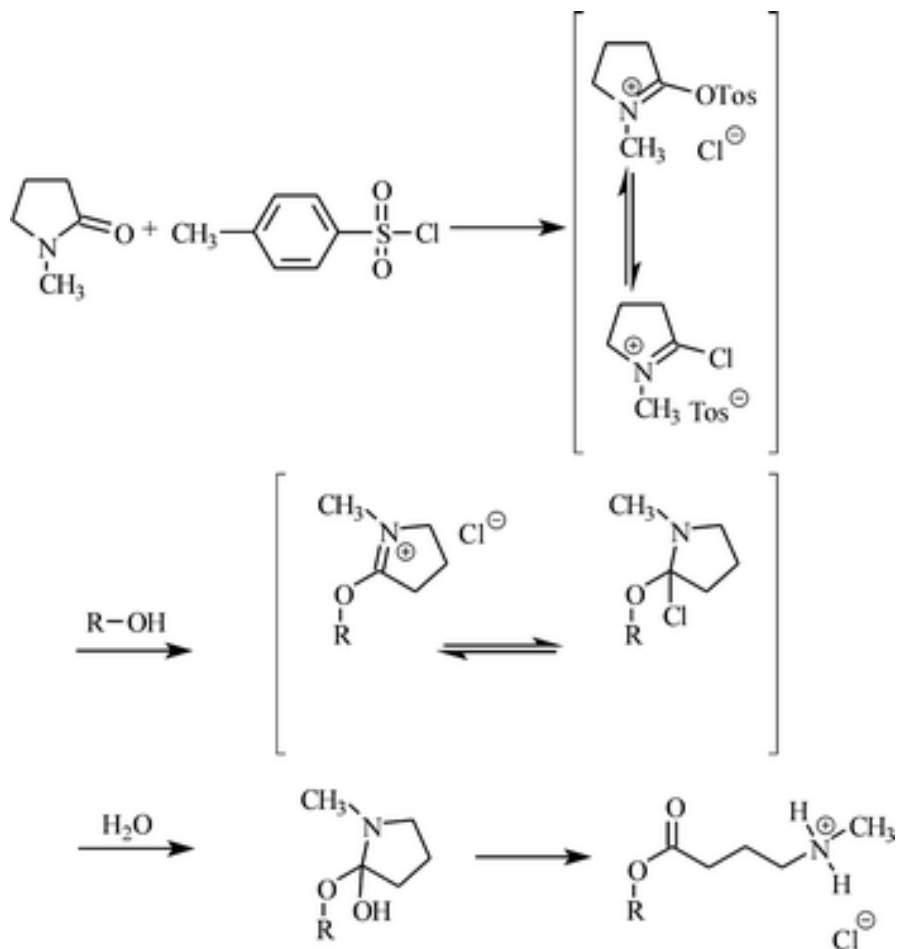


Figura 8 – Representação esquemática da conversão de álcoois (R – OH) com N -metil-2-pirrolidona na presença de cloreto de ácido p- toluenossulfônico (TsCl) para produzir grupo amino. Adaptado de Zarth et al., (2011).

2.2.2.2. Cloreto de Glicidiltrimetilamónio (CHPTAC)

O cloreto de 3-cloro-2-hidroxipropiltrimetilamónio (CHPTAC) tem sido empregue na cationização de celulose e tem mostrado potencial para utilização em escala industrial. Este agente organo-catiónico, eco friendly, económico e pode facilmente reagir com as fibras de celulose (Khalil-Abad et al., 2009).

O CHPTAC em si não é prontamente reativo com a celulose, primeiramente, ele é convertido em cloreto de 2,3-epoxipropiltrimetilamónio (EPTAC), também identificado como cloreto de glicidiltrimetilamónio, por reação com o álcali (**Figura 9**). Em seguida, o EPTAC reage com os grupos hidroxilo da celulose sob condições alcalinas para cationização (**Figura 10**). Ou seja, na presença de álcali, o CHPTAC é convertido em EPTAC juntamente com a dissociação parcial do grupo hidroxilo da celulose (Farrell et al., 2013).

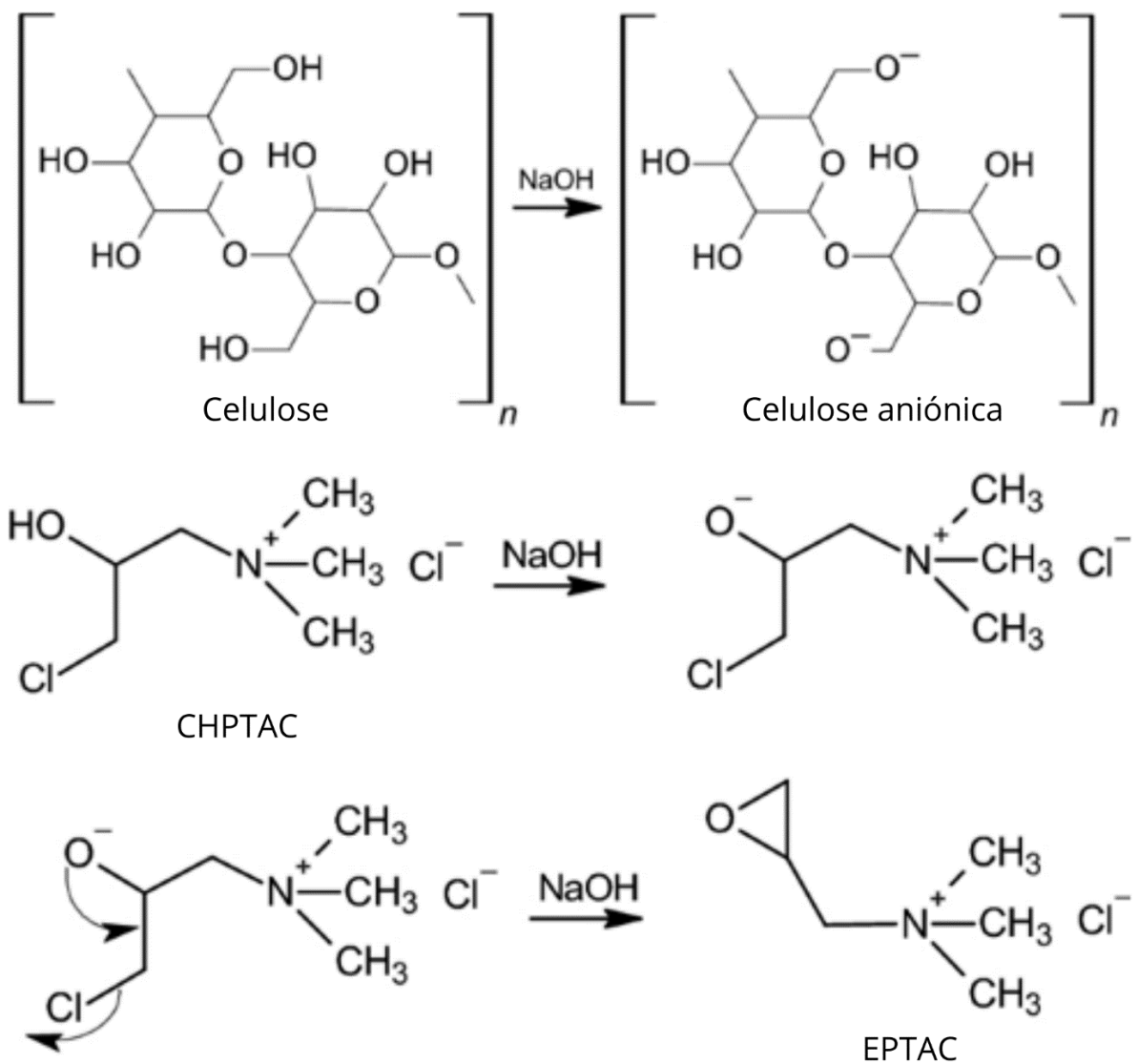


Figura 9 – Formação de celulose aniônica e conversão de CHPTAC em EPTAC (Correia et al., 2020).

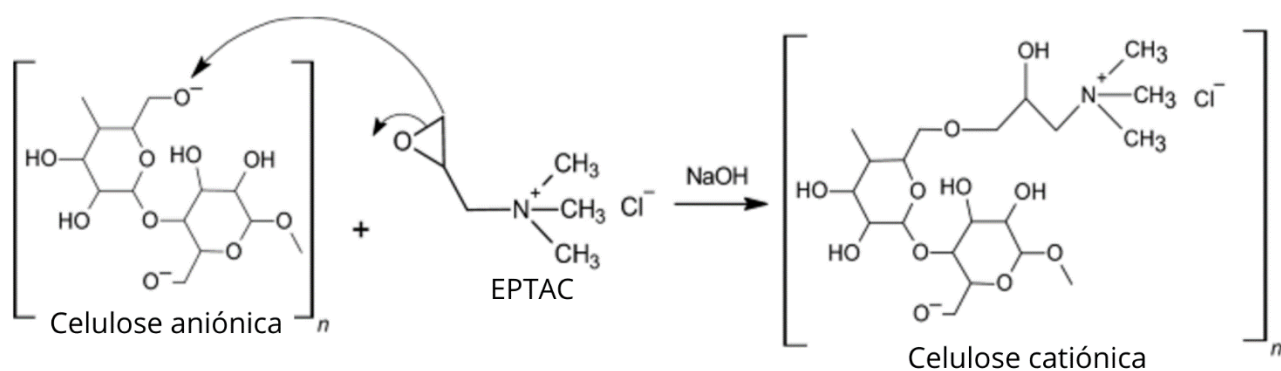


Figura 10 – Reação de celulose com EPTAC em solução alcalina (Correia et al., 2020).

Os processos de cationização devem ser projetados para introduzir CHPTAC e o álcali necessário para a conversão do EPTAC, seguido por sua reação subsequente com a celulose. Assim, o processo geral de cationização deve ser projetado numa quantidade que o EPTAC seja consumido ao máximo, para garantir a liberação mínima do EPTAC para o meio ambiente (Farrell et al., 2013).

2.2.2.3. AminoCelulose

Derivados de celulose funcionalizados com grupos amino, geralmente são chamadas de amino celuloses, e podem apresentar uma grande variedade de produtos sob medida (Berlin et al., 2000). Eles são solúveis em água, desde que C2 e C3 possuam principalmente grupos hidroxilo, enquanto a solubilidade em solventes orgânicos aparece se essas posições contiverem substituintes hidrofóbicos. As aminoceluloses, são particularmente interessantes devido ao seu potencial para aplicações biofuncionais (Thomas Heinze, Siebert, et al., 2016).

A 6-desoxi-6-amino celulose pode ser obtida por reação de múltiplas etapas por reações de deslocamento nucleofílico (S_N) de éster de ácido p-toluenossulfônico de celulose (tosilcelulose) com aminas ou por conversão de tosilcelulose com azida de sódio e redução subsequente da azida à porção amina (Petzold-Welcke et al., 2009; Zieger et al., 2015). Ou seja, esta reação tem como ponto de partida a tosilcelulose, onde as reações de S_N podem ser realizadas na posição primária 6 aplicando di-eoligo-aminas. Para evitar qualquer reticulação, é empregue um excesso de amina bi ou multifuncional. A esterificação dos grupos hidroxilo secundários podem ser aplicadas para ajustar a solubilidade dos derivados deste biopolímero. As variações na estrutura da amina são: os comprimentos do espaço ajustável, diferentes valores de pKa, as distribuições de carga, o equilíbrio hidrofílico/lipofílico e propriedades cromogénicas redox (Heinze, Siebert, et al., 2016; Heinze et al., 2019).

Segundo Heinze, et al., (2016), após a transformação dos grupos hidroxilo em bons grupos de saída, em particular para tosilar, uma reação S_N pode ocorrer quase exclusivamente na posição primária da AGU. A reação de uma porção tosilato ocorre através de um mecanismo de S_N , ou seja, um estado de transição aparece contendo cinco átomos que dificilmente são formados nas posições secundárias da AGU modificada, sendo necessária a utilização de reagente em excesso de 10–25 mol por mol de AGU por repetição modificada para evitar qualquer reticulação. Os derivados de aminocelulose solúveis podem ser formados pelo procedimento geral representado na **Figura 11**.

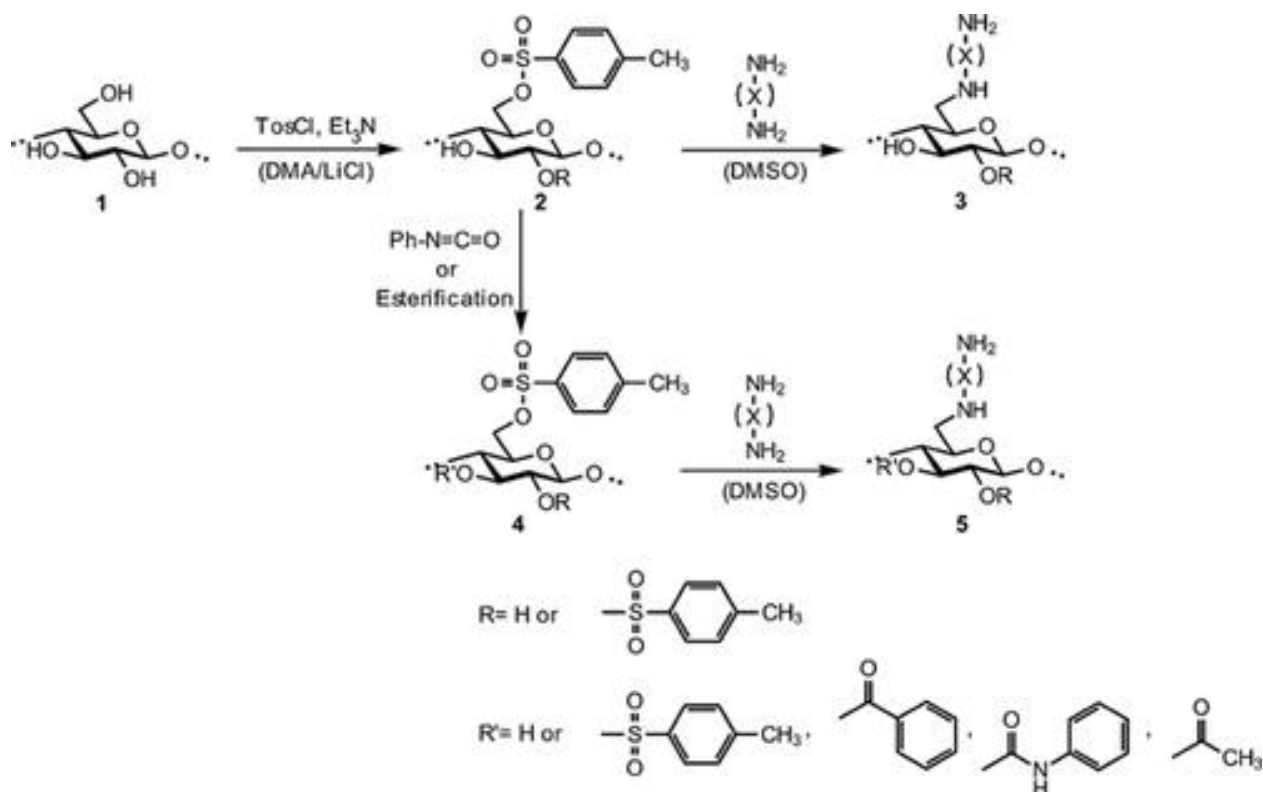


Figura 11 – Esquema de via geral da estrutura de um novo tipo de amino celulose solúvel (Heinze et al., 2016).

Conforme o ilustrado no esquema da **Figura 11**, segundo Heinze *et al.* (2016), esta reação dá-se em três etapas principais:

- I. Tosilação de celulose (1) produzindo 6 (2) -O-tosil celulose (2);
- II. Reação de deslocamento nucleofílico de **2** com di- ou oligoaminas produzindo 6-desoxi-6-amino celulose (tosilato de amino celulose) **3**, ou
- III. Esterificação dos restantes grupos OH da celulose de tosilo (2) obtendo-se 6 (2) -O-tosilo celulose éster (4) anterior S, reacção por oligoaminas di- e que conduzem a éster AC (5).

Em que a síntese de tosilcelulose (**2**) é realizada preferencialmente em DMA/LiCl como solvente sob condições de reação homogêneas com TsCl na presença de trietilamina (Th Heinze & Rahn, 1996; McCormick et al., 1990).

3. Importância dos acabamentos antimicrobianos nos têxteis

Os têxteis são reconhecidos há muito tempo como um meio propício ao crescimento de microrganismos, principalmente bactérias e fungos, pois proporcionam um ambiente excelente para o crescimento e proliferação destes. O crescimento microbiano em têxteis durante o uso e armazenamento impõe uma série de efeitos indesejáveis para os têxteis, bem como para os usuários. Esses efeitos incluem geração de odores desagradáveis, descoloração, formação de mofo, degradação do vestuário, infecção dérmica, respostas alérgicas e outras doenças relacionadas (Shahid et al., 2013). A contaminação de materiais têxteis é resultado da aderência microbiana na superfície, e é uma das complicações clínicas vitais, o que justifica o desenvolvimento de novos compostos ou a modificação dos compostos já disponíveis (Dias et al., 2021; Fernandes & Filgueiras, 2008; Y. Zhang et al., 1999).

O elevado número de casos de infecções causadas por microrganismos resistentes a fármacos ocasiona o aumento da mortalidade, dos riscos dos procedimentos médicos e dos custos com a saúde. Nesse cenário, o alto crescimento de patógenos nocivos tem desafiado os pesquisadores para a investigação de reagentes antimicrobianos (Fernandes & Filgueiras, 2008; Y. Zhang et al., 1999). Essa problemática é de particular importância em hospitais, onde grandes esforços são necessário no combate as infecções (Pan et al., 2019).

Vários antibióticos foram descobertos e utilizados para a prevenção de infecções bacterianas patogênicas, sejam elas gram-positivas ou gram-negativas, no entanto o uso excessivo e até mesmo o abuso de antibióticos aceleram a variação da resistência antibiótica das cepas bacterianas, o que leva à redução significativa da sensibilidade destas à maioria dos antibióticos (Lv et al., 2020; Ning et al., 2020).

Geralmente, essas infecções são combatidas com agentes antimicrobianos, que são suscetíveis à sua ação, no entanto os microrganismos resistentes são particularmente problemáticos pois sofrem mutação de forma rápida e fácil, dificultando sua eliminação e aumentando sua multiplicação (Pan et al., 2019). Pois o uso excessivo de antibióticos aceleram a variação da resistência antibiótica das cepas bacterianas, e à redução significativa de sensibilidade à maioria dos antibióticos (Fernandes & Filgueiras, 2008; Y. Zhang et al., 1999). Como por exemplo, a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, (uma das maiores causadoras de infecções leves e graves que necessitam de assistência à saúde) tem-se tornando cada vez mais resistente a alguns antibióticos. Outra bactéria comum na pele e mucosa humana é o *Staphylococcus aureus*, que pode ser problemático e ainda, ocasionar doenças leves, graves e até ser potencialmente fatal, seja pelo contacto com cortes na pele, de feridas, eczema infetado, infecções por abscessos e outras (Pan et al., 2019).

Portanto, os consumidores em todo o mundo procuram roupas e outros produtos têxteis que proporcionem maior conforto e permaneçam frescos, higiénicos e livres de odores durante o uso, seja para uso profissional ou não. O reforço dos hábitos de higiene em tempos de pandemia (Covid-19) aumentou a demanda por produtos antimicrobianos para diminuir a disseminação de microrganismos e prover a sensação de segurança e bem-estar aos consumidores (Dias et al., 2021). Assim, a investigação de métodos inovadores para o desenvolvimento de produtos têxteis antimicrobianos, com aplicações em processos de acabamento têxtil e em problemas existentes na área é a necessidade do momento.

A perspectiva de crescimento do mercado têxtil para 2025, tem uma projeção de aproximadamente 3,3 bilhões de dólares (Zion Market Research, 2020). Atualmente são desenvolvidos inúmeros produtos com aditivos antimicrobianos para os ambientes hospitalar, industrial e doméstico, dentre eles pode-se destacar: os têxteis hospitalares e cirúrgicos, vestuário profissional e para calçados. Nesse cenário, os novos desafios, bem como oportunidades na fabricação de têxteis antimicrobianos são preocupações crescentes na indústria têxtil e de vestuário, devido as exigências do mercado por têxteis inteligente e funcionais.

Nesse sentido, compostos antimicrobianos para adição em têxteis tem sido um dos principais campos de estudo na produção de têxteis funcionais. E o número de diferentes agentes antimicrobianos adequados para aplicações têxteis no mercado tem aumentado drasticamente. Estes agentes antimicrobianos diferem na sua estrutura química, eficácia, método de aplicação, resistência à lavagem e toxicidade ao ser humano e o meio ambiente, bem como custo de produção (Vieira, 2006). Dentre os agentes para aplicação em materiais têxteis antimicrobianos, são exemplos, o uso do peróxido de hidrogénio, do ácido peracético, compostos quaternários de amónio, fenóis halogenado como triclosano, as N-haloaminas, o quitosano, organometálicos, fenóis, polibiguanidas, nanopartículas de metais nobres e óxidos metálicos e produtos bioativos à base de plantas (Gao & Cranston, 2008; Simoncic & Tomsic, 2010). Os desafios adicionais a atividade antimicrobiana, são o uso de matérias-primas renováveis, atóxicos, biocompatíveis, de relativo baixo custo e que permita completar seus ciclos naturais e retornar à natureza.

É nesse sentido em que Pan et al. (2019) enfatiza que polímeros catiónicos ou policatiões com combinações adequadas de cadeias catiónicas e hidrofóbicas são compostos antimicrobianos promissores, devido ao seu amplo espectro de ação e atividade antimicrobiana permanente. Uma das principais vantagens é que embora estes materiais tenham diferentes eficiências antimicrobianas contra diferentes estirpes de bactérias, nenhuma resistência foi relatada, apesar de seu amplo uso por mais de 40 anos, mesmo após várias gerações de culturas de laboratório (Milović et al., 2005). Assim, diferentemente dos antimicrobianos

nanoestruturados metálicos, e outros agentes antimicrobianos, estes polímeros biocidas não apresentam efeitos de longo prazo ou do uso em larga escala (Krumm et al., 2014). Dessa forma oferecem uma alternativa aos antimicrobianos comuns e às nanopartículas de prata, pois mesmo com fortes propriedades bactericidas, os polímeros catiónicos têm baixa toxicidade humana, uma vez que as células bacterianas diferem consideravelmente das células humanas em sua estrutura e química (Bakhshi et al., 2013).

II. Metodologia

II. Metodologia

Este capítulo descreve a metodologia experimental, no que concerne à obtenção de celulose A, sínteses químicas, caracterização dos materiais desenvolvidos e utilizados no presente trabalho. São designados os reagentes, microrganismos, equipamentos, procedimentos e normas técnicas utilizados no decorrer do trabalho.

A primeira etapa experimental deste trabalho consistiu na realização de extração da celulose e pela sua caracterização físico-química. Posteriormente numa segunda etapa do trabalho, foram realizadas as sínteses para obter derivados celulósicos antimicrobianos solúveis em água, para tal empregou-se três abordagens diferentes: obtenção de Aminocelulose a partir de tosilcelulose; Conversão de celulose com lactamas para obter ésteres de celulose com funções amino catiónicas; E funcionalização da celulose com agente quaternizante CHPTAC. Nesta etapa foram empregues cinco tipos de celulose, dentre eles celulose proveniente de resíduos (A), celulose regenerada (B), α -celulose comercial (C), nano-alfa celulose (D) e carboximetilcelulose (derivado de celulose, sintetizada a partir da celulose A). Foi ainda realizada a caracterização física e química dos derivados obtidos. Numa terceira fase, os derivados celulósicos catiónicos solúveis em água foram submetidos a caracterização microbiológica quanto a sua atividade antimicrobiana.

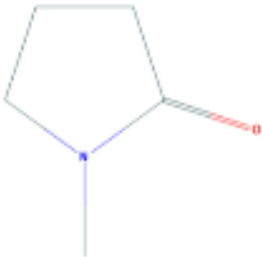
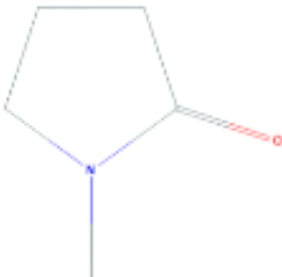
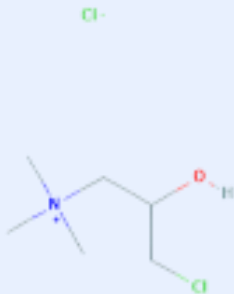
1. Materiais utilizados

Os reagentes usados no desenvolvimento deste trabalho estão nas **tabelas 1 e 2**:

Tabela 1 – Lista geral de reagentes.

Reagente	Sigla ou fórmula química
ϵ -caprolactama, 99 +%	$C_6H_{11}NO$
2-Pirrolidona, 99+%	C_4H_7NO
Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio	$C_8H_{15}BrN_2$
Ureia	CH_4N_2O
N, N-Dimetilacetamida, 99 +%	$CH_3CON(CH_3)_2$
Ácido clorídrico	HCl
Cloreto de lítio	LiCl
Ácido Cloroacético	$C_2H_3ClO_2$
Piridina	C_5H_5N
2-propanol	C_3H_8O
Ácido acético	CH_3COOH
clorofórmio (estabilizado com cerca de 0,6% de etanol)	$CHCl_3$
Dimetilsulfóxido	C_2H_6OS
Trietilamina	$C_6H_{15}N$
Etilenodiamina	$C_2H_8N_2$
Cloreto de 4-toluenossulfonil para síntese	$C_7H_7ClO_2S$
Metilpirrolidona, 99+%	C_5H_9NO
Ácido nítrico 69%	HNO_3
Hidróxido de Sódio	NaOH
Acetona	C_3H_6O
Etanol	C_2H_5OH
Cloreto de glicidil-trimetil-amônio	$(CH_3)_3NHCl$
Caldo Mueller-Hinton	Extrato de carne bovina, hidrolisado ácido de caseína e amido.
Solução salina	NaCl
Ágar	$C_{14}H_{24}O_9$
Metanol	CH_3OH
Cristal violeta	$C_{24}H_{28}N_3Cl$
Tampão fosfato-salino	$Cl_2H_3K_2Na_3O_8P_2$

Tabela 2 – Pureza, massa molar e estrutura química do agente de modificação usados nas modificações químicas.

Sigla	Lactama / Agente quaternizante	Massa molar / g.mol ⁻¹	Estrutura molecular
NMP	Metilpirrolidona (1-Methyl-2-pyrrolidinone), 99+%	99,13	
	ε-caprolactama, 99 +%	113,16	
	2-Pirrolidona, 99+%	85,1	
CHAPTAC	Cloreto de glicidil-trimetil-amónio	188,09	

Na **Tabela 3** são listadas as culturas celulares e bactérias empregadas nos testes microbiológicos.

Tabela 3 – Culturas celulares e bactérias utilizadas.

Identificação	Culturas celulares
ATCC 6538	<i>Staphylococcus aureus</i>
ATCC 11303	<i>Escherichia coli</i>
ATCC 10145	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ATCC 23235	<i>Staphylococcus aureus</i> (Biofilmes)
PAO1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Biofilmes)

*As estirpes bacterianas utilizadas provêm da ATCC (*American Type Culture Collection*).

2. Extração de celulose A

Foram coletados resíduos celulósicos provenientes de uma indústria portuguesa, os mesmos foram submetidos à seleção e limpeza. Para realizar a hidrólise ácida (**Figura 12**), utilizou-se 20 g de massa celulósica para 300 mL de ácido nítrico a $1 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, na proporção de 1:15. Esta mistura permaneceu em refluxo por aproximadamente 7-9 h, sem agitação. Após a hidrólise completa o material foi filtrado e lavado duas vezes com acetona e etanol em funil de placa porosa. Posteriormente realizou-se secagem em temperatura ambiente.

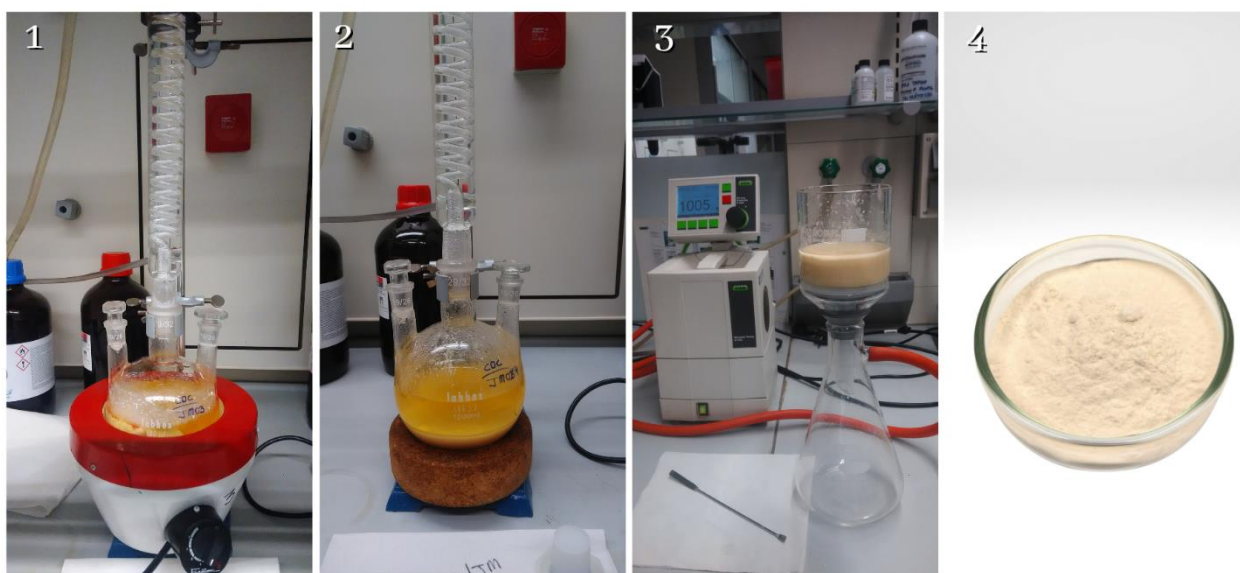


Figura 12 – Etapas da extração de celulose, (1) Resíduos celulósicos em ácido sob refluxo; (2) Arrefecimento; (3) Lavagem e filtração da celulose e (4) celulose em pó após secagem a temperatura ambiente.

3. Sínteses / Modificações químicas da celulose

São descritos os procedimentos genéricos para as reações de modificação química da celulose, de forma a melhor compreender as influências das diferentes características do polímero na sua derivatização. Foram empregues cinco tipos de celulose, sendo elas celulose A (Celulose proveniente de resíduos - $DP \approx 153 \sim 178$), celulose B (Celulose Regenerada, $DP \approx 63$), celulose C (celulose comercial - $DP \approx 134$), Celulose D (nano-alfa celulose, $DP \approx 50$), celulose E (derivado de celulose: carboximetilcelulose, $DS = 0,36$). O uso da carboximetilcelulose teve como objetivo verificar a possibilidade de se obter um composto zwitteriônico - com carga negativa proveniente da CMC e carga positiva proveniente do grupo amina introduzido.

3.1. Tosilcelulose (Amostra 25)

Para a síntese da tosilcelulose empregou-se a metodologia descrita por Heinze et al., (2016). Portanto, uma mistura de 5,0 g de celulose A (0,031 mol) em 150 mL de DMA permaneceu em agitação por 2 h a 120 °C. Posteriormente arrefeceu-se a temperatura para os 100 °C, adicionou-se 9 g de LiCl e manteve-se a agitação até a obtenção de uma solução de celulose límpida e viscosa. Após a completa solubilização da celulose, a solução foi arrefecida até os 8 °C, e então sob agitação adicionou-se uma mistura de 17,3 mL trietilamina e 17,5 mL de DMA. De seguida adicionou-se uma solução com 11,9 g de TsCl em 25 mL de DMA e manteve-se em agitação durante 24 h a 8 °C. Após este tempo de reação, o polímero foi recuperado por precipitação em 750 mL de água gelada, sendo ainda filtrado, lavado cinco vezes com água destilada e duas vezes com etanol. Por fim a tosilcelulose foi seca em estufa a 60 °C até se obter massa constante.

3.2. Carboximetilcelulose (CMC)

Para a síntese de carboximetilcelulose (celulose E), sob intensa agitação adicionou-se 5 g de celulose A e 133 mL de 2-propanol, acrescentou-se gota a gota uma solução de 13 mL de NaOH a 30% (m/v). A mistura permaneceu 1 h em agitação. Após elevar a temperatura a 55 °C, adicionou-se lentamente 6 g de ácido cloroacético ($ClCH_2COOH$), que se manteve 5h em agitação a essa temperatura. A CMC obtida foi filtrada, lavada com etanol e purificada, em uma solução aquosa de etanol a 80 % (v/v), sob agitação por 1 h. O polímero foi então filtrado, lavado com etanol e seco a temperatura ambiente.

4. Aminocelulose

4.1. Aminocelulose I (amostra 14)

Para obtenção de Aminocelulose I (6-desoxi-6-aminoetilamino), conforme o relatado por Heinze et al. (2016), misturou-se 1,0 g (0,0028 mol) de tosilcelulose (amostra 25) com 4,7 mL (0,7 mol, 12,5 mol / mol unidade de AGU modificada) de etilenodiamina a 100 °C por 5h. Após a mistura arrefecer para a temperatura ambiente, a celulose foi precipitada em 100 mL de acetona, filtrada em funil de placa porosa, lavada 2 vezes com acetona, 2 duas vezes com 2 - propanol e secou a temperatura ambiente. A aminocelulose seca passou ainda por diálise em solução aquosa de 50% etanol (v/v) por 24 h, e então foi submetida à filtração e secagem à temperatura ambiente.

4.2. AminoCelulose II (amostra 34)

Para conversão da tosilcelulose em Aminocelulose II (6-desoxi-6-aminoetilamino) recorreu-se a metodologia descrita por Zieger et al., 2015. Para tal, uma mistura de 0,5 g (1,6 mmol) de tosilcelulose (amostra 25) em 10 mL de DMSO foi agitada por 5 minutos, então adicionou-se 2,7 mL (40,5 mmol, 25 mol por mol por AGU) de etilenodiamina. A mistura permaneceu em agitação por 6 h a 100 °C. Após o resfriamento a temperatura ambiente, o polímero foi recolhido por precipitação em acetona (300 mL), lavado 3 vezes com acetona e 2 vezes com etanol e então seco a 60 °C a temperatura ambiente.

5. Modificação com recurso a lactamas

Neste trabalho foram realizadas reações homogêneas e heterogêneas para a conversão de celulose com lactamas - ϵ -caprolactama, 1-Metil-2-pirrolidinona e 2-pirrolidinona - na presença de TsCl para obter ésteres de celulose com funções catiónicas, em diferentes condições de tempo e temperatura, conforme o ilustrado na **Figura 13**.

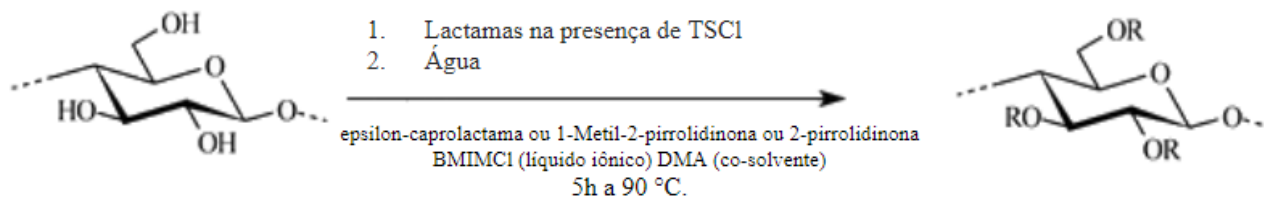


Figura 13 – Conversão de celulose com lactamas na presença de TsCl para obter ésteres de celulose catiónicos. Adaptado de Zarth et al., 2011.

5.1. Épsilon-caprolactama (ϵ -caprolactama)

5.1.1. Reação com - ϵ -caprolactama com solubilização (amostra 03)

Para realizar uma reação homogênea, fundiu-se 4,5 g de BMIMCl (Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio) a 90 °C e adicionou-se 0,5 g de celulose A (3,1 mmol). A mistura permaneceu em agitação por 6 h para total solubilização da celulose. Posteriormente, adicionou-se 10 mL de dimetilacetamida (DMA), reduziu-se a temperatura para os 40 °C e adicionou-se 1,18 g de TsCl (6,2 mmol, 2 mol/mol AGU) e 0,701 g de ϵ -caprolactama (6,2 mmol, 2 mol/mol AGU). A solução permaneceu em agitação por 16h a 40°C. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de água destilada gota-a-gota para abertura do anel da lactama e agitou-se por 30 minutos. A celulose modificada foi isolada por precipitação em solução de etanol:acetona (1:1 v/v), lavada com acetona e seca a temperatura ambiente (Zarth et al., 2011).

5.1.2. Reação com - ϵ -caprolactama com CMC (amostra 36)

Uma mistura de 10 mL de DMA e 0,5 g de carboximetilcelulose (Celulose E) foi agitada por 30 minutos a 90 °C, e então adicionou-se uma solução com 1,18 g de TsCl (6,2 mmol, 2 mol/mol AGU) e 0,701 g de ϵ -caprolactama (6,2 mmol, 2 mol/mol AGU) em 3 mL de DMA. A reação permaneceu em agitação por 5h, a

90°C. Após esse tempo adicionou-se 0,5 mL de água destilada gota-a-gota para abertura do anel da lactama e agitou-se por 30 minutos, o polímero foi precipitado em clorofórmio, filtrado, lavado 3 vezes com acetona e seco a temperatura ambiente. Esta metodologia foi desenvolvida neste trabalho e utilizada para a obtenção de celulose zwitteriônica (36).

5.2. 1-Metil-2-pirrolidinona (NMP)

5.2.1. Reação com NMP (amostra 19)

Fundiu-se 4,5 g de BMIMCl (Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio) a 90 °C e adicionou-se 0,5 g de celulose A (3,1 mmol). A mistura permaneceu em agitação por 16 h para total solubilização da celulose. Posteriormente, adicionou-se 10,6 mL de NMP e 1,18 g de TsCl (6,2 mmol, 2 mol/mol AGU) e a solução de reação homogênea permaneceu em agitação por 2h, à temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de água destilada gota-a-gota para abertura do anel da lactama e agitou-se por 30 minutos. O polímero foi isolado por precipitação em solução de etanol:acetona (1:1 v/v), e ainda lavado cinco vezes com acetona, realizou-se diálise por 72h e liofilização, metodologia adaptada de Zarth et al., (2011).

5.2.2. Reação com NMP / TsCl em NMP / LiCl como solvente (amostra 28)

Agitou-se por 2 h, a 120 °C, uma mistura de 1 g (6,2 mmol) de celulose A em 100 mL NMP. Após este tempo a temperatura foi reduzida para os 80 °C e adicionou-se 9g de Cloreto de lítio (LiCl). A mistura permaneceu em agitação sem aquecimento por 16 h, produzindo uma solução opticamente límpida. Posteriormente adicionou-se 2,7 mL de piridina (34 mmol, 5 mol/mol, AGU) e agitou-se por 10 minutos. Depois, adicionou-se 6,47 g (34 mmol, 5 mol / mol AGU) de TsCl e a reação permaneceu 5 h, à temperatura ambiente, sob agitação constante. Adicionou-se 10 mL de água destilada gota-a-gota para abertura do anel da lactama e agitou-se por 30 min. Isolou-se a celulose por precipitação em 800 mL de acetona/etanol (1: 1, v / v), filtrou-se, realizou-se cinco lavagens com acetona e o polímero foi seco à temperatura ambiente (Zarth et al., 2011).

5.3. 2-pirrolidinona (amostra 20)

Para realizar uma reação homogênea, fundiu-se 4,5 g de BMIMCl (Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio) a 90 °C e adicionou-se 0,5 g de celulose A (3,1 mmol). A mistura permaneceu em agitação por 6 h para total solubilização da celulose. Posteriormente, adicionou-se 10 mL de dimetilacetamida (DMA), deixou-se arrefecer

à temperatura ambiente, e adicionou-se uma mistura de TsCl (1,18 g, 6,2 mmol, 2 mol / mol AGU) e 2-pirrolidinona (0,5 mL, 6,2 mmol, 2 mol/mol AGU). A mistura de reação homogênea permaneceu sob agitação por 2 h. Adicionou-se 0,5 mL de água destilada gota-a-gota para abertura do anel da lactama e agitou-se por 30 minutos. A celulose foi isolada por precipitação em solução de etanol:acetona (1:1 v/v), foi lavada cinco vezes com acetona e seca a temperatura ambiente, metodologia adaptada de Zarth et al., (2011).

6. Reação de quaternização com cloreto de glicidiltrimetilamônio (CHPTAC)

Na obtenção de celulose quaternizada catiônica por eterificação empregou-se a metodologia descrita por (Li et al., 2015). Portanto, arrefeceu-se uma solução de 100 mL de NaOH-Uréia-H₂O (7–12–81%) e adicionou-se 2 g de celulose A. Esta mistura permaneceu 5 minutos sob intensa agitação antes de ser submetida a congelamento, por 24 h. Posteriormente, a mistura foi aquecida até temperatura ambiente e então, sob agitação constante, foram adicionadas 21 mL de CHPTAC lentamente. A reação de eterificação teve duração de 24 h a temperatura ambiente, sendo que depois a mistura foi neutralizada com HCl e o produto foi submetido a diálise por 3 dias (Mw cutoff = 14000) e liofilização. Este foi procedimento empregado para obter o derivado catiônico (16).

7. Técnicas de Caracterização

A celulose A extraída foi caracterizada em termos de grau de polimerização e cristalinidade, através de técnicas como FTIR-ATR, análise termogravimétrica, calorimetria diferencial de varrimento microscopia, que atuaram como base para o estudo da estrutura e propriedades da celulose utilizada.

As celulosas modificadas foram avaliadas através das seguintes técnicas: FTIR-ATR, análise elementar, análise termogravimétrica, espalhamento de luz eletroforética e ainda foi avaliada quanto a capacidade antimicrobiana, que permitiram conhecer melhor a influência da modificação química nas propriedades da mesma.

7.1. Viscosimetria capilar para determinação da massa molar e grau de polimerização

Viscosimetria é o método mais empregado para a determinação do peso molecular médio da celulose em aplicações industriais. Os polímeros são, em geral, menos solúveis do que seus monômeros correspondentes. No entanto a dissolução de polímeros em solventes leva a um aumento da viscosidade e quanto maior o comprimento médio da cadeia das moléculas de polímero, mais a viscosidade muda (conhecida

como viscosidade positiva). Dessa forma, a viscosidade de uma solução pode ser facilmente medida, utilizada no cálculo de massa molar média da viscosidade e posteriormente na determinação do DP médio da celulose (Oberlerchner et al., 2015).

A viscosidade de uma solução aumenta pela presença de solutos macromoleculares devido ao elevado atrito intermolecular, este efeito é notável, mesmo em concentrações baixas, pois as moléculas de grande porte alteram o escoamento do fluido ao longo de extensas regiões nas vizinhanças delas (Atkins et al., 2014). Esse aumento da viscosidade, numa solução devido ao soluto, pode ser expresso pela viscosidade cinemática:

$$\eta_{\text{cin}} = \eta_{\text{din}} / \rho = k^* t \quad (1)$$

onde η_{din} é a viscosidade dinâmica, expressa em mPa.s, ρ é a densidade do fluido, expressa em Kg/m³, k é a constante geométrica do viscosímetro, expressa em mm²/s², e t é o tempo de escoamento, expresso em segundos.

Pelo mesmo procedimento, é possível obter o tempo de escoamento e a viscosidade do solvente puro. Com isso, relacionando a viscosidade dinâmica da solução com a do solvente, é possível obter a viscosidade relativa:

$$\eta_r = \eta_s / \eta_0 \quad (2)$$

onde η_s é a viscosidade dinâmica da solução e η_0 a do solvente puro. Com esse dado, obtém-se a viscosidade específica:

$$\eta_{\text{esp}} = \eta_r - 1 \quad (3)$$

Com esse parâmetro, relacionando-o com a concentração da solução, é possível obter a viscosidade reduzida:

$$\eta_{\text{red}} = \eta_{\text{esp}} / c \quad (4)$$

Onde c é a concentração do polímero. Outro parâmetro importante é a viscosidade intrínseca do polímero η , que é uma função única para massa molecular para um determinado sistema polímero/solvente. Esta é obtida através da regressão linear da viscosidade específica em função da concentração de polímero. E a partir da aplicação da equação Mark-Houwink-Sakurada (MHS), é possível relacioná-la com a massa molar média viscosimétrica M_v , sendo que o sistema polímero/solvente deve estar a uma temperatura específica:

$$[\eta] = K * M_v^a \quad (5)$$

onde K e a são constantes empíricas que dependem, exclusivamente do sistema polímero/solvente/temperatura de trabalho.

Assim a viscosidade de fluidos newtonianos pode ser medida em viscosímetros capilares, onde se mede o tempo de escoamento do fluido através do capilar e relaciona-se esse tempo ao do escoamento do solvente. Este método é conveniente para a medida de $[\eta]$, pois a razão entre a viscosidade da solução e a do solvente puro é proporcional à razão entre os tempos de escoamento t e t_0 , realizando as correções das densidades (Budtova & Navard, 2015; Oberlerchner et al., 2015; Zhou et al., 2004)

Nesse sentido um viscosímetro capilar ubbelohde foi utilizado para determinar massa molar viscosimétrica e o grau de polimerização das amostras de celulose, foram utilizadas soluções com concentrações de 0,50%, 0,75%, 1,0% e 2,0% (m/v), e como solvente uma solução aquosa de 4% de hidróxido de sódio (m/v) e 6% de ureia (m/v). Misturou-se a celulose em 25 mL de solvente e após agitação das mesmas, foram submetidas a congelamento por 24 horas para completo intumescimento e solubilização da celulose. As amostras foram descongeladas até atingirem a temperatura ambiente para a realização da medição do tempo de escoamento (segundos) em triplicato, a temperatura de 25 °C (controlada por banho termostaticado).

Após a determinação do tempo de escoamento, determinou-se através das equações (1) - (4) as viscosidades cinemática, relativa, específica, reduzida e a intrínseca (**Anexo 1**). Através da equação (5), equação de Mark-Houwink-Sakurada, foi possível determinar a massa molar viscosimétrica e o grau de polimerização da celulose A (**Figura 14**).

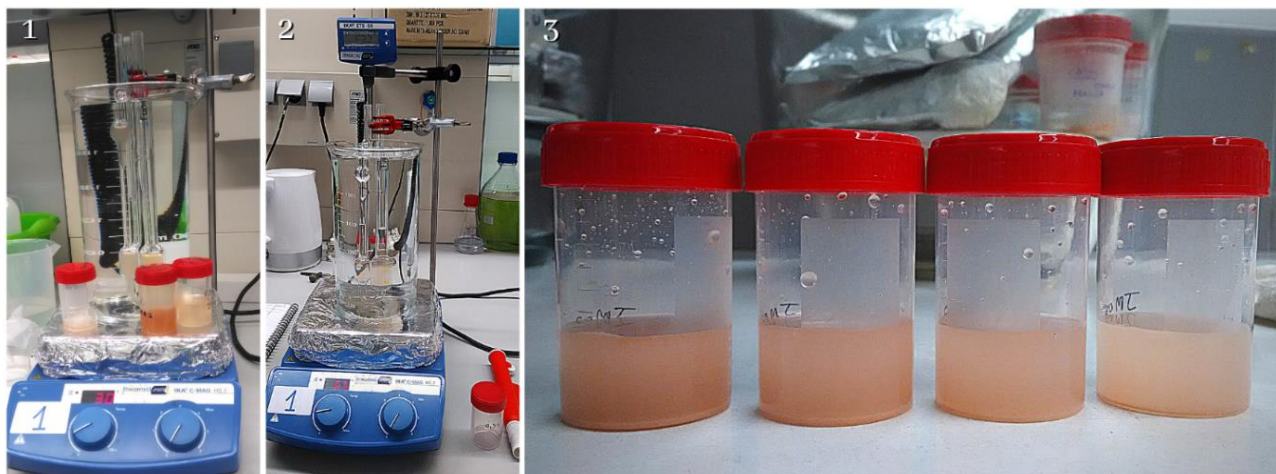


Figura 14 – (1, 2) Foto da realização de viscosimetria capilar, usando o viscosímetro de tubo em U Ubbelohde e (3) foto das soluções de celulose diluídas.

7.2. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR)

Todas as amostras de celulose e os seus derivados modificados foram analisadas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR) num equipamento PerkinElmer Spectrum 100 Versão 10.4.00. Foram obtidos espectros na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} . Este recurso analítico não destrutivo para análise molecular qualitativa, é uma das técnicas mais empregadas para a identificação de materiais poliméricos, visto que diferentes grupos funcionais que compõem as moléculas absorvem a radiação na região do infravermelho do espectro eletromagnético em comprimentos de onda característicos, permitindo identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânicas (Skoog et al., 2002). Portanto, auxiliou no estudo das modificações realizadas na celulose e na avaliação dos grupos funcionais presentes.

7.3. Termogravimetria (TGA)

A análise termogravimétrica, é uma técnica que permite avaliar perda de massa de um polímero em função da temperatura ou tempo, de uma amostra que é submetida a um programa com temperatura e atmosfera controladas. O conhecimento do perfil térmico das amostras de celulose, o conteúdo dos componentes voláteis, o comportamento de decomposição e conteúdo de cinzas são importantes, pois a cinética destes processos são fundamentais para determinar a curva de estabilidade térmica e envelhecimento

devido a processos térmicos e termo oxidativos, bem como a relação destes com modificação química da estrutura da celulose (Prime et al., 2008). As curvas termogravimétricas das amostras de celulose A e de seus derivados (Catiônico 16 e zwitteriônico 36) foram obtidas em equipamento TGA 209 F1 Libra da Netzsch, com fluxo de ar sintético e programação de aquecimento de 30 a 700 °C, com velocidade de aquecimento de 20 °C por minuto.

7.4. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) para determinação do índice de cristalinidade

O DSC consiste numa técnica na qual a diferença de fluxo de calor entre a amostra e uma referência é monitorada em função do tempo ou da temperatura, enquanto a temperatura média da amostra, em atmosfera específica, é controlada. As medidas no DSC relacionam fluxo de calor com as transições do material, sendo diretamente proporcional à mudança na energia interna (entalpia) da amostra, obtendo informações qualitativas e quantitativas sobre variações químicas e físicas associadas a processos exotérmicos e endotérmicos e sobre a capacidade calorífica (Lucas et al., 2001). Dessa forma a cristalinidade da celulose pode ser estimada por DSC, uma vez que há uma relação direta entre a área do pico endotérmico e a cristalinidade da amostra, pois nas zonas cristalinas a celulose não absorve água, e o pico endotérmico obtido no DSC corresponde às zonas amorfas da celulose. Para tanto, assumindo que as zonas amorfas são diretamente proporcionais à acessibilidade para absorver água, deduz-se que a energia necessária para desidratar a amostra está diretamente relacionada com as frações amorfas da celulose.

Neste trabalho fez sentido caracterizar a nível de índice de cristalinidade somente a amostra de celulose A, uma vez que esta foi obtida através de um procedimento de extração interno do CeNTI. Resumidamente, a amostra de celulose A foi seca em estufa a 100 °C por 3 h para garantir que não continha água e as medições calorimétricas foram obtidas num *Power compensation Diamond DSC (Perkin Elmer)*, com um *Intracooler ILP*, em atmosfera de Azoto, 20 mL/min, com razão de aquecimento de 20 °C/min. A amostra, de aproximadamente 5 mg em cadinho de alumínio, foi submetida a um ciclo de aquecimento/arrefecimento: o primeiro de 30 a 200 °C, ao qual permaneceu 1 minuto, e o segundo ciclo de 200 °C a 30 °, com velocidade de varrimento a 20 °C/minuto. A análise foi realizada em duplicado e o índice de cristalinidade foi determinado pela seguinte equação:

$$CI \% = \frac{(\Delta H_o - \Delta H_s)}{\Delta H_o \times 100}$$

Onde ΔH_o é a entalpia necessária para desidratar uma amostra de celulose completamente amorfa, em J/g, e ΔH_s é a entalpia necessária para desidratar a amostra a ser medida, em J/g. Para o cálculo da cristalinidade foi utilizado um valor tabelado de entalpia de 216,04 J/g para a amostra amorfa.

7.5. Morfologia por microscopia ótica e eletrônica

Em relação ao estudo morfológico da celulose A, foi observada por microscopia ótica num microscópio. Para obter micrografias com maior resolução e informações da superfície, o polímero (celulose A) e de seus derivados (Catiônico 16) foram analisados com recurso a microscopia eletrônica de varrimento (SEM). O equipamento utilizado neste trabalho foi um microscópio eletrônico de varrimento de ultra alta resolução Pegasus X4M da marca EDAX com um sistema integrado de microanálise por energia dispersiva de raios-X. As amostras foram colocadas sobre fita adesiva carbono em porta-amostra e recobertas com uma fina camada de ouro para serem analisadas no microscópio eletrônico de varredura.

7.6. Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)

As amostras (celulose A e seu derivado Catiônico 16) foram ainda analisadas quanto aos elementos químicos constituintes, por Espectroscopia de raios X por dispersão em energia, utilizando-se o conjunto de periféricos e detetores de radiação integrada ao Microscópio eletrônico de varredura (EDXMA) e difração de elétrons retrodifundidos (EBSD), para obtenção de informações semiquantitativas da composição da amostra.

7.7. Análise elementar

A análise elementar foi realizada nas amostras secas de celulose e seus derivados (Catiônico 16 e Zwitteriônico 36), para determinar a composição elementar de CHNS. Para isso foi utilizado o equipamento Truspec 630-200-200. As amostras foram analisadas num forno de combustão a 1075 °C.

7.8. Espalhamento de luz eletroforética (ELS) - Potencial Zeta

Sendo o potencial Zeta um importante parâmetro para medir a carga elétrica da superfície, empregou-se a técnica de ELS para avaliar a carga superficial das amostras de celulose catiónica com CHPTAC (Catiónico 16), da CMC, e da CMC modificada com lactama (Zwitteriônico 36). As soluções aquosas de 1 mg/mL foram medidas em células Dip de 0,7 mL, a 25 °C usando um analisador Zetasizer Nano SZ (Malvern). Foram ajustadas as corridas pelo sistema Dispersion Technology Software (DTS) com processamento monomodal e teve-se em consideração os valores de erro e o potencial zeta médio (mV).

7.9. Avaliação da capacidade antimicrobiana

7.9.1. Concentração inibitória mínima (MIC - Minimum inhibition concentration) e ensaio concentração bactericida mínima (MBC - Minimum bactericidal concentration)

Foram realizados ensaios de MIC com microdiluição em placas de 96 poços para avaliar as atividades antibacterianas dos derivados de celulose catiónica para *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Foram preparadas diluições do derivado de celulose catiónico (16), zwitteriônico (36) e da CMC a concentrações de 60, 50, 40, 30, 25, 20, 15, 10, 7,5 e 5 mg/mL em água destilada, foram adicionadas alíquotas de 50 µL por poço a placa de 96 poços.

Previamente à realização dos experimentos, as amostras bacterianas foram recuperadas em caldo Mueller-Hinton, e incubadas a 37°C durante a noite, após a medição da densidade ótica foram preparados os inóculos em caldo Mueller-Hinton para *E. coli* (10⁶ UFC/mL), *S. aureus* (10⁵ UFC/mL) e *P. aeruginosa* (10⁶ UFC/mL). Em seguida, um volume de 50 µL de solução bacteriana foi adicionado em cada poço as placas de 96 poços. Como controlo de crescimento empregou-se o respetivo organismo bacteriano, como controlo de esterilidade² o caldo Mueller-Hinton e ainda a CMC atuou como controlo de referência para a celulose. As placas foram incubadas a 37 °C durante a noite, após a leitura da absorbância a 600 nm foram identificadas as MICs, que é considerada como a concentração mais baixa de um antimicrobiano que inibe o crescimento visível de

² O conceito de esterilidade é definido como a ausência de microrganismos viáveis (Bowman, 1969). A esterilidade do ensaio depende das condições do protocolo utilizado e deve ser confirmada pelo ensaio de esterilidade, em que se utiliza uma amostra representativa do meio utilizado por exemplo, para que indique a ausência de microrganismos viáveis.

um microrganismo após a incubação durante a noite (Andrews, 2001), realizaram-se três ensaios em condições independentes, com diluições em triplicado.

Para a observação do MBC (**Figura 15**), foi retirada uma alíquota 10 µL dos poços em que não foi observado o crescimento bacteriano no ensaio de MIC, e foi diluída em 990 µL de solução salina, novamente, preparou-se uma solução (1:10), foram inoculadas diferentes placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton com 50 µL, e incubadas por 24 horas a 37 °C, bem como os controles de esterilidade contendo ágar Mueller-Hinton e uma alíquota de 50 µL dos poços em que foi adicionado somente caldo Mueller-Hinton. Após esse período foram observadas as placas onde ocorreu crescimento microbiano, pois a concentração bactericida mínima (MBC) é a concentração mais baixa de um antimicrobiano que impedirá o crescimento de um microrganismo após a incubação (Andrews, 2001). Foram realizados três ensaios em condições independentes.

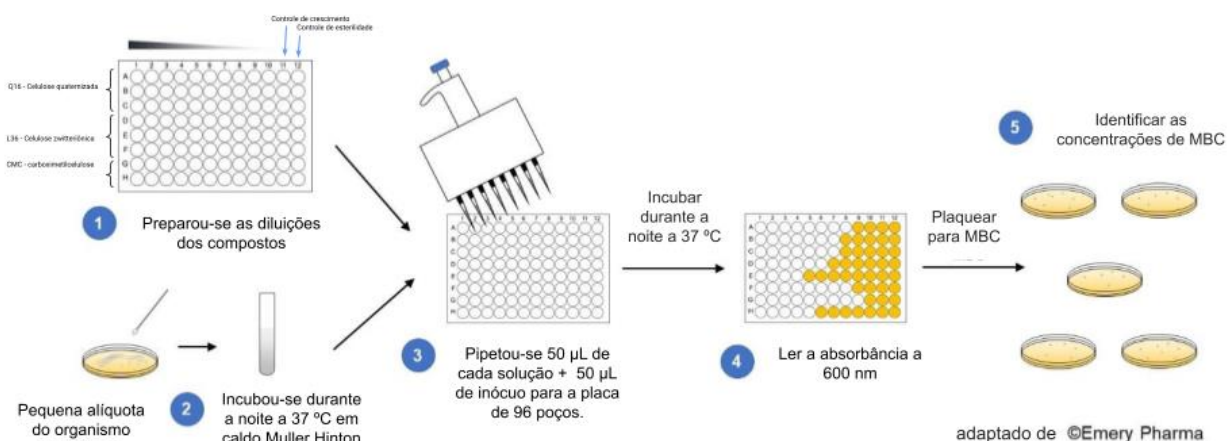


Figura 15 – Passo a passo ilustrativo do protocolo de MIC e MBC. (Adaptado de Pharma, n.d.).

7.9.2. Protocolo de inibição de produção de biofilme (MBIC)

A MBIC é a concentração mais baixa de um agente antimicrobiano que não resulta em crescimento de biofilme detetável. Para este ensaio foram preparadas soluções a 60, 50, 40, 30 e 25 mg/mL em água destilada, alíquotas de 50 µL foram adicionadas em cada poço da placa de 96 poços. Previamente à realização dos experimentos, as amostras bacterianas foram recuperadas em caldo Muller Hinton, e incubadas a 37°C durante a noite, após a medição da densidade ótica foram preparados inóculos diluídos com caldo Muller Hinton de *S. aureus* (10⁵ UFC/mL) e *P. aeruginosa* (10⁶ UFC/mL). Em seguida, um volume de 50 µL de solução

bacteriana foi adicionado a cada poço das placas de 96 poços. Como controlo de crescimento empregou-se o respetivo organismo bacteriano, como controlo de esterilidade o caldo Muller Hinton e ainda a CMC atuou como controlo de crescimento para a celulose. As placas foram incubadas a 37 °C durante a noite, no dia seguinte as bactérias foram removidas e fixadas com 200 µL de metanol por 5 minutos. Após a fixação, procedeu-se a coloração com 200 µL de solução de cristal violeta a 0,2% por 5 minutos, o meio foi então lavado 3 vezes com PBS e adicionou-se 200 µL de uma solução de ácido acético a 33% em PBS para a solubilização dos cristais. Dessa forma, a MBIC foi quantificada pela coloração das bactérias com cristal violeta com medição da absorbância a 570 nm (SpectraMax Plus 384). Poços contendo meio estéril atuaram como branco para todas as leituras de absorbância, a cultura bacteriana como controle positivo e a CMC como parâmetro para a celulose sem grupos catiónicos, realizaram-se três ensaios em condições independentes e em triplicata (**Figura 16**).

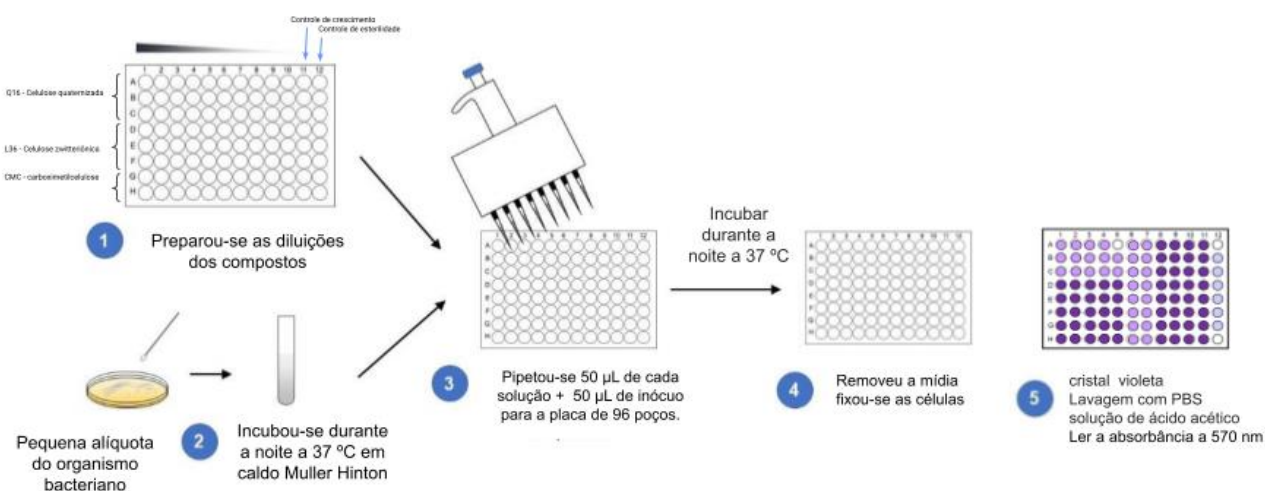


Figura 16 – Passo a passo ilustrativo do protocolo de MBIC. (Adaptado de Pharma, n.d.).

III. Resultados e Discussões

III. Resultados e Discussões

Nesta secção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos ao longo deste trabalho. Em primeiro lugar discorre-se sobre as técnicas de caracterização referentes a extração e caracterização da celulose A obtida de resíduos, da obtenção carboximetilcelulose e das demais fontes empregadas como ponto de partida para a obtenção de derivados antimicrobianos.

Em seguida foram abordadas as informações pertinentes das reações de modificação química desenvolvidas com recurso a lactamas, obtenção de aminocelulose e com agente de derivatização CHPTAC. Para fins de aplicação neste trabalho foi coerente realizar caracterização detalhada somente dos derivados solúveis em água, tendo em vista a aplicação em têxteis por metodologias convencionais. Por fim, apresentar-se-á a caracterização microbiológica dos derivados de celulose catiónica 16 e Zwitteriônica 36.

1. Extração e caracterização da celulose

A extração de celulose A a partir de resíduos celulósicos deu-se por hidrólise ácida, empregou-se um procedimento utilizado anteriormente no CeNTI via refluxo, após a lavagem e secagem obteve-se um pó de celulose homogêneo, que foi submetido a análise por FTIR-ATR para confirmar sua estrutura química.

Na **Figura 17** é possível observar micrografias da celulose A obtida por microscopia eletrônica de varredura, onde podem ser identificadas a fibra de celulose que se apresenta com estrutura uniforme e densa, onde podem ser observados as torções típicas da fibra do polímero (outras micrografias no **Anexo 2**).

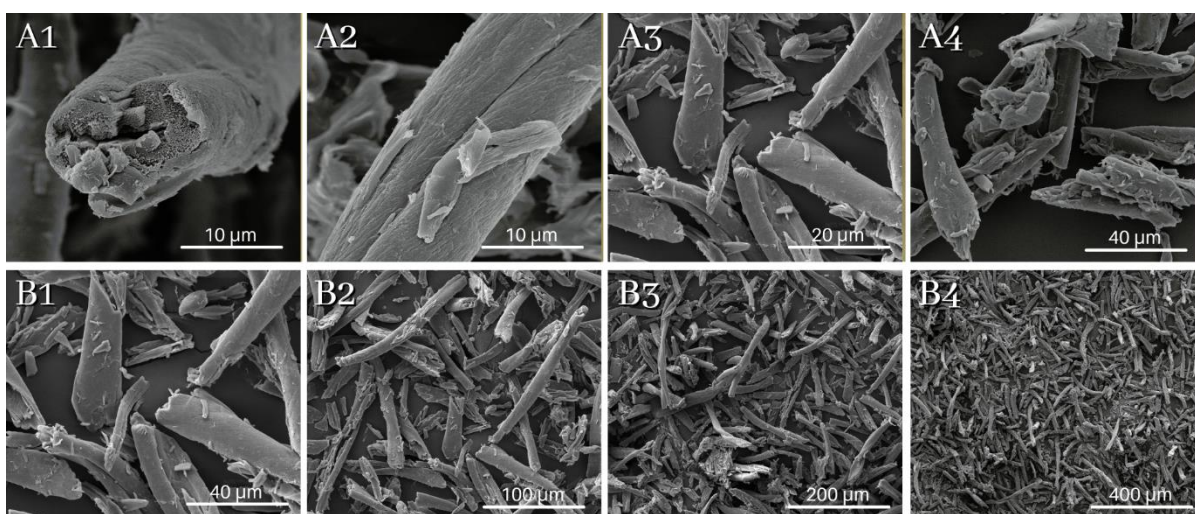


Figura 17 – Micrografias obtidas utilizando microscópio eletrônico de varrimento da celulose A. Cujas magnificações são (A1 e A2) 10000 x, (A3, A4 e B1) 2500 x, (B2) 500 x e (B4) 250 x;

1.1. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada

A **Figura 18** demonstra os espectros obtidos na análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada para as diferentes fontes de celulose empregadas nas reações de modificação química. De forma comparativa, observa-se pela construção dos espectros que há poucas diferenças nas bandas de absorção das celulosas A, B, C e D.

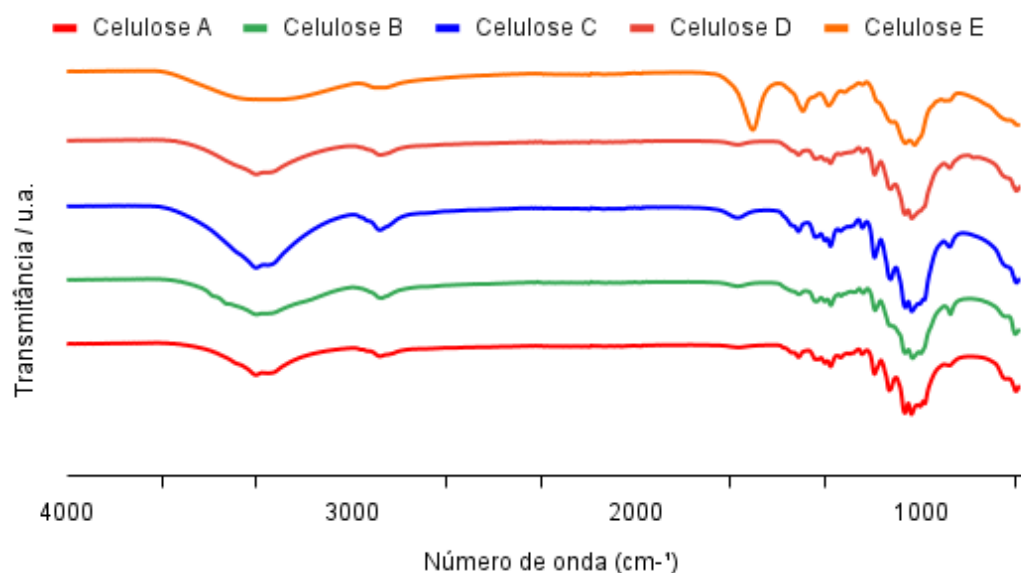


Figura 18 – Espectros FTIR das diferentes fontes de celulose utilizadas.

A celulose A obtida por hidrólise, correspondeu em 99% de semelhança a um espectro típico de celulose pura do banco de dados da *PerkinElmer Spectrum* Versão 10.4.00. Pode-se identificar nos respectivos espectros as bandas de absorção características. No caso das celulosas A, B, C e D, os picos observados na faixa do número de onda de 3330 - 2800 cm^{-1} são característicos da vibração de alongamento das ligações OH e CH em polissacarídeos. Este pico largo em 3336 cm^{-1} é característico para a vibração de estiramento do grupo hidroxila e inclui também vibrações de ligações de hidrogênio inter e intramoleculares na celulose. A banda em 2894 cm^{-1} é atribuída à vibração de estiramento CH de todos os constituintes de hidrocarbonetos em polissacarídeos. São observadas bandas típicas atribuídas à celulose na região de 1642 - 1051 cm^{-1} . A banda localizada em 1642 cm^{-1} corresponde à vibração das moléculas de água absorvidas na celulose. E as bandas de absorção em 1428, 1361, 1335, 1315, 1160 e 1027 cm^{-1} pertencem a vibrações de alongamento e flexão

de ligações -CH₂ e -CH, -OH e CO na celulose. O pico em torno de 1400 cm⁻¹ está associado à estrutura cristalina da celulose, enquanto a banda em 984 cm⁻¹ é atribuída à região amorfa da celulose (Poletto et al., 2011, 2014; Popescu et al., 2011; Rosa et al., 2010).

Em relação a celulose E, a carboximetilcelulose, o aparecimento de picos em 1700 - 1500 cm⁻¹ (estiramento da ligação C=O) e 1400 cm⁻¹ (estiramento da ligação C-O) no espectro de IR é a indicação de que a reação de eterificação foi bem-sucedida (Hivechi et al., 2015).

1.2. Determinação da massa molar e grau de polimerização

A viscosimetria capilar foi utilizada para determinar a viscosidade intrínseca, posteriormente a massa molar e por fim estimar o grau de polimerização (DP) da cadeia celulósica. Os valores de DP das amostras de celulose diferem amplamente, dependendo origem e pré-tratamento. A **Tabela 4** apresenta os valores do grau de polimerização das celulosas utilizadas e observa-se que o maior valor de DP é atribuído a celulose comercial (C). Ou seja, é a que apresenta maior massa molar, a seguir a celulose A, obtida por hidrólise de resíduos celulósicos, com DP de 175, a celulose B com DP de 63 e por fim a menor cadeia polimérica refere-se a nanoalfacelulose (D) com DP de 50.

Tabela 4 – Resultados da análise de viscosimetria, cálculo de massa molar e grau de polimerização (DP).

Amostra	Viscosidade Intrínseca (mL.g ⁻¹)	Massa Molar (kDa)	DP
Celulose A	0,104	28,27 ± 0,05	174,52 ± 0,03
Celulose B	0,046	10,3 ± 0,3	63 ± 5
Celulose C	0,146	24,5 ± 4	266 ± 15
Celulose D	0,037	8,1 ± 0,3	50 ± 2

As celulosas B e D apresentam um DP baixo pois foram obtidas a partir de hidrólise ácida de fibras de celulose regenerada e α-celulose, respetivamente. Se por um lado as fibras de celulose regenerada já apresentam um DP baixo, quando submetidas a um processo de hidrólise obter-se-á um pó com um DP ainda mais baixo. Por outro lado, e apesar da α-celulose apresentar um DP maior, esta foi sujeita a uma hidrólise muito extensa para originar nano-alfacelulose e por isso era expectável obter-se valores de DP mais baixos. Ambas já se encontravam no laboratório do CeNTI sendo que neste trabalho apenas se extraiu a celulose A,

que apresenta um DP dentro dos valores de qualidade internos do laboratório do CeNTI para este tipo de fonte (resíduos celulósicos).

Como era de esperar, após a clivagem hidrolítica ácida o DP da celulose diminui, no entanto segundo Zarth (2011), o DP da celulose usada como material de partida não desempenha um papel muito significativo na síntese química. Mas, quanto maior o DP, maior é a viscosidade da mistura de reação e, portanto, pode torna-se mais difícil o controlo de temperatura da reação. Tendo em consideração este facto, neste trabalho foram usadas as diferentes celuloses de forma a averiguar qual seria a melhor fonte para obtenção de celulose antimicrobiana.

1.3. Termogravimetria (TGA)

Em relação análise termogravimétrica é de notar que apenas se analisou a celulose extraída neste trabalho (celulose A) pois as restantes já tinham sido analisadas anteriormente e o perfil térmico é extremamente semelhante ao observado para a celulose A. Assim, apenas está representada a curva para a celulose A. Pela **Figura 19**, observou-se que a decomposição da celulose A ocorreu em três etapas conforme o descrito por Zhang et al., (2015), em que na primeira etapa na faixa de 25 °C a 300 °C ocorreu a perda de peso inicial devido à perda de humidade superficial e água interna de celulose. A temperatura de degradação da celulose foi identificada por volta dos 300 °C na e a segunda etapa, onde a perda de peso aconteceu devido à decomposição da celulose. A terceira etapa da perda de peso foi causada pela oxidação de parcialmente celulose decomposta a 400 °C e carbonização (**Anexo 3**).

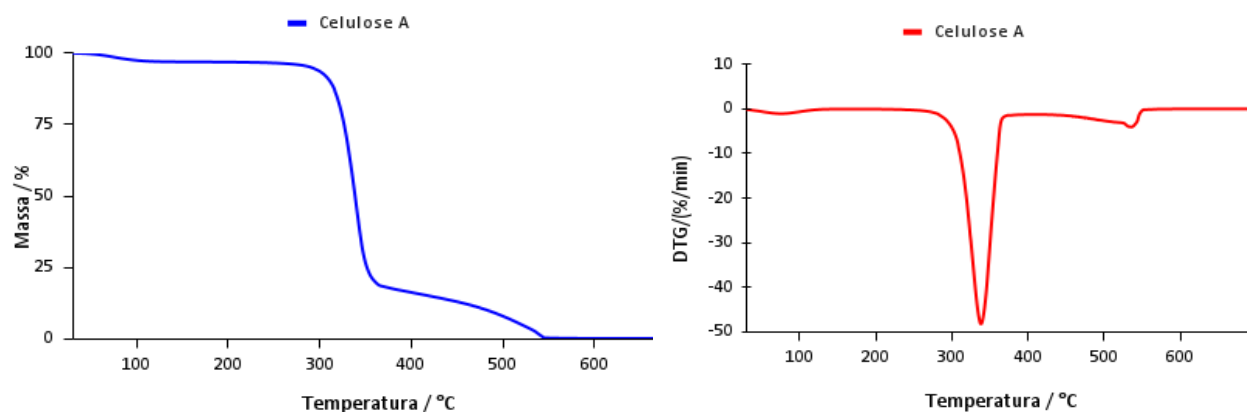


Figura 19 – Termograma da celulose A.

1.4. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) / Cristalinidade

A cristalinidade da celulose resulta parcialmente das ligações de hidrogénio entre as cadeias de celulose, entretanto algumas ligações de hidrogénio também ocorrem na fase amorfa embora a sua organização seja baixa.

Nesse sentido, a cristalinidade da celulose pode variar de acordo com o conteúdo inicial de estruturas amorfas determinado pelas mudanças induzidas nas cadeias de celulose devido aos processos de extração (Moon et al., 2011). Dessa forma recorreu-se a análise de Calorimetria Diferencial de Varrimento para obter-se os valores de cristalinidade da celulose A e B (**Tabela 5**). Neste caso, a celulose B foi escolhida para comparação pois por ser uma celulose que já passou por um processo de regeneração (logo é celulose II) apresentaria um índice de cristalinidade diferente.

Tabela 5 – Percentagem de cristalinidade das celulosas extraídas A e B.

Amostra	ΔH_c (J/g)	Cristalinidade (%)
Celulose A	97 ± 6	52,7
Celulose B	141 ± 14	34,7

O percentual de cristalinidade das celulosas A e B são inferiores a celulosas comerciais por volta de 60-70%, bem como celulosas nano estruturadas com $\sim 90\%$. O teor de cristalinidade encontrado para a celulose A (52%) é desejável, considerando que este influencia no grau de “inchamento” da celulose, pois, a água não penetra na região cristalina (Gharehkhani et al., 2015; Kongdee et al., 2004; Wan et al., 2011). Outro parâmetro a se ter em conta, é que a acessibilidade dos grupos hidroxilo nas regiões amorfa e cristalina são diferentes, e as AGUs das regiões amorfas tendem a ser mais substituídas do que suas contrapartes nas regiões cristalinas (Klemm et al., 1998; Law, 2004). No entanto, quanto maior a cristalinidade, maior será a área de superfície que poderá ser modificada. Os espectros experimentais de DSC originais estão dispostos no **Anexo 4**.

2. Modificação química da celulose

Nesta secção primeiramente serão apresentadas as informações referentes as reações de modificação química com diferentes condições e protocolos. Antes de analisar os resultados faz-se o esclarecimento de alguns conceitos como os tipos de solventes utilizados.

Existem apenas alguns solventes que dissolvem a celulose fisicamente, ou seja, sem formar uma ligação covalente, podem ser referidas as soluções alcalinas e os líquidos iónicos. A maioria dos solventes moleculares causa inchaço na celulose em graus variados, mas não a dissolução completa (El Seoud et al., 2013). O solvente empregue durante as reações com celulose deve romper as ligações de hidrogénio intramoleculares na AGU, as ligações de hidrogénio intermoleculares entre as cadeias do biopolímeros e as interações de van der Waals presentes pois a celulose é anfífila e tem uma superfície interna relativamente hidrofóbica (Lindman et al., 2017; Medronho et al., 2012). De acordo com a literatura, solventes de celulose eficientes são fortemente dipolares ou iónicos e são utilizados puros ou como soluções, geralmente dipolares apróticas. Assim a rutura dessas interações pode ser prontamente alcançada usando eletrólitos fortes (como por exemplo LiCl) em solventes apróticos dipolares (como por exemplo N,N-dimetilacetamida, DMAC, N-metilpirrolidin-2-ona e DMSO) (El Seoud et al., 2013).

Resumidamente, esses eletrólitos fortes dissociam-se dos solventes apróticos dipolares devido às suas altas polaridades e permissividades relativas. Assim, uma combinação de interações do sistema biopolímero-solvente, incluindo aquelas com os iões não solvatados, e/ou seus complexos com os solventes rompem a rede de ligações de hidrogénio presente, levando à dissolução do biopolímero (El Seoud et al., 2013).

Enquanto que os líquidos iónicos são bons solventes para celulose, devido ao seu carácter altamente anfífilico (podem ser caracterizados como tensoativos fracos), eles se encaixam bem no quadro de interações hidrofóbicas (Lindman et al., 2017; Medronho et al., 2012). Nas reações com lactamas, o NMP atua tanto como solvente quanto reagente pois é capaz de introduzir a fração de éster catiónico numa só etapa sem precisar de isolamento e purificação de intermediários (Zarth et al., 2011).

Dessa forma, nas sínteses desenvolvidas foram utilizados solventes duplos e co-solventes, ou seja, um sistema binário com o uso de líquidos iónicos e solventes apróticos dipolares ou eletrólitos fortes. Como por exemplo as combinações de BMIMCl/DMA; NMP; NMP/LiCl. Uma vez que a celulose esteja solubilizada, tem-se condições de reação homogéneas, facilitando assim a acessibilidade aos seus sítios reacionais o que permite uma derivatização mais eficiente.

2.1. Reações com Lactama

Foram realizadas reações homogêneas e heterogêneas para a conversão de celulose com lactamas- ϵ -caprolactama, 1-Metil-2-pirrolidinona e 2-pirrolidinona - na presença de TsCl para obter ésteres de celulose solúveis em água. Na **Tabela 6** estão listadas as diferentes condições usadas nas sínteses com variação de tipo de celulose utilizada, solventes, razão molar, tempo, temperatura e solubilidade em água.

Em relação a origem da celulose usada, foram realizadas sínteses com celulose A, B, C, D e E, com as mesmas condições de reação, no entanto os derivados não apresentaram solubilidade em água. Com exceção das amostras 3, 5 e 18, foram obtidos ésteres de celulose, confirmados por FTIR-ATR (Espectros no **Anexo 5**).

Tabela 6 – Condições e proporções das reações realizadas com lactamas, bem como dados referentes a sua solubilidade em água.

Celulose *	Solvente	Lactama **	Razão molar***			Temperatura (°C) ****	Tempo (h)	Nº Amostra	Solubilidade em Água	
			Lactama	TosCl	Py				Sim	Não
B	BMIMCl/DMA	1	2.0	2.0	-	40	16	3		X
A	BMIMCl/DMA	1	2.0	2.0	-	80	8	5		X
A	BMIMCl/DMA	1	2.0	2.0	-	80	8	6		X
A	DMA	1	2.0	2.0	-	60	5	7		X
A	DMA	1	2.0	2.0	-	80	5	8		X
A	BMIMCl/DMA	1	2.0	2.0	-	80	3	9		X
B	DMA	1	2.0	2.0	-	80	5	10		X
A	DMA	1	2.0	2.0	-	80	16	11		X
A	DMA	1	2.0	2.0	-	90	5	13		X
B	DMA	1	2.0	2.0	-	90	5	15		X
A	DMA	1	2.0	2.0	-	90	8	17		X
A	BMIMCl/DMA	1	2.0	2.0	-	40	16	18		X
A	BMIMCl/NMP	2	Excesso	2.0	-	TA	2	19		X
A	BMIMCl/DMA	3	2.0	2.0	-	40	2	20		X
E	DMA	1	2.0	2.0	-	90	5	21	X	
E	DMA	1	2.0	2.0	-	90	5	23		X
E	DMA	1	2.0	2.0	-	90	5	24		X

A	NMP/LiCl	2	Excesso	5.5	5.5	TA	5	28	X
IV	NMP/LiCl	2	Excesso	5.5	5.5	TA	5	29	X
E	NMP/LiCl	2	Excesso	5.5	5.5	TA	5	30	X
C	NMP/LiCl	2	Excesso	5.5	5.5	TA	5	32	X
E	DMA	1	2.0	2.0	-	90	5	33	X
E	NMP/LiCl	2	Excesso	5.5	5.5	TA	5	35	
E	DMA	1	2.0	2.0	-	90	5	36	X

* **A** - Celulose proveniente de resíduos; **B** - Celulose Regenerada; **C** - Celulose comercial; **D** - Nano-alfa celulose; **E** - Carboximetilcelulose;

** **1**: ϵ -caprolactama; **2**: NMP - N-metil-2-pirrolidona; **3**: 2-pyrrolidone;

*** Razão molar unidade de anidroglicose: Lactama: TosCl - Cloreto de ácido p- toluenossulfônico: Py - Piridina;

**** TA - Temperatura ambiente.

Após várias tentativas não foi possível obter um derivado solúvel em água, pelo que se optou por usar a celulose E como ponto de partida para a reação. As condições reacionais foram semelhantes às usadas anteriormente (DMA como solvente, com razão molar de 2:2 para lactama e TsCl, com temperatura de 90 °C) e obteve-se um derivado catiónico (amostra 21) solúvel em água. O uso de carboximetilcelulose possibilitou reduzir o tempo de reação visto que esta é solúvel em água, não sendo necessário uma etapa de solubilização longa como para a celulose. No entanto, a referida amostra apresentou elevada perda de composto nas etapas de lavagem e recuperação da celulose. Dessa forma, as etapas finais do protocolo foram adaptadas e com a recuperação da celulose em clorofórmio foi possível obter um derivado funcionalizado e solúvel em água (amostra 36).

2.2. Reações de Aminocelulose

Para atender aos objetivos deste trabalho desejava-se que o derivado celulósico catiónico fosse solúvel em água, uma vez que esse material poderia ser aplicado num processo de acabamento de têxteis. Apesar da presença de grupos amino no material, a 6-Desoxi-6-(2-aminoetil) Aminocelulose obtida neste trabalho não apresentou solubilidade em água e dessa forma este pode vir a apresentar alguma outra aplicabilidade em outras aplicações.

3. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR)

Os derivados obtidos foram submetidos a análise por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada para comparar as mudanças estruturais causadas pela modificação química e identificar a inserção do grupo amino de interesse na estrutura da celulose. As sínteses obtidas que apresentaram solubilidade em água foram submetidas a uma análise detalhada para melhor compreender suas características.

3.1. Celulose Zwitteriônica

Na **Figura 20** são apresentados os espectros de FTIR-ATR onde é possível observar as características típicas da celulose (celulose A), sua modificação química em carboximetilcelulose principalmente pela presença dos picos em 1500 e 1400 cm^{-1} (C=O estiramento de ácido carboxílico) no espectro, que indica a realização bem-sucedida da reação de eterificação dando origem à celulose E, usada posteriormente (Hivechi et al., 2015).

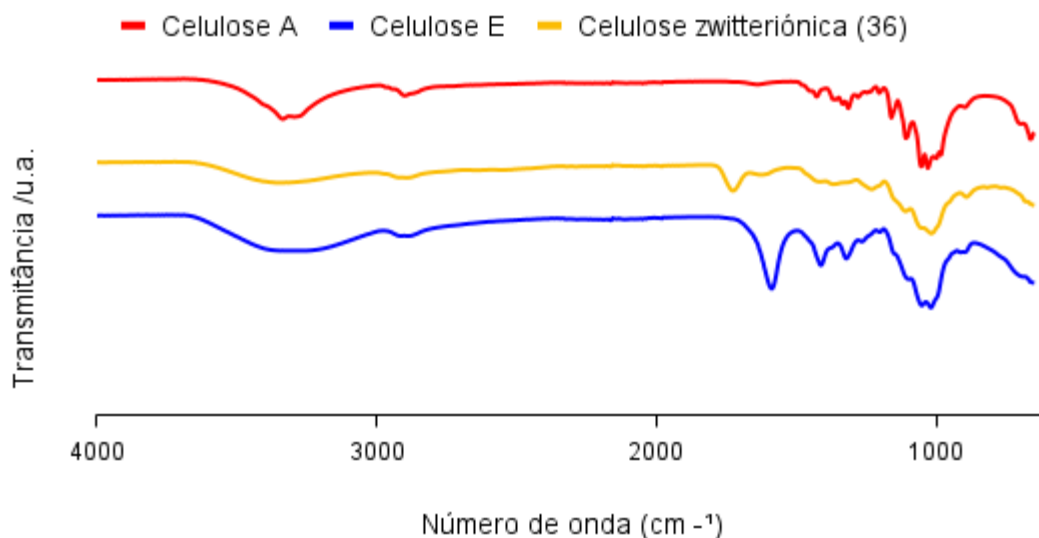


Figura 20 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados, CMC e zwitteriônico (36).

Comparativamente a Celulose E, a celulose zwitteriônica (36) apresenta deslocamento do estiramento de ácido carboxílico (C=O) de 1500 para 1700 cm^{-1} , característica corroborada por Zarth et al. (2011) em amino ésteres de celulose. Nota-se ainda uma redução nas bandas na zona dos 3300 - 2800 cm^{-1} , característicos da vibração de alongamento das ligações OH e CH. Isto significa que houve uma redução destes

grupos devido à sua substituição pelo grupo funcional. Observa-se ainda os picos em torno de 1500-1000 cm^{-1} associado à estrutura cristalina da celulose (Poletto et al., 2011, 2014; Popescu et al., 2011; Rosa et al., 2010).

3.2. Celulose Catiônica

Na **Figura 21** é apresentado o espectro de FTIR-ATR para a celulose catiônica (16) por eterificação, com recurso ao agente derivatizante CHPTAC. É possível realizar uma análise comparativa entre a celulose A e o seu derivado, onde se observa a presença de um novo pico a 1715 cm^{-1} correspondente ao estiramento de ácido carboxílico ($\text{C}=\text{O}$), conforme corroborado por Zarth et al. (2011) em amino ésteres de celulose. Apesar de menos evidente, denota-se diferenças entre os espectros nos picos 1230 e 1307 cm^{-1} , que podem ser atribuídas aos grupos metil do amónio e a vibração de estiramento C-N. Dessa forma, os espectros de FTIR fornecem uma evidência da introdução dos grupos catiónicos, de sal de amónio quaternário na estrutura da celulose.

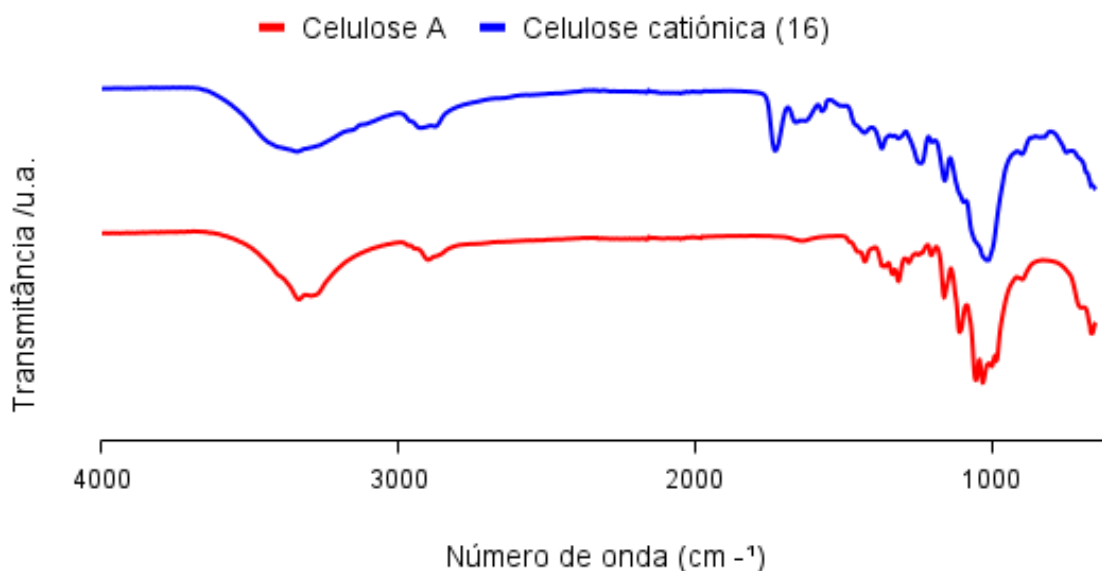


Figura 21 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado quaternizado (16).

4. Termogravimetria (TGA)

Em relação análise termogravimétrica da celulose A (**Figura 22**), celulose Catiônica (16) e zwitteriônica (36), observou-se que as decomposições das celulosas derivadas ocorreram de forma diferente. A primeira etapa da perda de massa da celulose zwitteriônica iniciou em aproximadamente 180 °C, enquanto a perda de peso da celulose catiônica começou mais cedo. A primeira etapa em aproximadamente 60 °C com evaporação de água ou humidade presente nas estruturas. A segunda etapa de perda de massa na curva TGA da celulose catiônica a 200 °C. Ou seja, ao observar o perfil térmico da celulose catiônica, identifica-se que a temperatura de degradação deste derivado é inferior ao da celulose A e ao derivado de celulose zwitteriônica, o que demonstra que a termoestabilidade da celulose diminuiu após a modificação química. Ambos derivados apresentaram maior taxa residual do que a celulose devido à presença de sais (contra-íões de cada derivado) ou resíduos da reação.

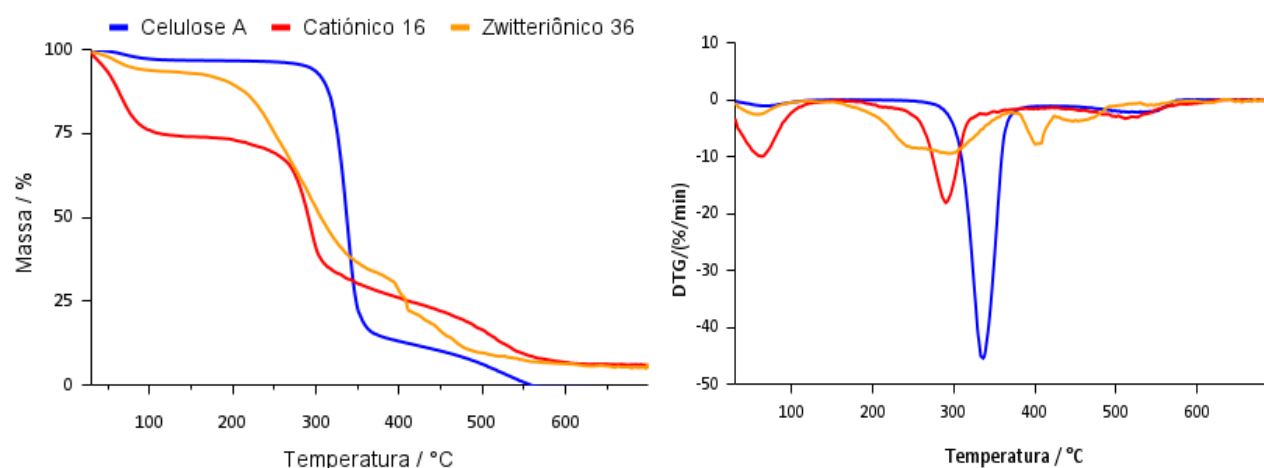


Figura 22 – Termograma comparativo da celulose A, celulose catiônica (16) e celulose (36).

Segundo Zhang et al. (2015), diferenças de resultados de TGA entre a celulose original e derivados podem ser causadas pelas alternâncias do grau de cristalinidade e morfologias da celulose antes e depois da reação catiônica e celulose zwitteriônica, sendo consequência da degradação química e da quebra das ligações hidroxilo durante a reação. Ou seja, a celulose A apresenta maior número de ligações de hidrogênio quando comparada com os produtos funcionalizados.

5. Espalhamento de luz eletroforética (ELS) - Potencial Zeta

O potencial Zeta (ζ) fornece uma medição indireta da densidade de carga superficial e é um indicador relativo da estabilidade do sistema. Os ζ dos derivados celulósicos catiónicos foram medidos para confirmar presença de carga de superfície (**Figura 23**).

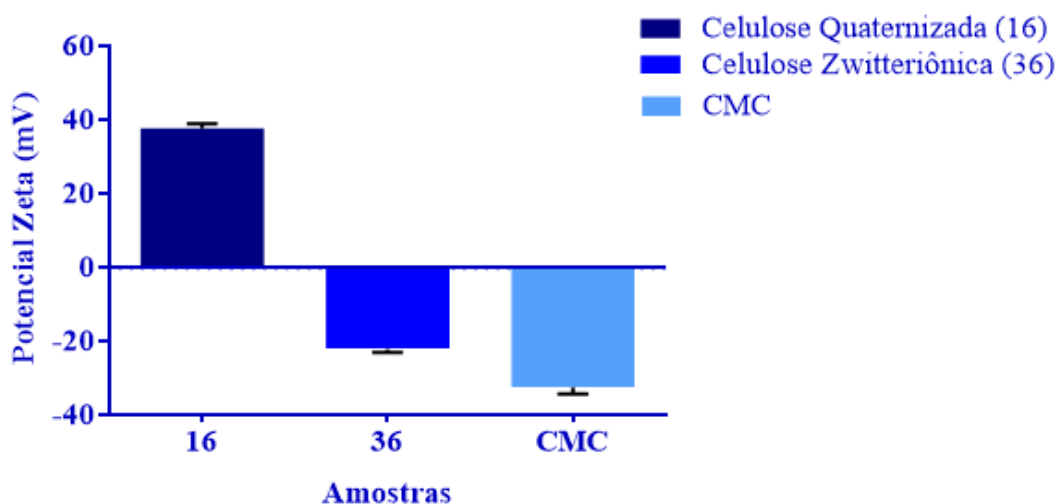


Figura 23 – Potencial Zeta das amostras de celulose catiónica (16) e zwitteriônica (36).

A celulose catiónica quaternizada (amostra 16) apresentou carga de + 37,9 mV, o que é coerente com a presença de grupos quaternários de amônio nesta celulose modificada. A carboximetilcelulose apresentou carga de -32,4 mV, resultado que pode ser explicado pela presença dos grupos carboxilato (-COO-) na estrutura da celulose E, que contribuem para alta densidade de cargas negativas. Dessa forma a celulose zwitteriônica que apresenta em sua estrutura grupos catiónicos e aniônicos, tem ζ de - 22,2 mV, tal como era de esperar.

6. Microscopia Eletrónica de varredura (SEM)

As alterações na morfologia do derivado catiónico (16) foram observadas por SEM, sua superfície do derivado catiónico (**Figura 24**) apresenta uma morfologia mais heterogênea com a presença de regiões amorfas, formação de pequenos aglomerados, com partes lisas e outras porosas. Estas diferenças estruturais estão relacionadas com as modificações químicas a que a celulose A foi submetida. Com a eterificação houve uma redução na % de cristalinidade da amostra que interferiu na sua estabilidade térmica e consequentemente na sua morfologia e na reorganização das cadeias poliméricas (outras micrografias estão dispostas no **Anexo 2**).

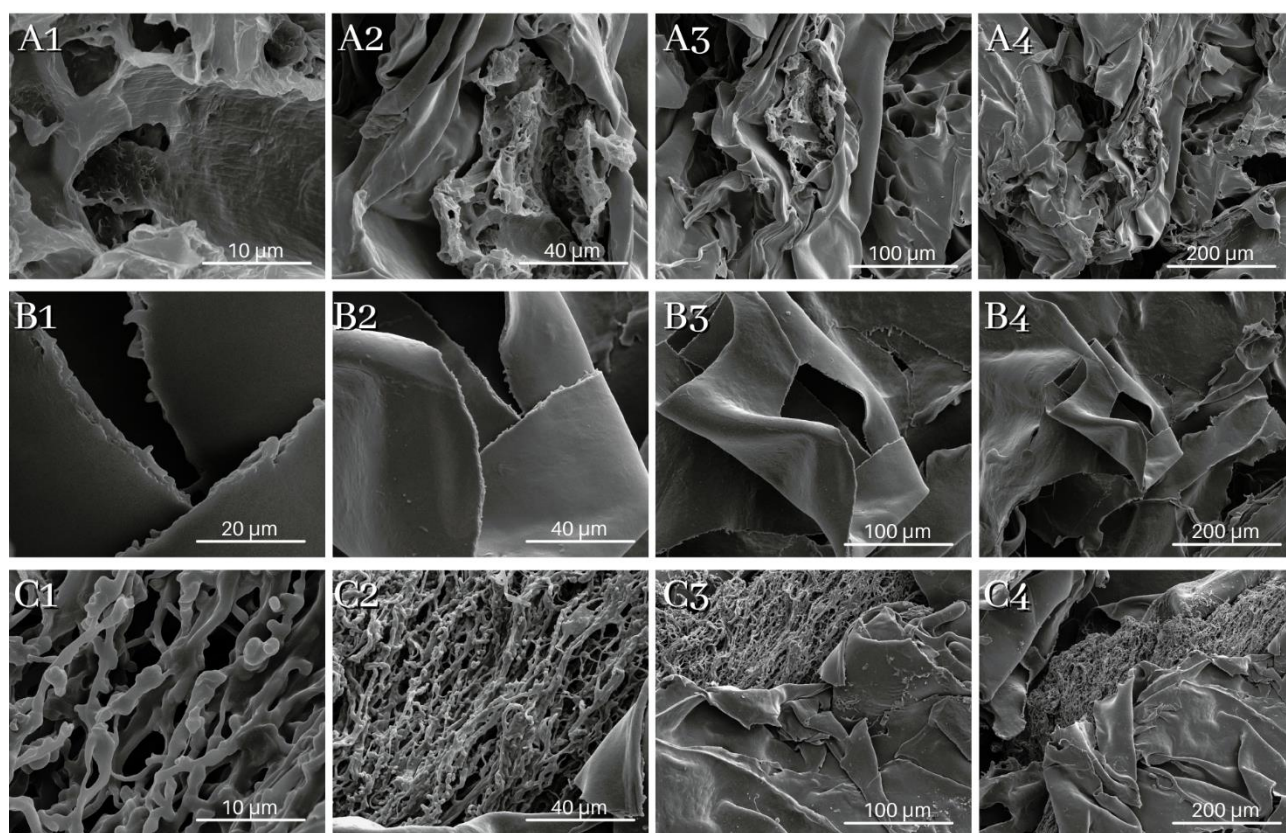


Figura 24 – Micrografias de microscopia eletrónica de varrimento de celulose catiónica (16). Cujas magnificações são (A1, B1 e C1) 10000x, (A2, B2 e C2) 2500 x, (A3, B3 e C3) 1000x, (A4, B4 e C4) 500x;

Por motivos técnicos neste estudo não foi possível realizar a caracterização morfológica por SEM do derivado zwitteriónico (36).

7. Análise elementar e Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)

Fez-se uso da Espectroscopia de raios X por dispersão em energia para conhecer melhor a composição elementar da amostra de celulose A e de seu derivado quaternizado catiónico (16). Confirmou-se que a celulose A consiste principalmente em C (51,7%) e O (38,3%). Enquanto a celulose catiónica (16) apresentou em sua composição C (46%), O (10,6%), N (37%) e Cl (5%). Tais resultados eram indicativos da modificação química da celulose pelo agente derivatizante CHPTAC.

A funcionalização dos derivados de celulose foi então corroborada pela análise elementar (**Tabela 7**) de Carbono (C), Hidrogénio (H) e Nitrogénio (H), que identificou na amostra de celulose catiónica (amostra 16) 2,97% de Azoto na sua composição e na celulose Zwitteriónica (amostra 36) 0,28%, comprovando a modificação das celulosas.

Tabela 7 – Resultados de análise elementar para a celulosas funcionalizadas.

Amostra	Catiónico (16)	Zwitteriónico (36)
C	40,40%	38,3%
H	6,80%	5,00%
N	2,97%	0,28%

Através das análises anteriores, foi possível calcular o grau de substituição (DS) de cada derivado, sendo este de 0,61 para a amostra 16 e de 0,94 para os grupos carboxilato e 0,1 para os grupos amina, na amostra 36.

8. Avaliação da capacidade antimicrobianas

A *Pseudomonas aeruginosa* e o *Staphylococcus aureus* são os tipos mais comuns de patógenos oportunistas que são rotineiramente rastreados em regiões de feridas crônicas (Parvez et al., 2012). A *P. aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo que pode ser o agente etiológico de afeções cutâneas leves a graves, como foliculite, erisipela, intertrigo digital, síndrome da unha verde, ectima gangrenoso e sepse (Yendo et al., 2022). O *Staphylococcus aureus*, é uma espécie de estafilococo coagulase-positivos, sendo uma das bactérias patogênicas mais comuns e virulenta do seu gênero, juntamente com a *Escherichia coli*. A disseminação endógena desta é a mais corriqueira, sendo responsável por muitas das infecções adquiridas em hospitais, resultado de sua presença na pele e na nasofaringe de 15% dos indivíduos saudáveis (Lima et al., 2015). A *E. coli*, é uma enterobactéria gram-negativa, em forma de bacilo, que apresenta um grande problema de saúde global, pois, essa espécie não é apenas uma das principais causadoras de infecções transmitidas por alimentos, mas também representa um importante reservatório de genes de resistência antimicrobiana, principalmente a antibióticos.

Para o estudo das propriedades antimicrobianas das celulosas funcionalizadas recorreu-se ao ensaio de MIC para determinar a concentração inibitória mínima e de MBC determinar a concentração bactericida mínima dos derivados de celulose (amostra 16 e 36). Realizou-se ainda um ensaio com bactérias produtoras de biofilme. Neste trabalho os derivados de celulose obtidos foram testados contra estes três microrganismos comuns e potencialmente patogênicos: *Staphylococcus aureus* (gram-positiva), *Escherichia coli* (Gram-negativa) e *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa), como modelos de espécie bacteriana indicadora.

8.1. Concentração inibitória mínima (MIC - *Minimum inhibition concentration*) e ensaio concentração bactericida mínima (MBC - *Minimum bactericidal concentration*)

Nos ensaios de MIC e MBC empregou-se a celulose E como controle, devido sua solubilidade em água e ausência de grupos catiónicos. Na **Tabela 8** apresentam-se os valores relativos as concentrações mínimas de inibição de crescimento microbiano.

Tabela 8 – Valores de MIC e MBC para a celulose E e para os derivados catiónico (16) e zwitteriônico (36).

Descrição do organismo	MIC (mg/mL)			MBC (mg/mL)		
	16	36	CMC	16	36	CMC
<i>Staphylococcus aureus</i>	40 mg/mL	40 mg/mL	40 mg/mL	50 mg/mL	50 mg/mL	>60 mg/mL
<i>Escherichia coli</i>	40 mg/mL	40 mg/mL	>60 mg/mL	>60 mg/mL	>60 mg/mL	>60 mg/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60 mg/mL	50 mg/mL	>60 mg/mL	>60 mg/mL	>60 mg/mL	>60 mg/mL

*Catiónico – 16; Zwitteriônico – 36 e CMC – Celulose E.

Os derivados 16 e 36 apresentaram inibição para todas as estirpes microbianas testadas. Observa-se que a MIC para *S. aureus* (**Figura 25**) foi de 40 mg/mL com inibição de 95% para o derivado 16, e 64% de inibição para o composto 36. No entanto observa-se que a celulose E (CMC) que foi utilizada como controlo comparativo, apesar de não estar funcionalizada com grupos amino apresentou MIC de 40 mg/mL. Ao analisar o MBC tal efeito não é confirmado. Assim, o mesmo pode ser justificado pelo aumento da concentração do polímero e pelas atrações electrostáticas entre a carboximetilcelulose carregada negativamente e as paredes celulares da *S. aureus*, uma bactéria Gram-positiva típica, com parede celular composta por peptidoglicano, camada composta por redes com muitos poros, que permitem que moléculas estranhas entrem na célula sem dificuldade (Sun et al., 2006).

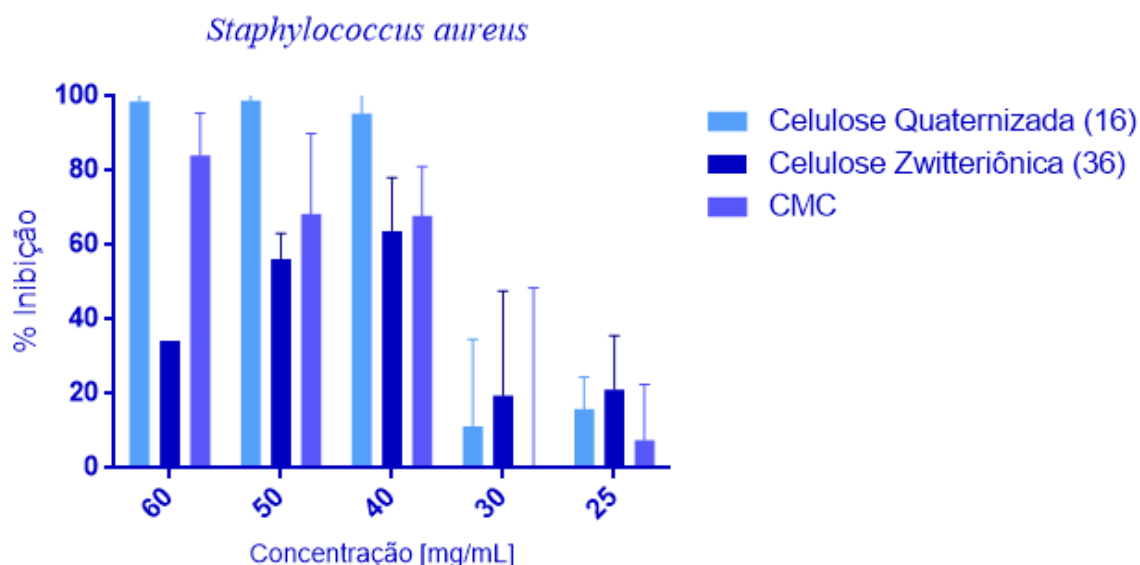


Figura 25 – MIC da CMC, do derivado catiónico (16) e zwitteriônica (36) para *Staphylococcus aureus*.

Em relação a *E. coli* (**Figura 26**) o MIC de ambos derivados de celulose 16 e 36 foram 40 mg/mL com % de inibição de 77,5% e 88% respectivamente. Neste caso não foi observado o mesmo efeito eletrostático com a celulose E, pois, diferentemente da anterior a parede celular de *E. coli*, uma bactéria Gram-negativa típica é constituída por uma membrana fina de peptidoglicano e uma membrana externa constituída por lipopolissacarídeo, lipoproteína e fosfolipídios. Por conta da estrutura de bicamada, a membrana externa é uma barreira potencial contra moléculas estranhas (Sun et al., 2006).

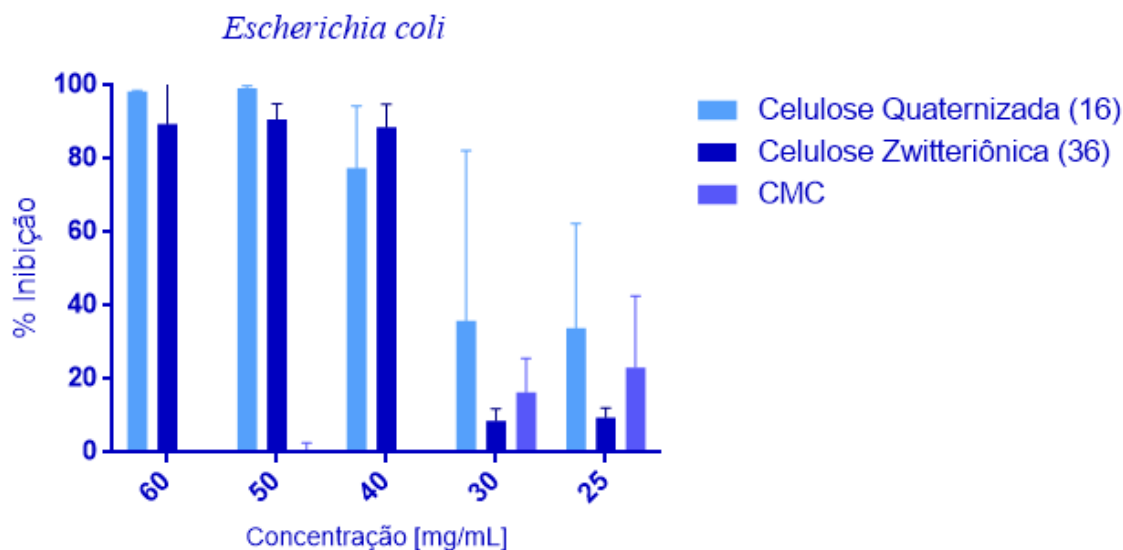


Figura 26 – MIC da celulose E (CMC), do derivado catiónico (16) e zwitteriônica (36) para *Escherichia coli*.

Para *P. aeruginosa* (**Figura 27**), o derivado 16 apresentou atividade somente em 60 mg/mL com inibição de 78%, enquanto para o composto Zwitteriônico o MIC foi a 50 mg/mL com 89% de inibição. Observa-se um efeito bacteriostático devido ao MBC estar acima das concentrações estudadas. A *P. aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo, pelo que não foi observada nenhuma atividade antimicrobiana para a celulose E.

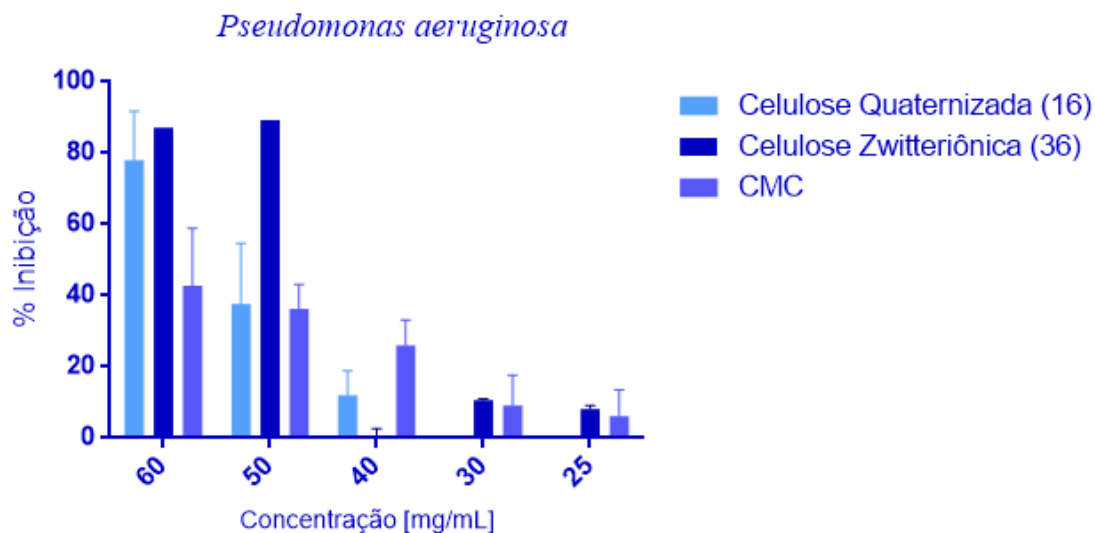


Figura 27 – MIC da celulose E, do derivado catiónico (16) e zwitteriônico (36) para *Pseudomonas aeruginosa*.

Os agentes antibacterianos podem ter função bactericida, que matam as bactérias, ou bacteriostáticos, que inibem o crescimento dos microrganismos. Nesse sentido, ao comparar os valores de MIC e MBC, o crescimento microbiano nas concentrações de MIC no ensaio de MBC podem ser atribuídas a um efeito bacteriostático dos compostos. Nas **figuras 28, 29 e 30** são apresentadas as fotos referentes ao ensaio de MBC (No **Anexo 6** podem ser observados valores para menores concentrações).

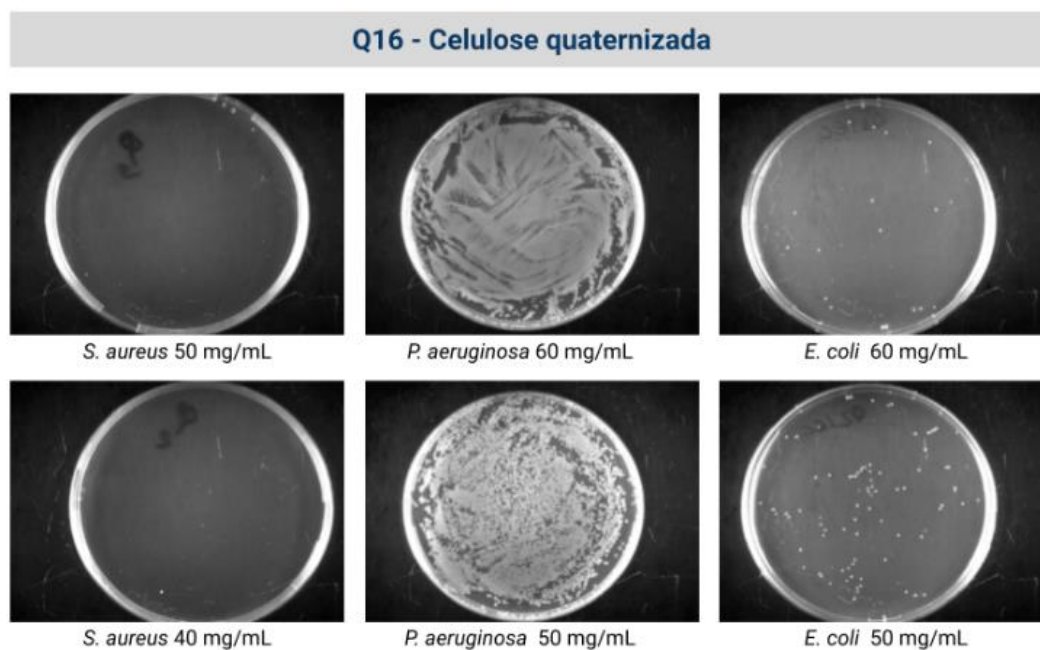


Figura 28 – Fotos das placas do ensaio MBC para a celulose quaternizada (16).

L36 - Celulose zwitteriônica

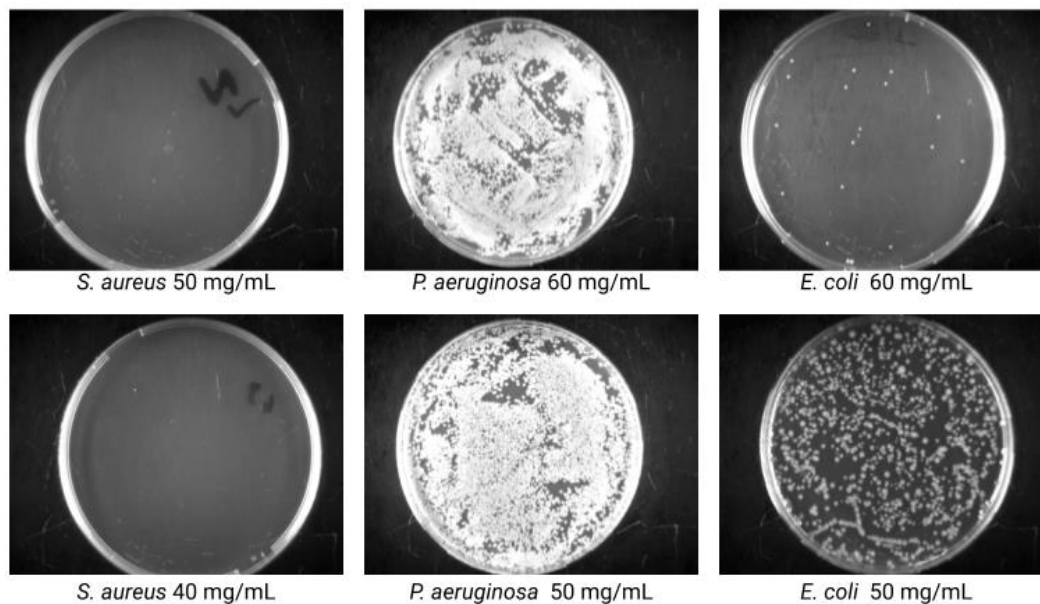


Figura 29 – Fotos das placas do ensaio MBC para a celulose zwitteriônica (36).

CMC - carboximetilcelulose

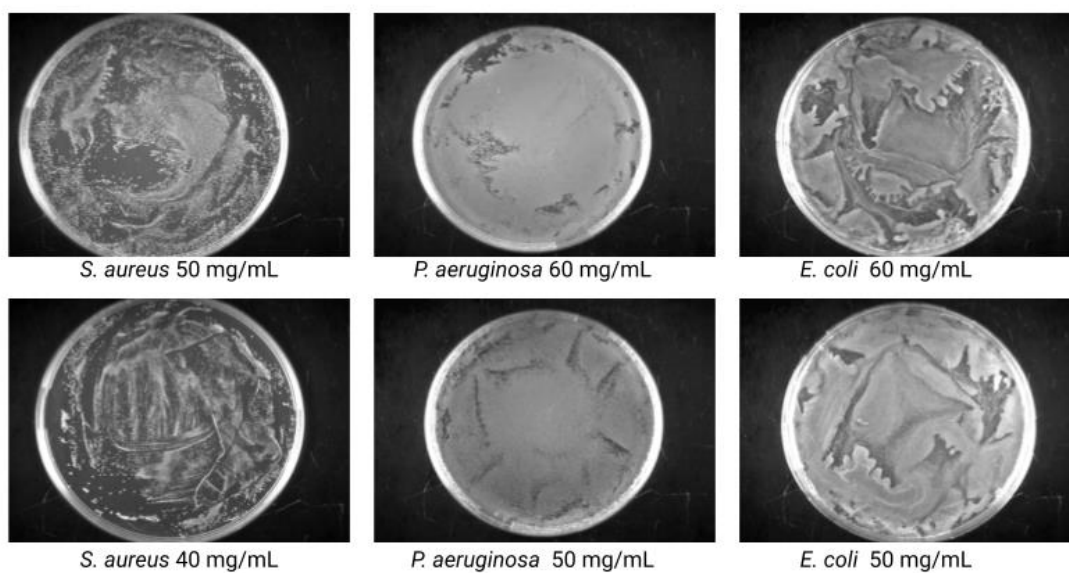


Figura 30 – Fotos das placas do ensaio MBC para a carboximetilcelulose (Celulose E).

8.2. Protocolo de inibição de produção de biofilme

O crescimento prolífico de micróbios cria um biofilme que protege os micróbios incorporados, tornando-os mais resistentes à desinfecção. Esses biofilmes geralmente excretam produtos químicos que são tóxicos ou degradam o material subjacente. Eles também tornam a troca genética entre células microbianas mais eficiente, favorecendo a formação de estirpes bacterianas com resistência a antibióticos (Lode, 2009; Siedenbiedel & Tiller, 2012). Dessa forma o ensaio de inibição de produção de biofilme foi realizado com *S. aureus* e *P. aeruginosa*, para os derivados e para a celulose E. Na **Tabela 9**, são apresentados os valores de BMIC.

Tabela 9 – Resultados de BMIC para a celulose E e para os derivados obtidos.

Descrição do organismo	MBIC (mg/mL)		
	16	36	CMC
<i>Staphylococcus aureus</i>	25 mg/mL	>60 mg/mL	>60 mg/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25 mg/mL	25 mg/mL	>60 mg/mL

*Catiónico – 16; Zwitteriônico – 36 e CMC – Celulose E.

O derivado quaternizado 16, apresentou atividade antimicrobiana efetiva contra a produção de biofilmes tanto para a *S. aureus* quanto para *P. aeruginosa*, com de inibição de 92% e 96% respectivamente, a 25 mg/mL. No entanto o derivado Zwitteriônico 36 não apresentou inibição ao crescimento de biofilmes para *S. aureus*. No caso da *P. aeruginosa*, este apresentou 88% de inibição a concentração de 25 mg/mL. Conforme o esperado a celulose E não apresentou nenhuma atividade microbiana para as bactérias testadas (**Figuras 31 e 32**).

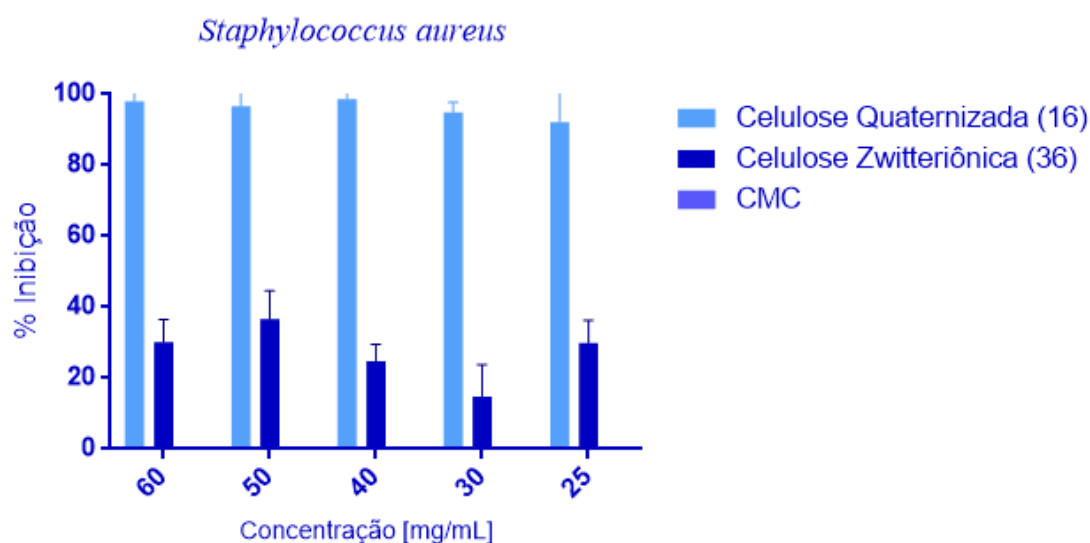


Figura 31 – MBIC da CMC, do derivado catiónico (Q16) e zwitteriônica (36) para *Staphylococcus aureus*.

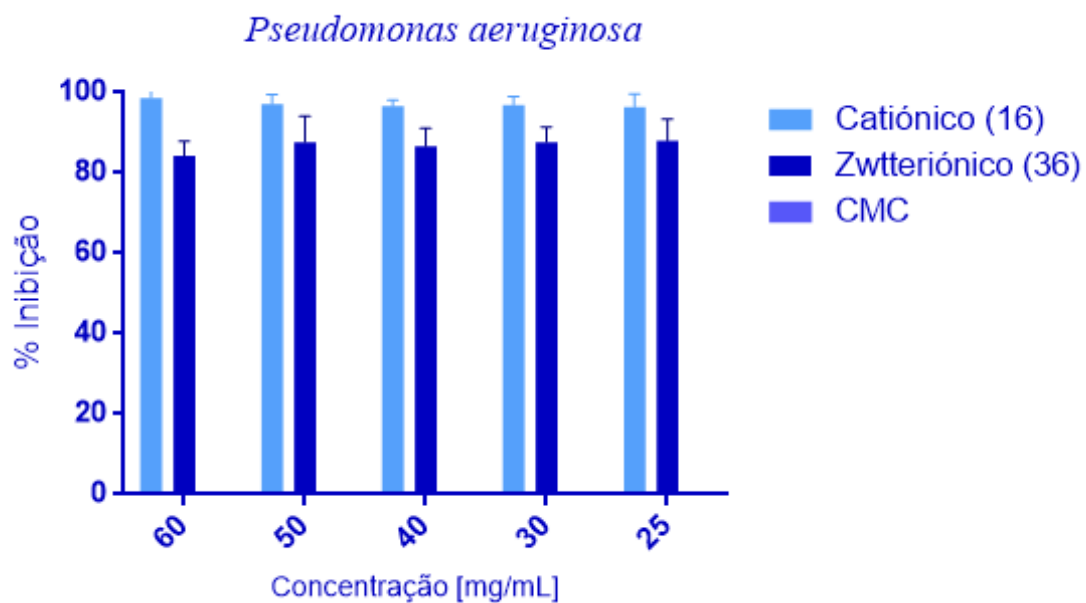


Figura 32 – MBIC da CMC, do derivado catiónico (16) e zwitteriônico (36) para *Pseudomonas aeruginosa*.

IV. Conclusões gerais e perspetivas futuras

IV. Conclusões gerais e perspectivas futuras

O presente trabalho consistiu na obtenção de celulose a partir de resíduos de indústria portuguesa, síntese de derivados de celulose com propriedades antimicrobianas e no estudo de suas características físico-químicas e microbiológicas dos respetivos derivados.

A obtenção de celulose A por hidrólise ácida foi bem-sucedida, sua caracterização foi realizada com recurso a algumas técnicas como FTIR-ATR, Viscosimetria capilar, DSC, Termogravimetria, microscopias ótica e eletrónica de varrimento, onde foi possível conhecer melhor as propriedades da celulose empregadas nas reações deste trabalho. A mesma apresenta uma grande possibilidade de reaproveitamento de resíduos celulósicos e se enquadra no requisito de sustentabilidade prementes para indústria celulósica, visto que apresentou características semelhantes a outras fontes de celulose comercial.

Em relação as sínteses com recurso a lactamas, ϵ -caprolactama, 1-Metil-2-pirrolidinona e 2-pirrolidinona, na presença de cloreto de ácido p-toluenossulfônico para obter ésteres de celulose com funções amino catiónicas, em diferentes condições de tempo e temperatura, originaram alguns esteres derivados de celulose A, B, C e D, não solúveis em água. No entanto, foi possível obter derivado Zwitteriónico (36) com grupos catiónicos e solúvel em água com uso de ϵ -caprolactama, tendo com ponto de partida a carboximetilcelulose (celulose E). A reação de esterificação foi comprovada por FTIR-ATR, análise elementar e TGA, com uso do ELS foi identificada a carga superficial do composto 36.

As sínteses para obtenção de Aminocelulose a partir de tosilcelulose em etilenodiamina, foram caracterizadas por FTIR-ATR. As mesmas não originaram produtos solúveis em água, logo não encontraram aplicação no presente trabalho, pelo qual optou-se por não seguir com sua caracterização com técnicas complementares. Apesar de insolúveis em água, os derivados obtidos podem vir a apresentar alguma outra aplicabilidade em outros estudos.

O derivado celulósico catiónico 16, obtido a partir do agente CHPTAC e celulose A, apresentou solubilidade em água. A presença de grupos amino e sua respetiva carga positiva foi confirmada por FTIR-ATR, análise elementar, TGA, SEM, EDX e ELS.

Como consequência da modificação química e substituição dos grupos hidroxilo, os derivados 16 e 36 apresentaram menor estabilidade térmica em relação a celulose microcristalina, empregada como ponto de partida.

Em relação as propriedades antimicrobianas das celulosas funcionalizadas, ambos compostos apresentaram inibição de crescimento microbiano, MIC e MBC, para bactérias Gram negativas e Gram positivas. No entanto o derivado 16 apresentou maior inibição a menores concentrações, comparativamente ao composto Zwitteriônico 36, para *S. aureus* e *E. coli*. No que se refere a inibição da formação de biofilmes, o composto 16 mostrou ser altamente eficaz na inibição de biofilmes para as bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Dessa forma, os resultados deste trabalho demonstraram que os ésteres de celulose catiónico (16) e Zwitteriônico (36) sintetizados tem atividade inibitória contra bactérias Gram-positivas e Gram negativas, podendo ser usado como agente antibacteriano.

Este trabalho permitiu a obtenção de celulose microcristalina a partir de resíduos celulósicos e sua respectiva esterificação, com propriedades antimicrobianas. No entanto faz-se necessário a realização de estudos aprofundados no que se refere aos graus de substituição dos compostos obtidos, a otimização das sínteses, nomeadamente aos vários parâmetros de reação e mecanismos envolvidos. Uma sugestão seria a de otimizar as sínteses referidas e monitorar a influencia do DS na atividade antimicrobiana, bem como investigar a sua atividade frente a outros microrganismos.

Será ainda fundamental um estudo de aplicação em têxteis por métodos convencionais de incorporação, para verificar a viabilidade de sua atuação como agente antimicrobiano, a concentração necessária de inibição, bem como seu tempo de ação e um estudo das reações envolvidas na fixação, com recurso a normas AATCC Test Method 147, AATCC test Method 100 e ensaio de lavagens norma ISO 105:C06 A1S (AATCC, 2018; AATCC, 2010; ISO, 2010).

Referências Bibliográficas

- AATCC, A. A. of T. C. and C. (2010). AATCC TM 100: Antibacterial Finishes on Textile Materials : Assessment of. *AATC Technical Manual*, 142–144.
- AATCC 147-2016: Antibacterial Activity Assessment of Textile Materials: Parallel Streak Method, 275 (2018).
- Annamalai, P. K., Nanjundan, A. K., Dubal, D. P., & Baek, J. B. (2021). An Overview of Cellulose-Based Nanogenerators. *Advanced Materials Technologies*, 6(3), 2001164. <https://doi.org/10.1002/ADMT.202001164>
- Atkins, P., de Paula, J., & Friedman, R. (2014). *Physical Chemistry Quanta, Matter, and Change* (2nd ed.). Ed. Oxford.
- Bakhshi, H., Yeganeh, H., Mehdipour-Ataei, S., Shokrgozar, M. A., Yari, A., & Saeedi-Eslami, S. N. (2013). Synthesis and characterization of antibacterial polyurethane coatings from quaternary ammonium salts functionalized soybean oil based polyols. *Materials Science and Engineering: C*, 33(1), 153–164. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2012.08.023>
- Berlin, P., Klemm, D., Tiller, J., & Rieseler, R. (2000). A novel soluble aminocellulose derivative type: its transparent film-forming properties and its efficient coupling with enzyme proteins for biosensors. *Macro Molecular Chemistry and Physics*. <https://doi.org/10.1002/1521-3935>
- Biermann, O., Hädicke, E., Koltzenburg, S., & Müller-Plathe, F. (2001). Hydrophilicity and lipophilicity of cellulose crystal surfaces. *Angewandte Chemie - International Edition*, 40(20), 3822–3825. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20011015\)40:20<3822::AID-ANIE3822>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20011015)40:20<3822::AID-ANIE3822>3.0.CO;2-V)
- Bowman, F. W. (1969). The sterility testing of pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58(11), 1301–1308. <https://doi.org/10.1002/JPS.2600581102>
- Bracone, M., Merino, D., Gonzalez, J., & Alvarez, V. A. (2016). *Nanopackaging from natural fillers and biopolymers for the development of active and intelligent films Biodegradable composite hydrogels for agriculture View project Polymers for Agri-Food Applications View project*. Nova Science Publishers.
- Budtova, T., & Navard, P. (2015). Cellulose in NaOH–water based solvents: a review. *Cellulose* 2015 23:1, 23(1), 5–55. <https://doi.org/10.1007/S10570-015-0779-8>
- Correia, J., Rainert, K. T., Oliveira, F. R., de Cássia Siqueira Curto Valle, R., & Valle, J. A. B. (2020). Cationization of cotton fiber: an integrated view of cationic agents, processes variables, properties, market and future prospects. In *Cellulose* (Vol. 27, Issue 15, pp. 8527–8550). Springer Science and Business Media B.V.

<https://doi.org/10.1007/s10570-020-03361-w>

- De Souza Lima, M. M., & Borsali, R. (2004a). Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties, and applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 25(7), 771–787. <https://doi.org/10.1002/marc.200300268>
- De Souza Lima, M. M., & Borsali, R. (2004b). Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties, and applications. In *Macromolecular Rapid Communications* (Vol. 25, Issue 7, pp. 771–787). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/marc.200300268>
- Dias, B. de P., Ribeiro, E. M. de C., Gonçalves, R. L., Oliveira, D. S., Ferreira, T. H., & de Mello Silva, B. (2021). Nanotechnology in Brazil and the development of products with antimicrobial activity. *Quimica Nova*, 44(8), 1084–1092. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170743>
- Dogsa, I., Tomšič, M., Orehek, J., Benigar, E., Jamnik, A., & Stopar, D. (2014). Amorphous supramolecular structure of carboxymethyl cellulose in aqueous solution at different pH values as determined by rheology, small angle X-ray and light scattering. *Carbohydrate Polymers*, 111, 492–504. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.04.020>
- El Seoud, O. A., Nawaz, H., & Arêas, E. P. G. (2013). Chemistry and applications of polysaccharide solutions in strong electrolytes/dipolar aprotic solvents: An overview. In *Molecules* (Vol. 18, Issue 1, pp. 1270–1313). <https://doi.org/10.3390/molecules18011270>
- EMF, E. M. F. (2013). Towards the circular economy - economic and business rationale for an accelerated transition. *Journal of Industrial Ecology*, 2(23–44).
- Farrell, M., Hauser, P., Farrell, M. J., & Hauser, P. J. (2013). Cationic Cotton, Reservations to Reality Fabrication of Textiles with Asymmetric Wetting and Wettability Gradient Properties by Plasma-Induce Graft Polymerization and Plasma Polymerization View project Peroxide Bleaching of Cationic Cotton View project Ca. *AATCC Review*. <https://www.researchgate.net/publication/274382080>
- Fernandes, M. F. M., & Filgueiras, C. A. L. (2008). Um panorama da nanotecnologia no Brasil (e seUs macro-desafios) maria fernanda marques fernandes # e carlos a. *Quim. Nova*, 31(8), 2205–2213.
- Foster, A., Roberto, S. S., & Igari, A. T. (2016). Economia Circular e Resíduos Sólidos: Uma Revisão Sistemática sobre a Eficiência Ambiental e Econômica. *ENGEMA, Encontro Internacional Sobre Gestão Empresarial e Meio Ambiente*, 17.
- Gao, Y., & Cranston, R. (2008). Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles: [Http://Dx.Doi.Org/10.1177/0040517507082332](http://Dx.Doi.Org/10.1177/0040517507082332), 78(1), 60–72.

<https://doi.org/10.1177/0040517507082332>

- Gharehkhani, S., Sadeghinezhad, E., Kazi, S. N., Yarmand, H., Badarudin, A., Safaei, M. R., & Zubir, M. N. M. (2015). Basic effects of pulp refining on fiber properties—A review. *Carbohydrate Polymers*, 115, 785–803. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.08.047>
- Gondal, H. Y., & Buisson, D. (2016). A facile approach to α,β -unsaturated lactams by ring-closing metathesis. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 52(3), 183–191. <https://doi.org/10.1007/S10593-016-1858-Y/TABLES/2>
- Gruber, E. (2002). Is there a future for chemically modified pulp? *Internationale Papierwirtschaft IPW*, 6, 73–85.
- Habermas, J. (1988). Teoría de la Acción Comunicativa. In Manuel Jiménez Redondo. (Ed.), *Trad. Manuel Jiménez Redondo.: Vol. I e II* (Trad.). Taurus.
- Habibi, Y., Lucia, L. A., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110(6), 3479–3500. <https://doi.org/10.1021/cr900339w>
- Hasani, M., Cranston, E. D., Westman, G., & Gray, D. G. (2008). Cationic surface functionalization of cellulose nanocrystals. *Soft Matter*, 4(11), 2238–2244. <https://doi.org/10.1039/b806789a>
- Hearle, J. W. S. (1958). A fringed fibril theory of structure in crystalline polymers. *Journal of Polymer Science*, 28(117), 432–435. <https://doi.org/10.1002/pol.1958.1202811722>
- Heinze, Th, & Rahn, K. (1996). Synthese und folgechemie von cellulose-p-toluensulfonsäure-estern - Pool für neuartige funktionspolymere. *Papier*, 50(12), 721–729.
- Heinze, Thomas, El Seoud, O. A., & Koschella, A. (2018). *Production and Characteristics of Cellulose from Different Sources*. 1–38. https://doi.org/10.1007/978-3-319-73168-1_1
- Heinze, Thomas, Elschner, T., & Ganske, K. (2019). *Aminocelluloses-Polymers with Fascinating Properties and Application Potential*.
- Heinze, Thomas, Pfeifer, A., Koschella, A., Schaller, J., & Meister, F. (2016). Solvent-free synthesis of 6-deoxy-6-(ω -aminoalkyl)amino cellulose. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(39), 43987. <https://doi.org/10.1002/app.43987>
- Heinze, Thomas, Siebert, M., Berlin, P., & Koschella, A. (2016). Biofunctional Materials Based on Amino Cellulose Derivatives – A Nanobiotechnological Concept. *Macromolecular Bioscience*, 16(1), 10–42. <https://doi.org/10.1002/MABI.201500184>
- Hivechi, A., Bahrami, S. H., Arami, M., & Karimi, A. (2015). Ultrasonic mediated production of carboxymethyl

- cellulose: Optimization of conditions using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 134, 278–284. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.07.045>
- Hummel, A. (2004). 3.2 Industrial processes. *Macromolecular Symposia*, 208(1), 61–80. <https://doi.org/10.1002/MASY.200450406>
- Insights, F. B. (2020). *Cellulose Market Size, Share and Industry Analysis 2020*. Fortune Business Insights. <https://www.fortunebusinessinsights.com/cellulose-market-102062>
- Iqbal, K., Javid, A., Rehman, A., Rehman, A., Ashraf, M., & Abid, H. A. (2020). Single bath dyeing of modified nylon/cotton blended fabrics using direct/acid dyes. *Pigment and Resin Technology*, 49(3), 165–170. <https://doi.org/10.1108/PRT-09-2019-0084>
- ISO, I. O. F. S. (2010). ISO 105-C06; Colour fastness to domestic and commercial laundering. *Textiles- Test for Colour Fastness*, 2002, 14.
- Karaman, D. Ş., Manner, S., Fallarero, A., & Rosenholm, J. M. (2017). Current Approaches for Exploration of Nanoparticles as Antibacterial Agents. In *Antibacterial Agents*. InTech. <https://doi.org/10.5772/68138>
- Klemm, D., Philipp, B., Heinze, T., Heinze, U., & Wagenknecht, W. (1998). Comprehensive Cellulose Chemistry. *Comprehensive Cellulose Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/3527601929>
- Klemm, Dieter, Heublein, B., Fink, H. P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie - International Edition*, 44(22), 3358–3393. <https://doi.org/10.1002/ANIE.200460587>
- Kondo, T. (2007). Nematic Ordered Cellulose: Its Structure and Properties. In *Cellulose: Molecular and Structural Biology* (pp. 285–305). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5380-1_16
- Kongdee, A., Bechtold, T., Burtcher, E., & Scheinecker, M. (2004). The influence of wet/dry treatment on pore structure-the correlation of pore parameters, water retention and moisture regain values. *Carbohydrate Polymers*, 57(1), 39–44. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2004.03.025>
- Krumm, C., Harmuth, S., Hijazi, M., Neugebauer, B., Kampmann, A. L., Geltenpoth, H., Sickmann, A., & Tiller, J. C. (2014). Antimicrobial poly(2-methyloxazoline)s with bioswitchable activity through satellite group modification. *Angewandte Chemie - International Edition*, 53(15), 3830–3834. <https://doi.org/10.1002/ANIE.201311150>
- Lavanya, D., Kulkarni, P. K., Dixit, M., Raavi, P. K., & Krishna, L. N. V. (2015). Sources of cellulose and their applications- A review. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 2(January), 19–38.

- Law, R. C. (2004). 5. Applications of cellulose acetate 5.1 Cellulose acetate in textile application. *Macromolecular Symposia*, 208(1), 255–266. <https://doi.org/10.1002/MASY.200450410>
- Leitão, A. (2015). Economia circular: uma nova filosofia de gestão para o séc. XXI. Circular economy: a new management philosophy for the XXI st century. *Portuguese Journal of Finance, Management and Accounting*, 1(2), 23.
- Li, G., Fu, Y., Shao, Z., Zhang, F., & Qin, M. (2015). Preparing cationic cellulose derivative in NaOH/urea aqueous solution and its performance as filler modifier. *BioResources*, 10(4), 7782-7794. https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_10_4_7782_Li_Preparing_Cationic_Cellulose_Derivative_NaOH/3904
- Liesiene, J. (2010). Synthesis of water-soluble cationic cellulose derivatives with tertiary amino groups. *Cellulose*, 17(1). <https://doi.org/10.1007/s10570-009-9353-6>
- Lima, M. F. P., Borges, M. A., Parente, R. S., Júnior, R. C. V., & Oliveira, M. E. De. (2015). Staphylococcus aureus e as Infecções Hospitalares – Revisão de Literatura. *Uningá*, 21(1), 32–39.
- Lindman, B., Medronho, B., Alves, L., Costa, C., Edlund, H., & Norgren, M. (2017). The relevance of structural features of cellulose and its interactions to dissolution, regeneration, gelation and plasticization phenomena. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(35), 23704–23718. <https://doi.org/10.1039/C7CP02409F>
- Lode, H. M. (2009). Clinical impact of antibiotic-resistant Gram-positive pathogens. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(3), 212–217. <https://doi.org/10.1111/J.1469-0691.2009.02738.X>
- Lucas, E. F., Soares, B. G., & Monteiro, E. E. C. (2001). *Caracterização de Polímeros: Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica*. E-papers.
- Lv, P., Zhu, L., Yu, Y., Wang, W., Liu, G., & Lu, H. (2020). Effect of NaOH concentration on antibacterial activities of Cu nanoparticles and the antibacterial mechanism. *Materials Science and Engineering: C*, 110, 110669. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2020.110669>
- McCormick, C. L., Dawsey, T. R., & Newman, J. K. (1990). Competitive formation of cellulose p-toluenesulfonate and chlorodeoxycellulose during homogeneous reaction of p-toluenesulfonyl chloride with cellulose in N,N-dimethylacetamide-lithium chloride. *Carbohydrate Research*, 208(C), 183–191. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(90\)80098-N](https://doi.org/10.1016/0008-6215(90)80098-N)
- Medronho, B., Romano, A., Miguel, M. G., Stigsson, L., & Lindman, B. (2012). Rationalizing cellulose (in)solubility: Reviewing basic physicochemical aspects and role of hydrophobic interactions. *Cellulose*,

- 19(3), 581–587. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9644-6>
- Milović, N. M., Wang, J., Lewis, K., & Klibanov, A. M. (2005). Immobilized N-alkylated polyethylenimine avidly kills bacteria by rupturing cell membranes with no resistance developed. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(6), 715–722. <https://doi.org/10.1002/BIT.20454>
- Mishra, S., Kharkar, P. S., & Pethe, A. M. (2019, March 1). Biomass and waste materials as potential sources of nanocrystalline cellulose: Comparative review of preparation methods (2016 – Till date). *Carbohydrate Polymers*, 207, 418–427. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.004>
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., & Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3941–3994. <https://doi.org/10.1039/c0cs00108b>
- Ning, P., Liu, C. C., Wang, Y. J., Li, X. Z., Ranjithkumar, R., Gan, Z. H., Wu, Y. Y., & Fu, T. (2020). Facile synthesis, antibacterial mechanisms and cytocompatibility of Ag–MnFe₂O₄ magnetic nanoparticles. *Ceramics International*, 46(12), 20105–20115. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2020.05.085>
- Norretranders, T. (1998). The user illusion: cutting consciousness down to size. In *The user illusion: Cutting consciousness down to size*. Penguin Books.
- Oberlerchner, J. T., Rosenau, T., & Potthast, A. (2015). Overview of methods for the direct molar mass determination of cellulose. In *Molecules* (Vol. 20, Issue 6, pp. 10313–10341). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules200610313>
- Oliveira, F. R. de, França, S. L. B., & Rangel, L. A. D. (2019). Princípios de economia circular para o desenvolvimento de produtos em arranjos produtivos locais. *Interações (Campo Grande)*, 20(4), 1179–1193. <https://doi.org/10.20435/inter.v20i4.1921>
- Onwukamike, K. N., Grelier, S., Grau, E., Cramail, H., & Meier, M. A. R. (2019). Critical Review on Sustainable Homogeneous Cellulose Modification: Why Renewability Is Not Enough. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 7(2), 1826–1840. https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.8B04990/SUPPL_FILE/SC8B04990_SI_001.PDF
- Palme, A., Theliander, H., & Brelid, H. (2016). Acid hydrolysis of cellulosic fibres: Comparison of bleached kraft pulp, dissolving pulps and cotton textile cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 136, 1281–1287. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.015>
- Pan, Y., Xia, Q., & Xiao, H. (2019). Cationic polymers with tailored structures for rendering polysaccharide-based materials antimicrobial: An overview. *Polymers*, 11(8), 1283. <https://doi.org/10.3390/polym11081283>

- Parvez, N., Dutta, P., Ray, P., Shah, V. N., Prakash, M., Khandelwal, N., Kaman, L., & Bhansali, A. (2012). *Microbial Profile and Utility of Soft Tissue, Pus, and Bone Cultures in Diagnosing Diabetic Foot Infections*. *14*(8), 669–674. <https://doi.org/10.1089/DIA.2012.0039>
- Petzold-Welcke, K., Michaelis, N., & Heinze, T. (2009). Unconventional Cellulose Products Through Nucleophilic Displacement Reactions. *Macromolecular Symposia*, *280*(1), 72–85. <https://doi.org/10.1002/MASY.200950609>
- Pharma, E. (n.d.). *Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Testing*. Emery Pharma.
- Poletto, M., Ornaghi Júnior, H. L., & Zattera, A. J. (2014). Native Cellulose: Structure, Characterization and Thermal Properties. *Materials*, *7*(9), 8. <https://doi.org/10.3390/MA7096105>
- Poletto, M., Pistor, V., Zeni, M., & Zattera, A. J. (2011). Crystalline properties and decomposition kinetics of cellulose fibers in wood pulp obtained by two pulping processes. *Polymer Degradation and Stability*, *96*(4), 679–685. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2010.12.007>
- Popescu, M. C., Popescu, C. M., Lisa, G., & Sakata, Y. (2011). Evaluation of morphological and chemical aspects of different wood species by spectroscopy and thermal methods. *Journal of Molecular Structure*, *988*(1–3), 65–72. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2010.12.004>
- Prime, R. B., Bair, H. E., Vyazovkin, S., Gallagher, P. K., & Riga, A. (2008). Thermogravimetric Analysis (TGA). In *Thermal Analysis of Polymers* (pp. 241–317). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470423837.ch3>
- Rosa, M. F., Medeiros, E. S., Malmonge, J. A., Gregorski, K. S., Wood, D. F., Mattoso, L. H. C., Glenn, G., Orts, W. J., & Imam, S. H. (2010). Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, *81*(1), 83–92. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2010.01.059>
- Russo, S., & Casazza, E. (2012). 4.14 Ring-Opening Polymerization of Cyclic Amides (Lactams). *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, *4*, 331–396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00109-6>
- Salama, A. (2019). Cellulose/calcium phosphate hybrids: New materials for biomedical and environmental applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *127*, 606–617. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.130>
- Shahid, M., Shahid-Ul-Islam, & Mohammad, F. (2013). Recent advancements in natural dye applications: A review. In *Journal of Cleaner Production* (Vol. 53, pp. 310–331). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.03.031>

- Shateri Khalil-Abad, M., Yazdanshenas, M. E., & Nateghi, M. R. (2009). Effect of cationization on adsorption of silver nanoparticles on cotton surfaces and its antibacterial activity. *Cellulose*, 16(6), 1147–1157. <https://doi.org/10.1007/S10570-009-9351-8/TABLES/2>
- Siedenbiedel, F., & Tiller, J. C. (2012). Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles. *Polymers* 2012, Vol. 4, Pages 46-71, 4(1), 46–71. <https://doi.org/10.3390/POLYM4010046>
- Simoncic, B., & Tomsic, B. (2010). Structures of Novel Antimicrobial Agents for Textiles - A Review: *Textile Research Journal*, 80(16), 1721–1737. <https://doi.org/10.1177/0040517510363193>
- Siró, I., & Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose* 2010 17:3, 17(3), 459–494. <https://doi.org/10.1007/S10570-010-9405-Y>
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. (2002). *Princípios de Análise Instrumental* (Trad. Ignez Caracelli et al (ed.); 5ª edição). Bookman.
- Sun, L., Du, Y., Fan, L., Chen, X., & Yang, J. (2006). Preparation, characterization and antimicrobial activity of quaternized carboxymethyl chitosan and application as pulp-cap. *Polymer*, 47(6), 1796–1804. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2006.01.073>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2003). *Plant Physiology* (3rd ed). Sinauer Associates. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg079>
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal - 6ª Edição* (P. L. de Oliveira (ed.); 6th ed.). Artmed.
- Tayeb, P., & H. Tayeb, A. (2019). Nanocellulose applications in sustainable electrochemical and piezoelectric systems: A review. *Carbohydrate Polymers*, 224, 115149. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.115149>
- Thakur, S., Verma, A., Kumar, V., Jin Yang, X., Krishnamurthy, S., Coulon, F., & Thakur, V. K. (2022). Cellulosic biomass-based sustainable hydrogels for wastewater remediation: Chemistry and prospective. *Fuel*, 309, 122114. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2021.122114>
- Vieira, R. (2006). *Estudo da Eficiência e Durabilidade de Diversos Métodos de Fixação de Produtos Antimicrobianos em Fibras Celulósicas*. Universidade do Minho.
- Wan, J., Yang, J., Ma, Y., & Wang, Y. (2011). Effects of pulp preparation and papermaking processes on the properties of OCC fibers. *BioResources*, 6(2), 1615–1630. <https://doi.org/10.15376/biores.6.2.1615->

- Whistler, R. L., & BeMiller, J. N. (1997). Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. In *Food / Nahrung* (Eagan Press, Vol. 41, Issue 5). Wiley. <https://doi.org/10.1002/food.19970410523>
- Wu, M., & Kuga, S. (2006). Cationization of cellulose fabrics by polyallylamine binding. *Journal of Applied Polymer Science*, 100(2), 1668–1672. <https://doi.org/10.1002/APP.22895>
- Yamane, C., Aoyagi, T., Ago, M., Sato, K., Okajima, K., & Takahashi, T. (2006). Two different surface properties of regenerated cellulose due to structural anisotropy. *Polymer Journal*, 38(8), 819–826. <https://doi.org/10.1295/polymj.PJ2005187>
- Yendo, T. M., Pante, C. de C., & Miyamoto, D. (2022). Pseudomonas aeruginosa as an uncommon agent of infectious panniculitis. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. <https://doi.org/10.1016/J.ABD.2020.09.018>
- Zarth, C. S. P., Koschella, A., Pfeifer, A., Dorn, S., & Heinze, T. (2011). Synthesis and characterization of novel amino cellulose esters. *Cellulose*, 18(5), 1315–1325. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9557-4>
- Zhang, F., Pang, Z., Dong, C., & Liu, Z. (2015). Preparing cationic cotton linter cellulose with high substitution degree by ultrasonic treatment. *Carbohydrate Polymers*, 132, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.055>
- Zhang, L.-M. (2001). New Water-Soluble Cellulosic Polymers: A Review. *Macromol. Mater. Eng*, 286, 267–275. <https://doi.org/10.1002/1439-2054>
- Zhang, Y. H. P., & Lynd, L. R. (2004a, December 30). Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(7), 797–824. <https://doi.org/10.1002/bit.20282>
- Zhang, Y. H. P., & Lynd, L. R. (2004b). Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(7), 797–824. <https://doi.org/10.1002/BIT.20282>
- Zhang, Y., Jiang, J., & Chen, Y. (1999). Synthesis and antimicrobial activity of polymeric guanidine and biguanidine salts. *Polymer*, 40(22), 6189–6198. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(98\)00828-3](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00828-3)
- Zhou, J., Zhang, L., & Cai, J. (2004). Behavior of cellulose in NaOH/Urea aqueous solution characterized by light scattering and viscometry. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 42(2), 347–353. <https://doi.org/10.1002/POLB.10636>
- Zieger, M., Wurlitzer, M., Wiegand, C., Reddersen, K., Finger, S., Elsner, P., Laudeley, P., Liebert, T., Heinze, T., & Hipler, U.-C. (2015). 6-Deoxy-6-aminoethyleneamino cellulose: synthesis and study of

hemocompatibility. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 26(14), 931–946.

<https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1068546>

Zion Market Research. (2020). *Antimicrobial Textile Market - By Active Agents, By Finishing Techniques, and By Region - Global Industry Perspective, Comprehensive Analysis, and Forecast, 2019 - 2025*.

Zuidam, N. J., & Nedović, V. A. (2010). Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, 1–400.

<https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0>

Anexos

1. Cálculos de Viscosimetria/Grau de polimerização

A fundamentação teórica utilizada para a realização os cálculos de viscosidade e grau de polimerização que constam nas tabelas abaixo são descritos no capítulo de metodologia.

Tabela 10 – Cálculos de tempo de escoamento médio de soluções de celulose em diferentes concentrações para a amostra Celulose A.

	Concentração das Solução de celulose (%)			Solvente
	0,5	0,75	1	NaOH 6% + Ureia 4%
Tempo de escoamento (s)	37	45	55	25
	38	45	56	25
	39	46	58	25
Tempo médio de escoamento (s)	38	45	56	25
Desvio Padrão	0,8	0,5	1,2	0,0

Tabela 11 – Densidade de soluções de celulose em diferentes concentrações para a amostra Celulose A.

Densidade (Kg/m ³)				
	Solvente	0,5 %	0,75 %	1,00%
1	1,0415	1,0467	1,0490	1,0423
2	1,0216	1,0658	1,0590	1,0469
3	1,0599	1,0570	1,0732	1,0739
	1,0415	1,0570	1,0590	1,0469
Desvio Padrão	0,0156	0,0078	0,0099	0,0139

Tabela 12 – Cálculo de viscosidade, massa molar e grau de polimerização da amostra de Celulose A.

Concentração (g.L ⁻¹)	TME (s)	Densidade (Kg/m ³)	η_{cin} (mm ² /s)	VD (mPa.s)	VR	Viscosidade específica	Viscosidade reduzida	VI (mL.g ⁻¹)	Massa Molar (Da)	Massa Molar (kDa)	DP
solvente	25	1,042	1,372	1,429	1,000	0,000					
5	38	1,057	2,086	2,205	1,543	0,543	0,109				
8	45	1,059	2,470	2,616	1,830	0,830	0,111	0,106	28941,511	28,942	178,496
10	56	1,047	3,074	3,219	2,252	1,252	0,125				

*TME - Tempo médio de escoamento (s); VC - viscosidade cinemática (mm²/s); Viscosidade dinâmica (mPa.s); VR - Viscosidade relativa; VI - Viscosidade Intrínseca (mL.g⁻¹); DP – Grau de polimerização.

Tabela 13 – Constantes utilizadas no cálculo de viscosidade.

Constantes	
Constante viscosímetro ubbelohde (mm ² /s ² - 1B)	0,054899
a	0,815
K	0,0000245

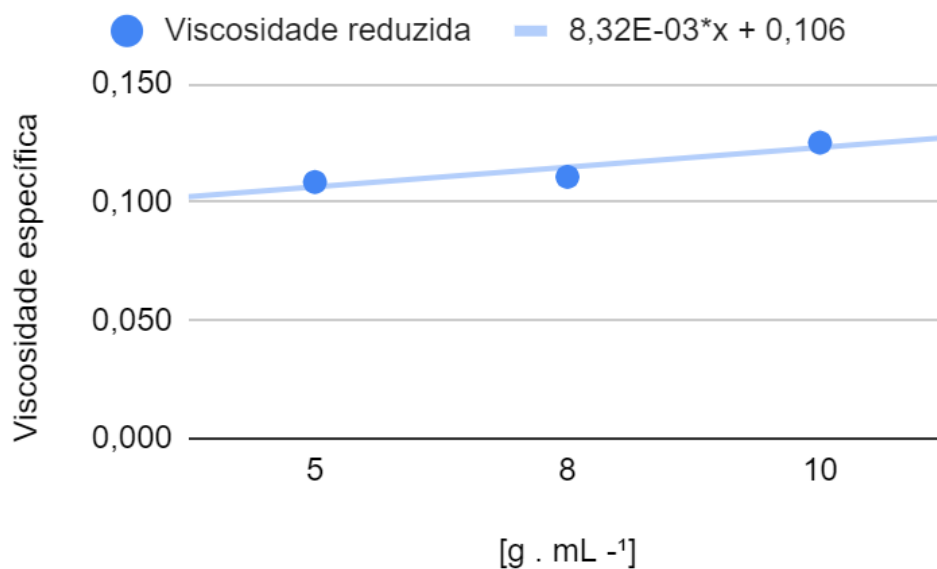


Figura 33 – Gráfico de viscosidade reduzida, celulose A.

2. Micrografias

4.2.1. Micrografias de celulose A

Nas figuras abaixo são apresentadas outras micrografias originais de microscopia ótica e microscopia eletrônica de varrimento referente a celulose A.

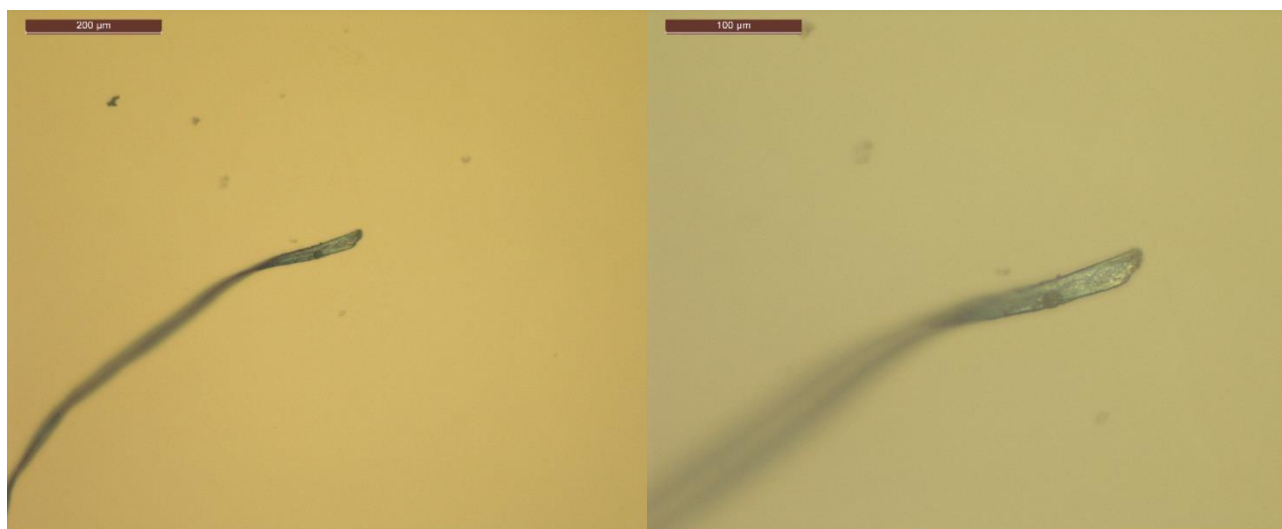


Figura 34 – Micrografias de celulose A obtidas por microscopia ótica, com magnificações 10 x e 20 x.

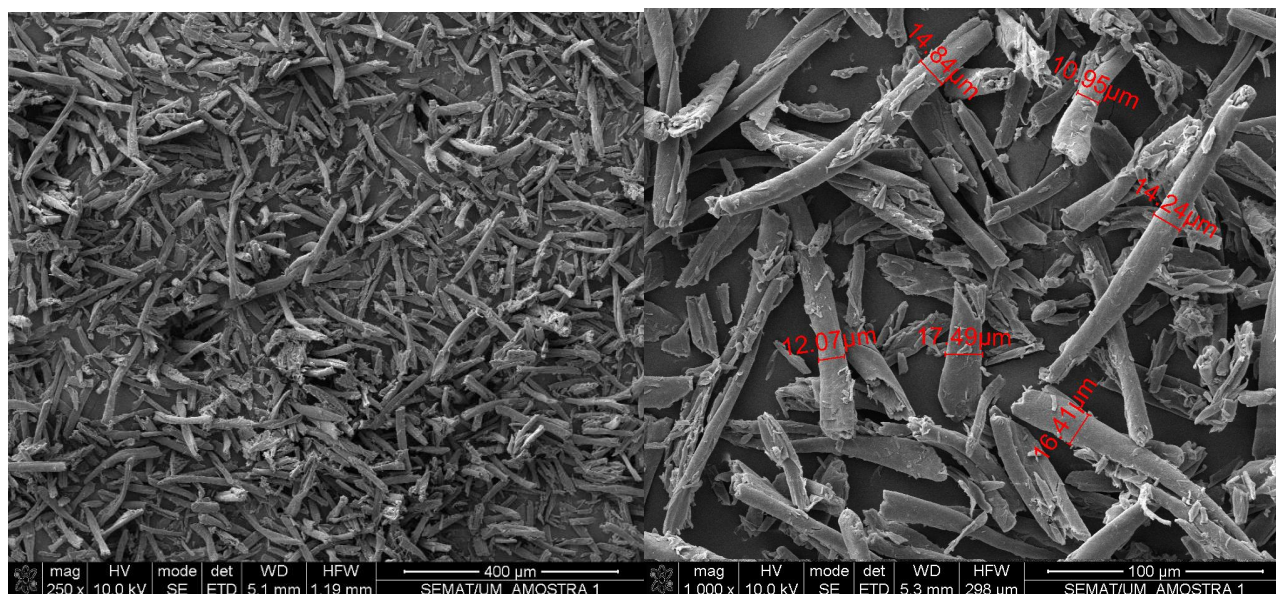


Figura 35 – Micrografias de celulose A obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 250 x e 1000 x.

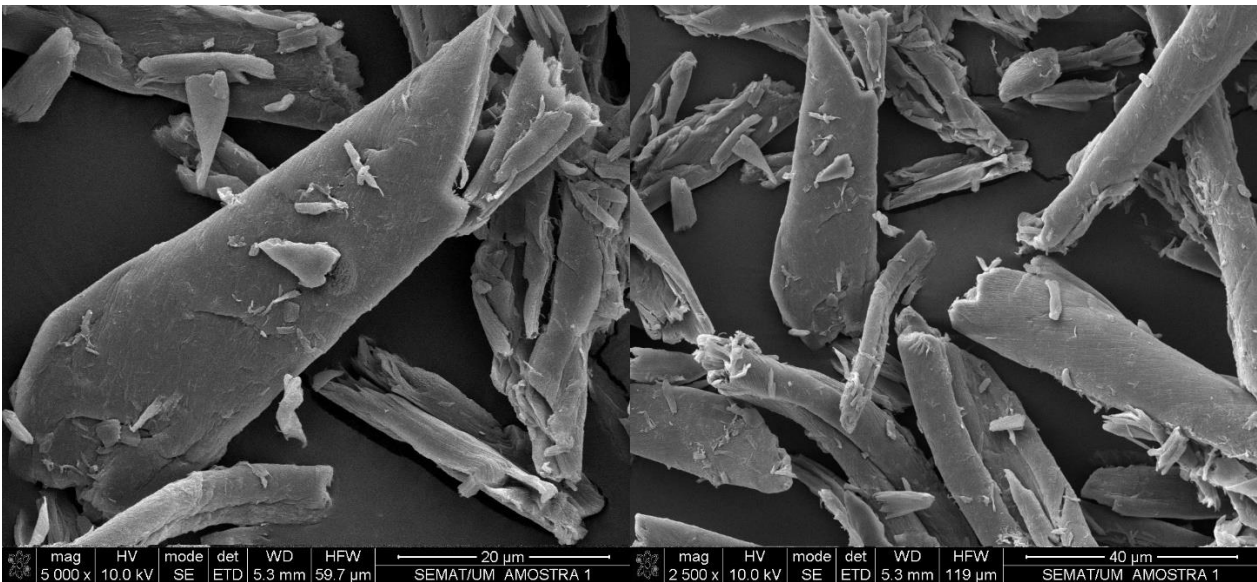


Figura 36 – Micrografias de celulose A obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 5000 x e 2500 x.

4.2.2. Micrografias de celulose catiônica

Nas figuras abaixo são apresentadas outras micrografias originais de microscopia eletrônica de varrimento referente a celulose catônica (16).

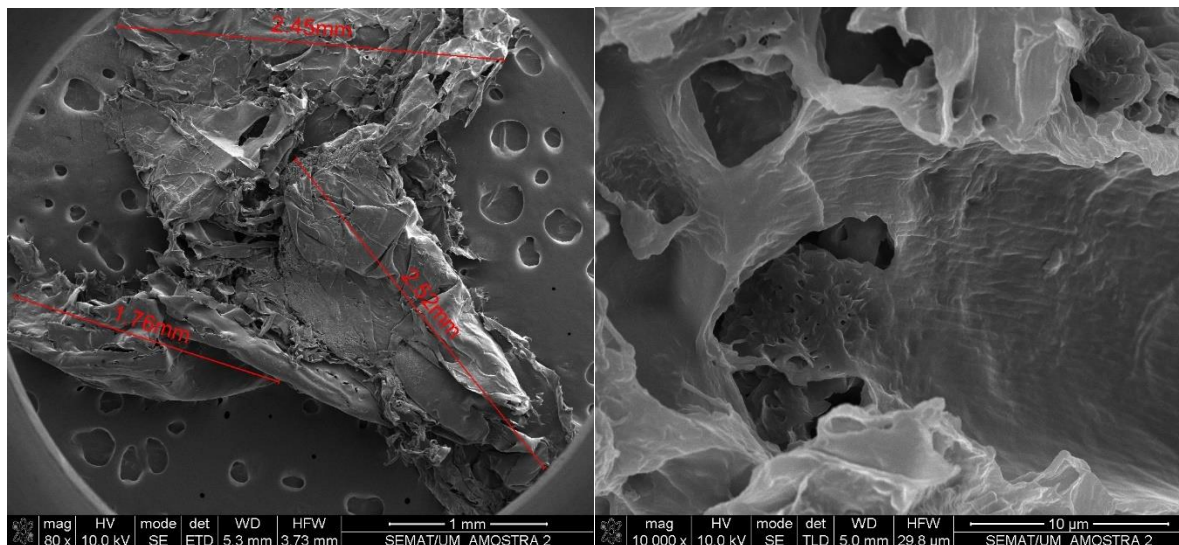


Figura 37 – Micrografias de celulose catiônica (16) obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 80 x e 10000 x.

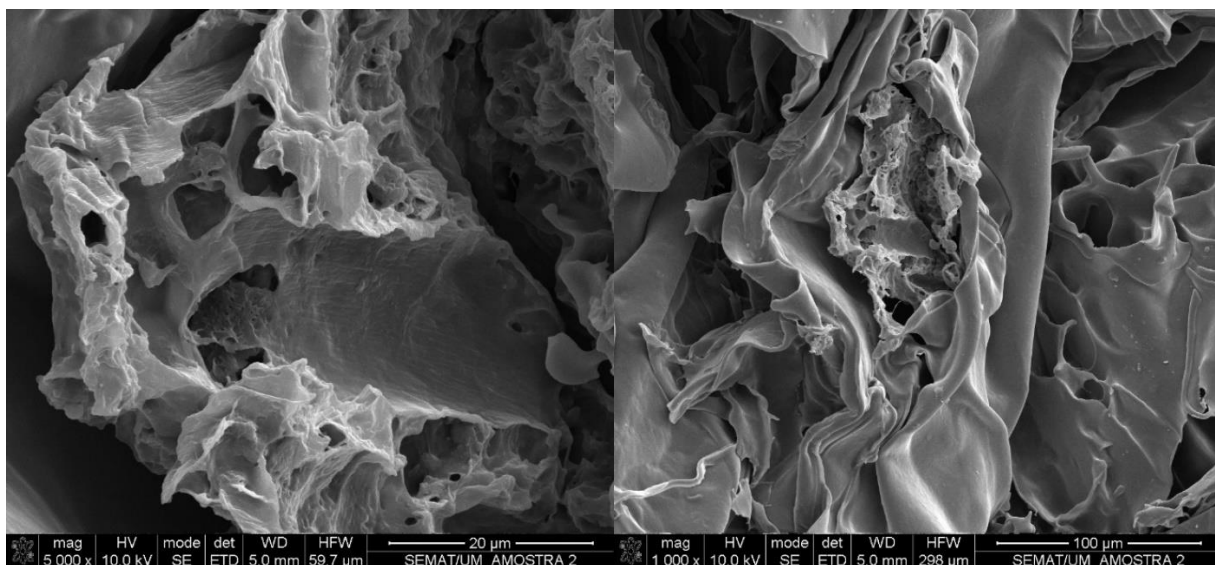


Figura 38 – Micrografias de celulose catiónica (16) obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 5000 x e 1000 x.

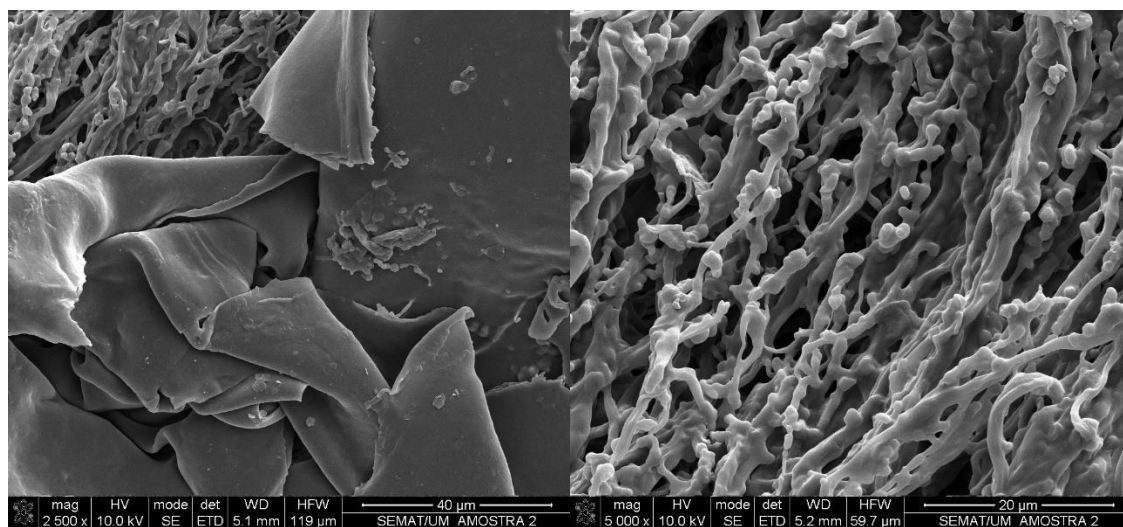


Figura 39 – Micrografias de celulose catiónica (16) obtidas por microscopia eletrônica de varrimento, com magnificações 2500 x e 5000 x.

3. TGA

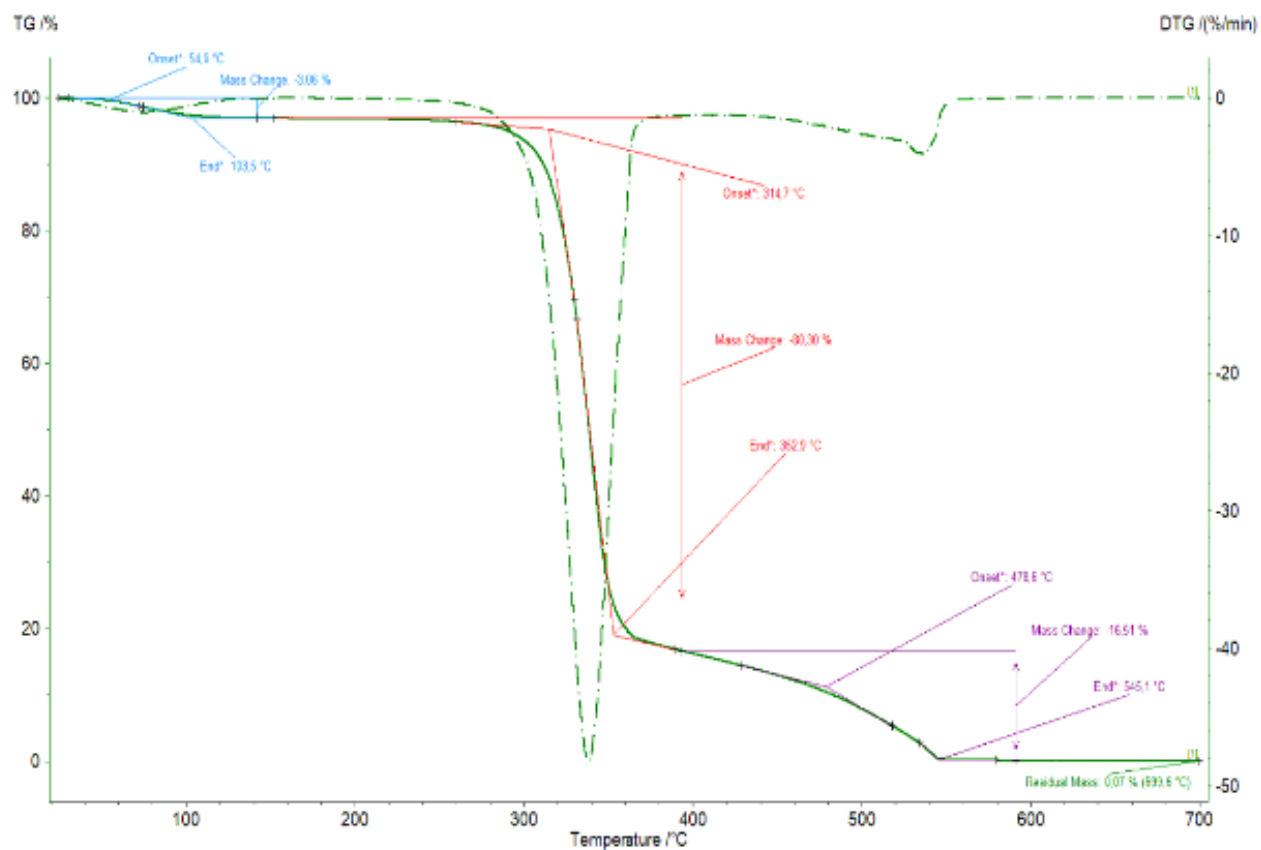


Figura 40 – Espetro experimental de TGA para a amostra de celulose A, com derivada.

4. DSC

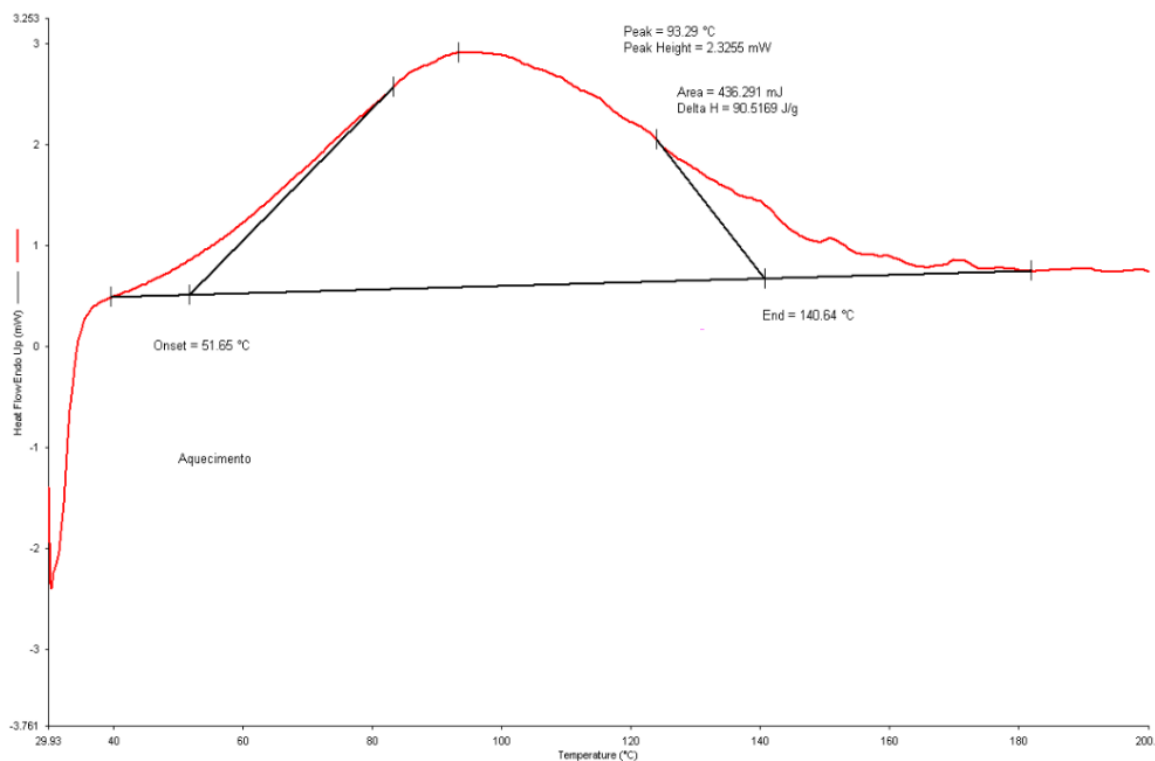


Figura 41 – Espetro experimental de DSC para a amostra de celulose A, aquecimento.

Tabela 14 – Cálculo de cristalinidade das celulosas A e B.

	ΔH_c (J/g)	MED	Desvio Padrão	Cristalinidade (%)
Celulose A (02)	90,5189	96,660	6,141	55,258
	102,8015			
Celulose A (04)	107,8465	102,122	5,724	52,730
	96,3979			
Celulose B	155,44	140,970	14,470	34,748
	126,5			

*Entalpia celulose "pura" J/g (ΔH_f) = 216,039

5. Espectros de FITR-ATR

4.5.1. Reações com lactama

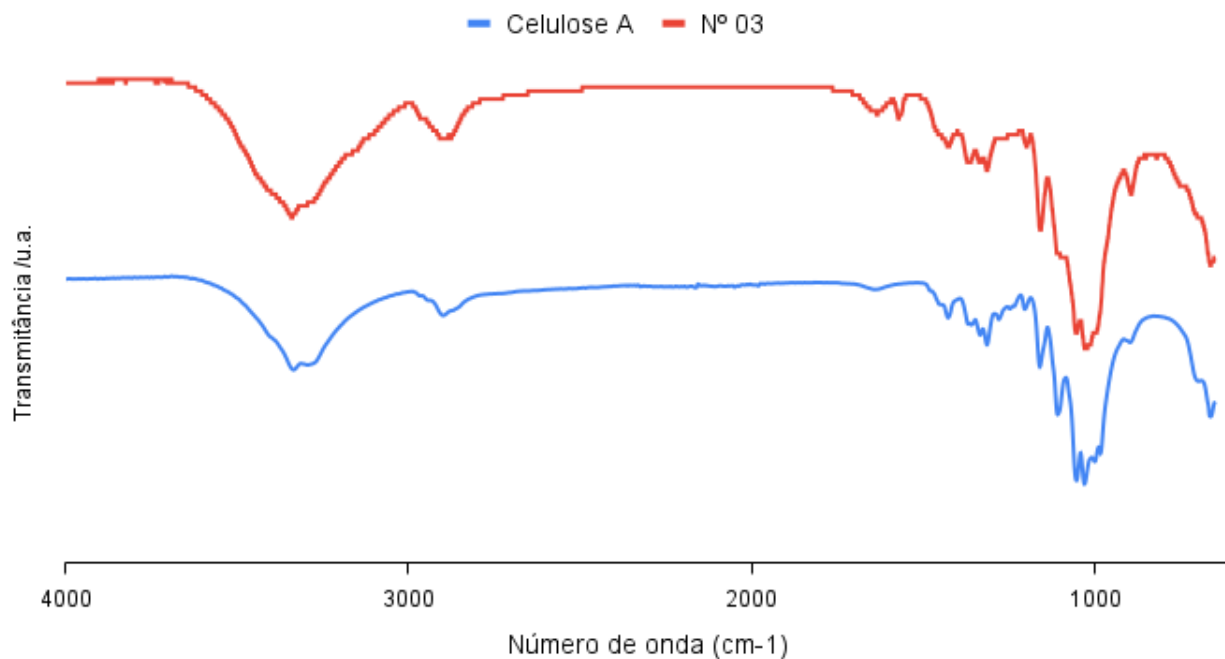


Figura 42 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 03.

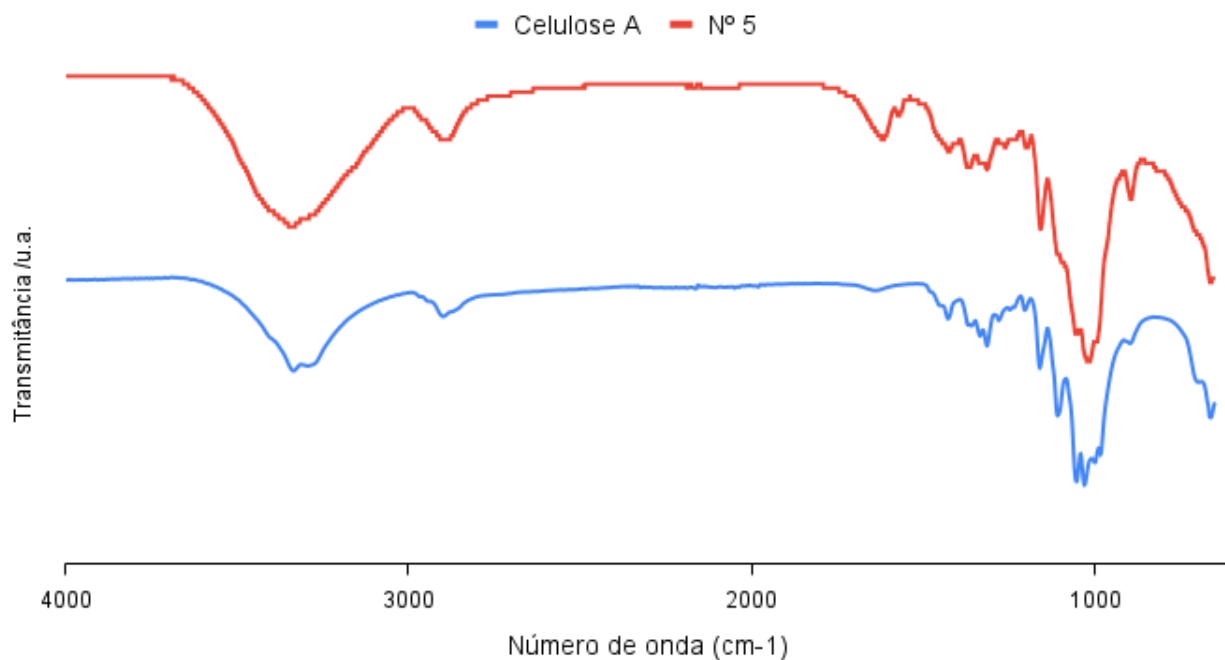


Figura 43 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 05.

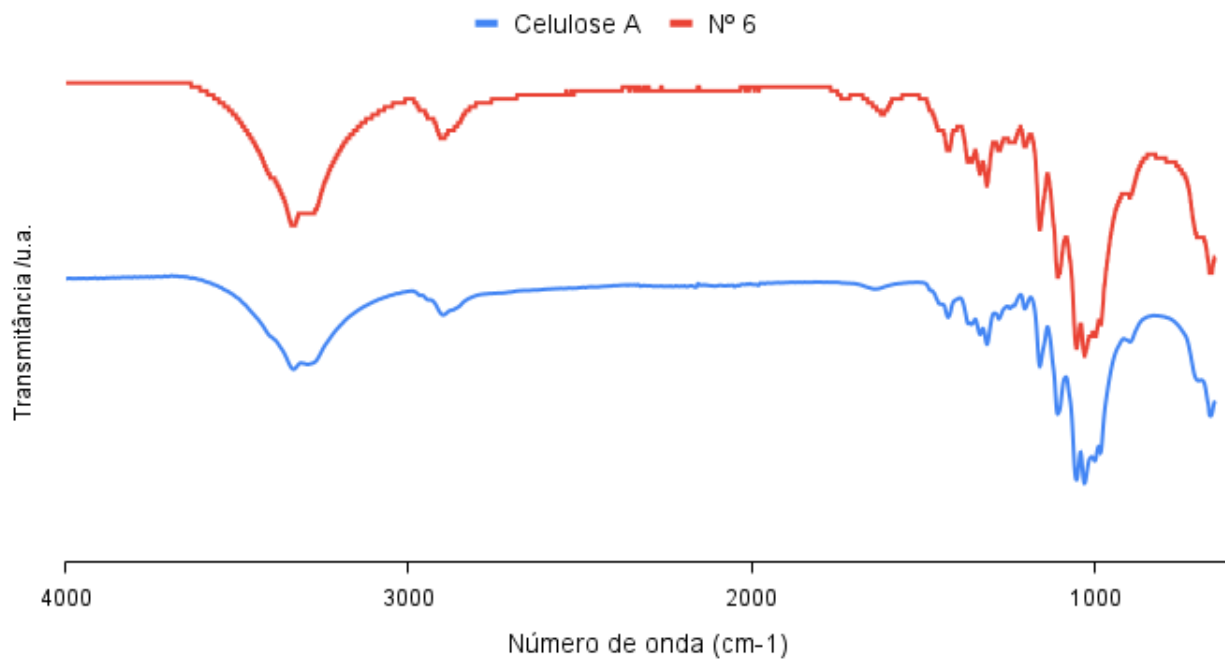


Figura 44 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 06.

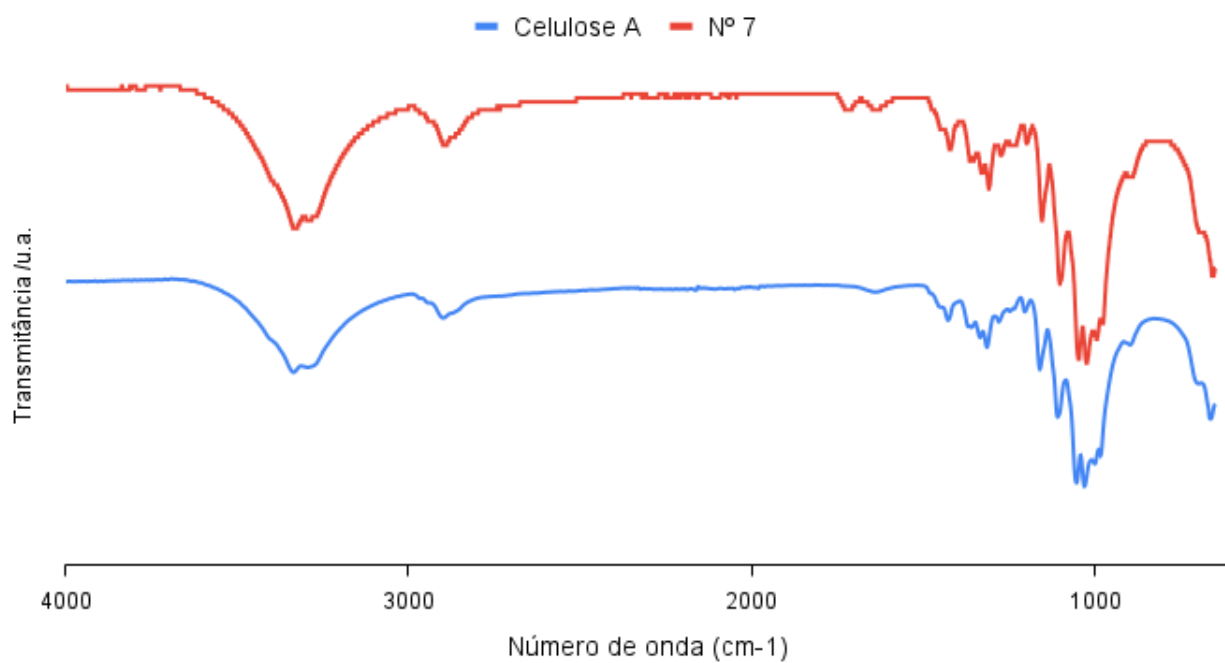


Figura 45 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 07.

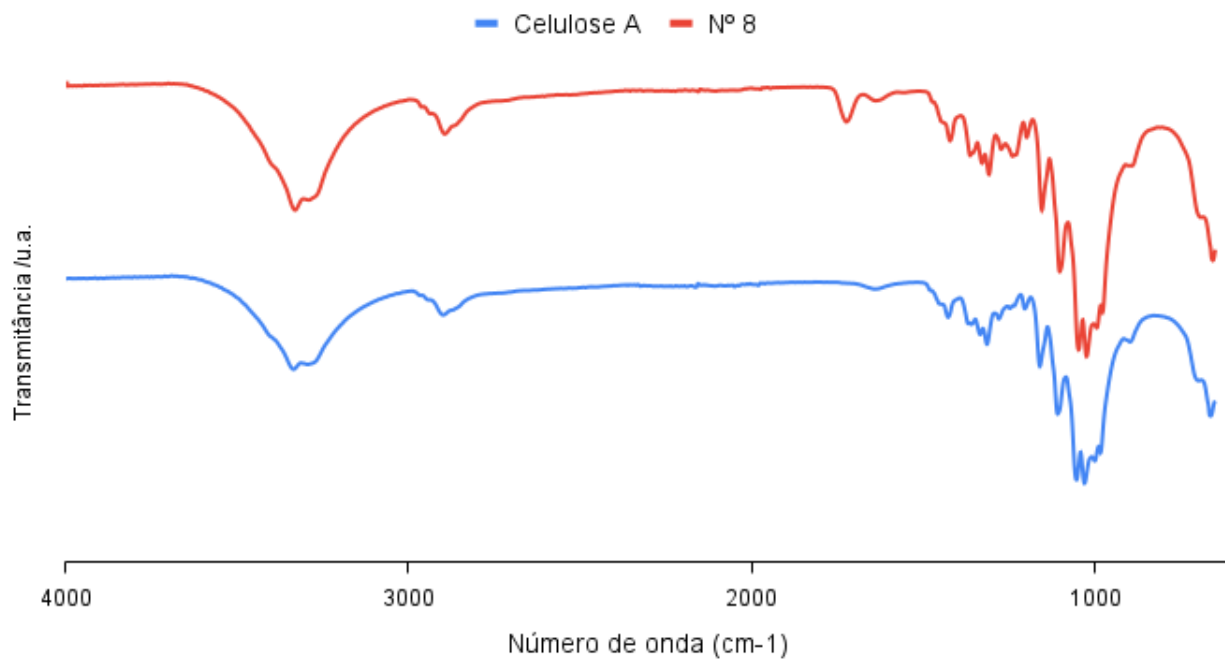


Figura 46 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 08.

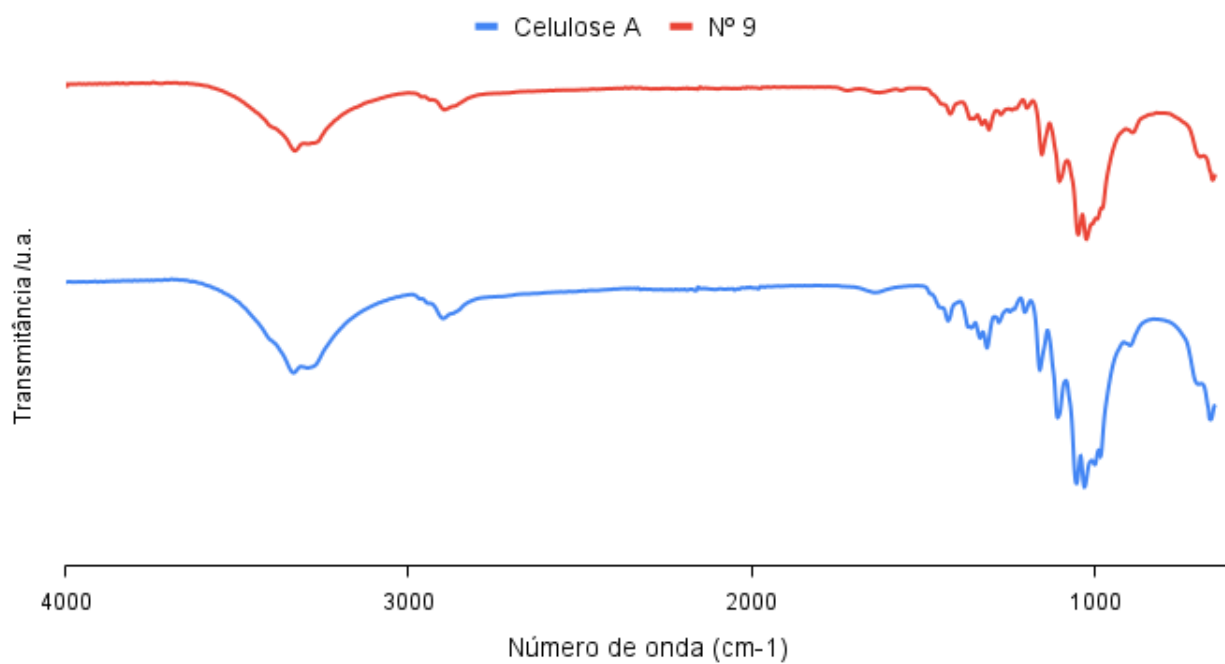


Figura 47 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 09.

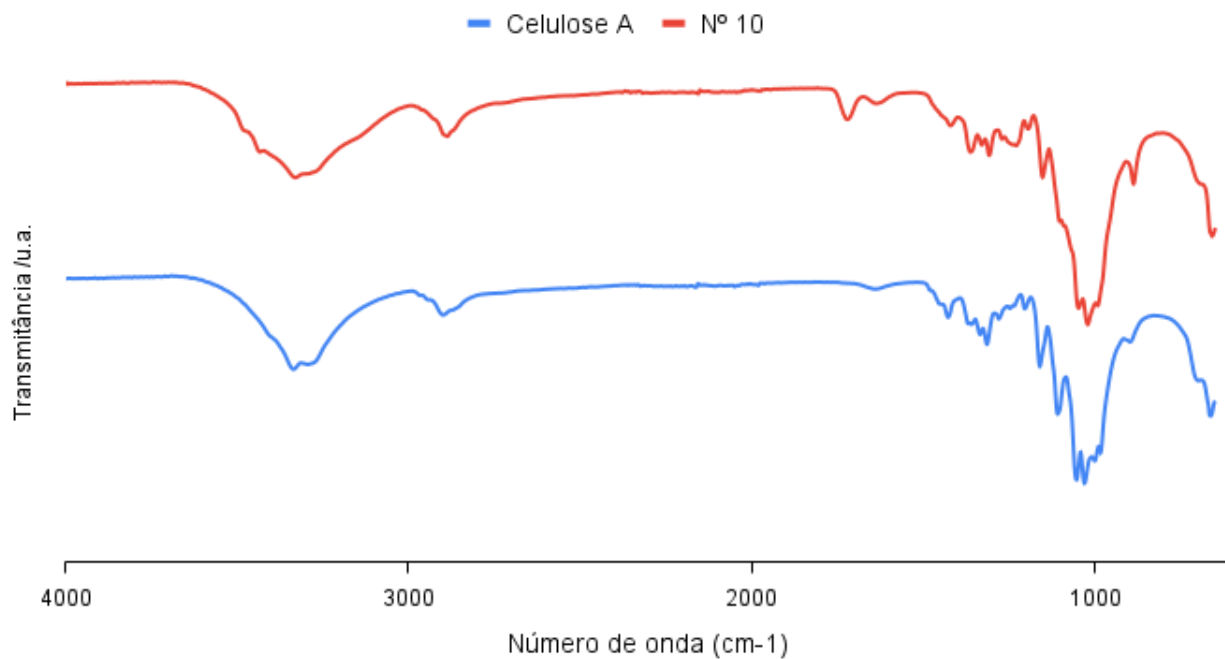


Figura 48 – Espetros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 10.

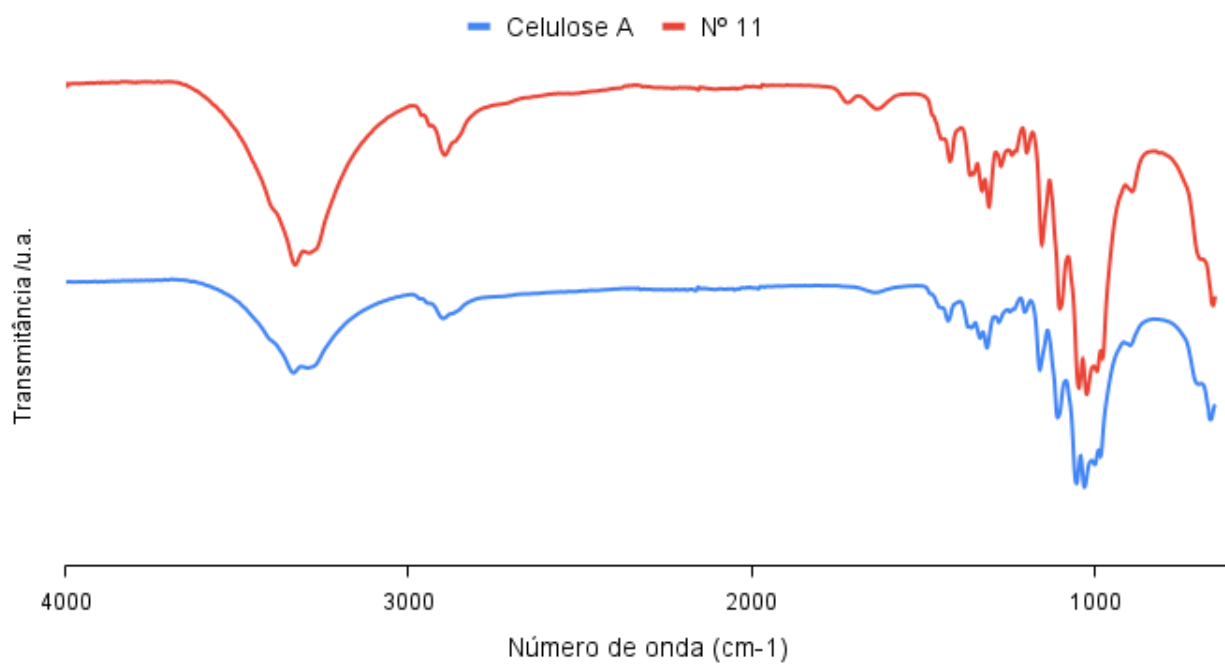


Figura 49 – Espetros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 11.

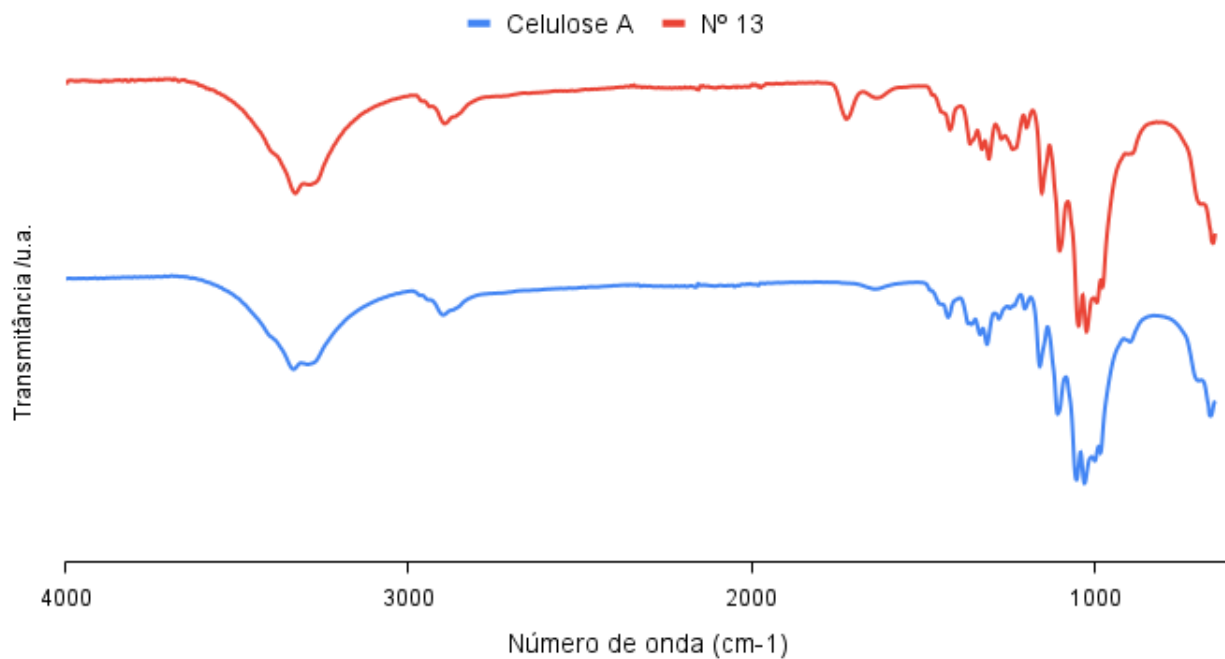


Figura 50 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 13.

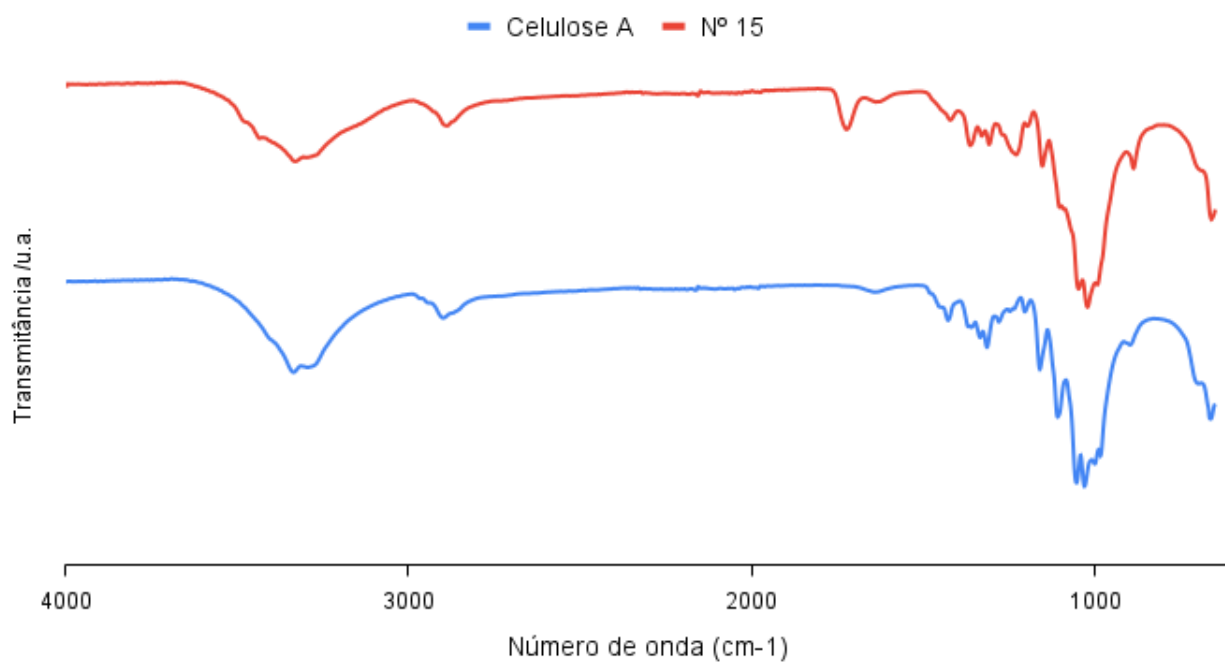


Figura 51 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 15.

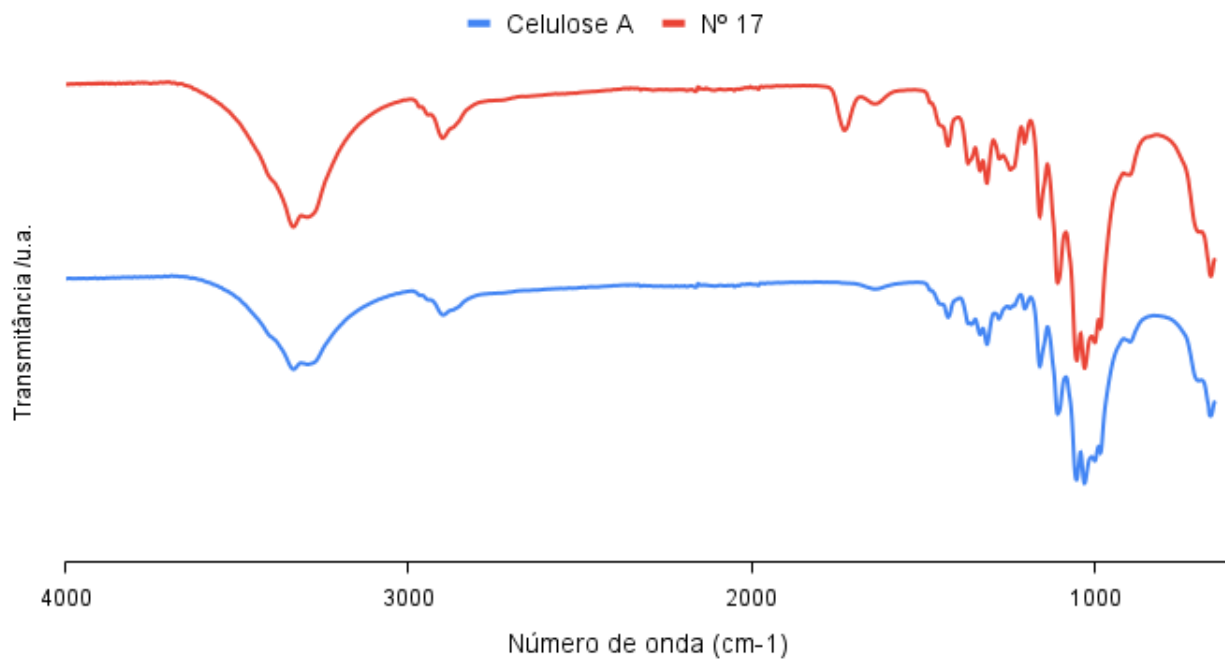


Figura 52 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 17.

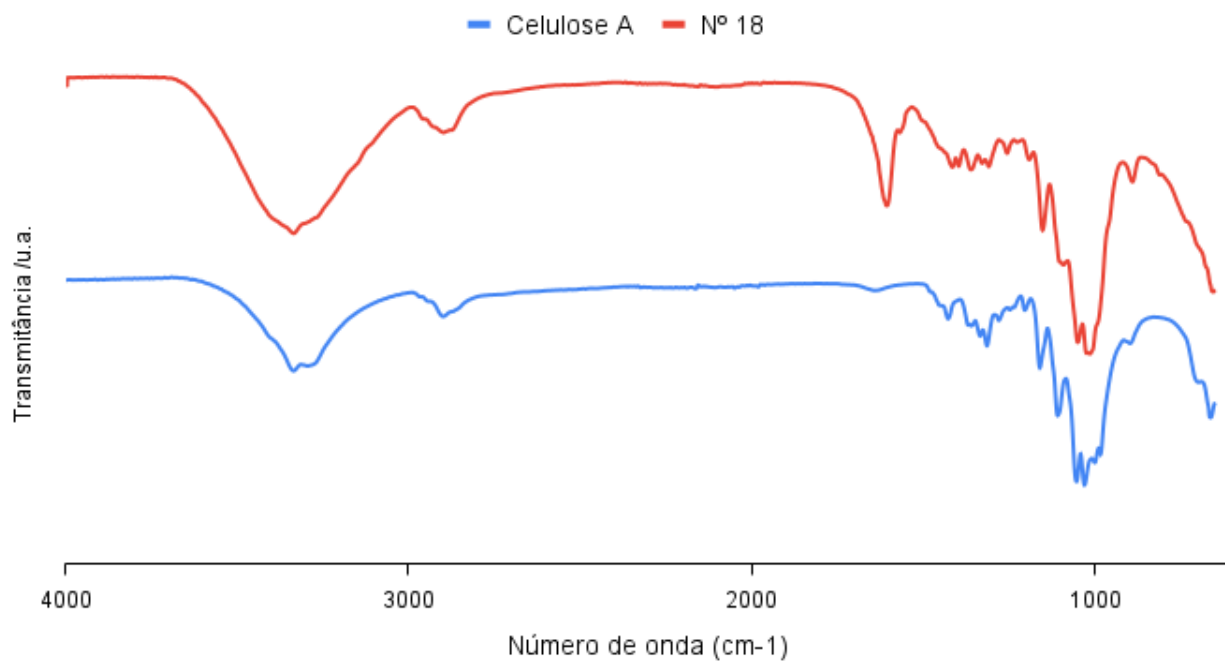


Figura 53 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 18.

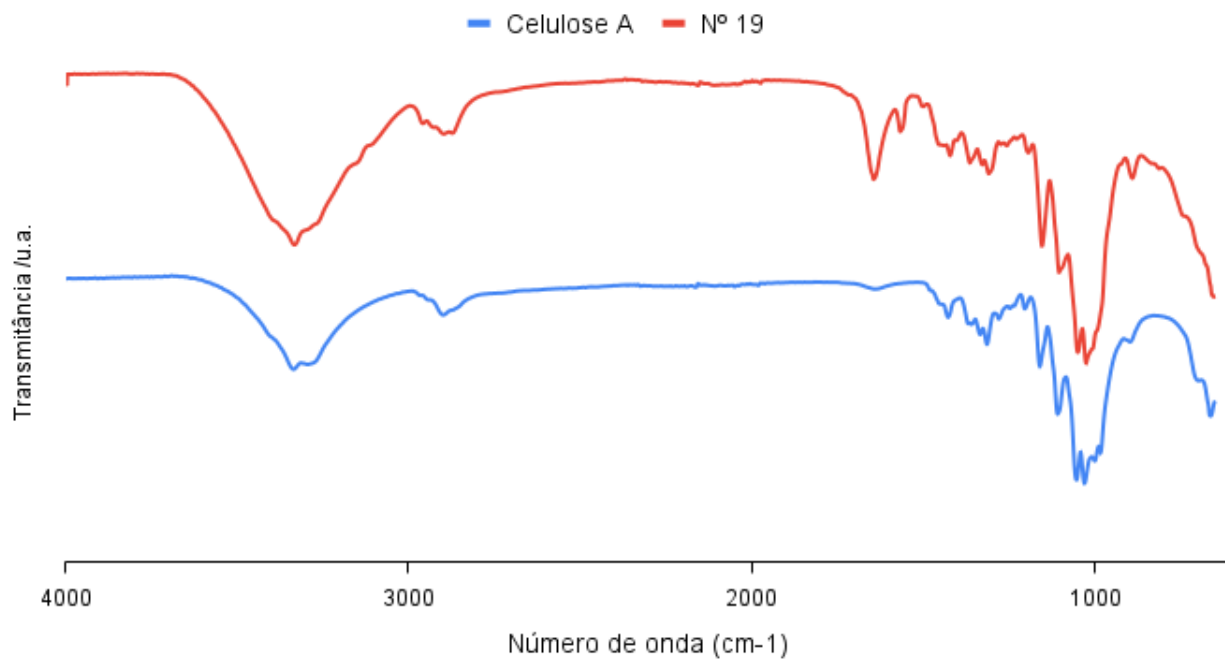


Figura 54 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 19.

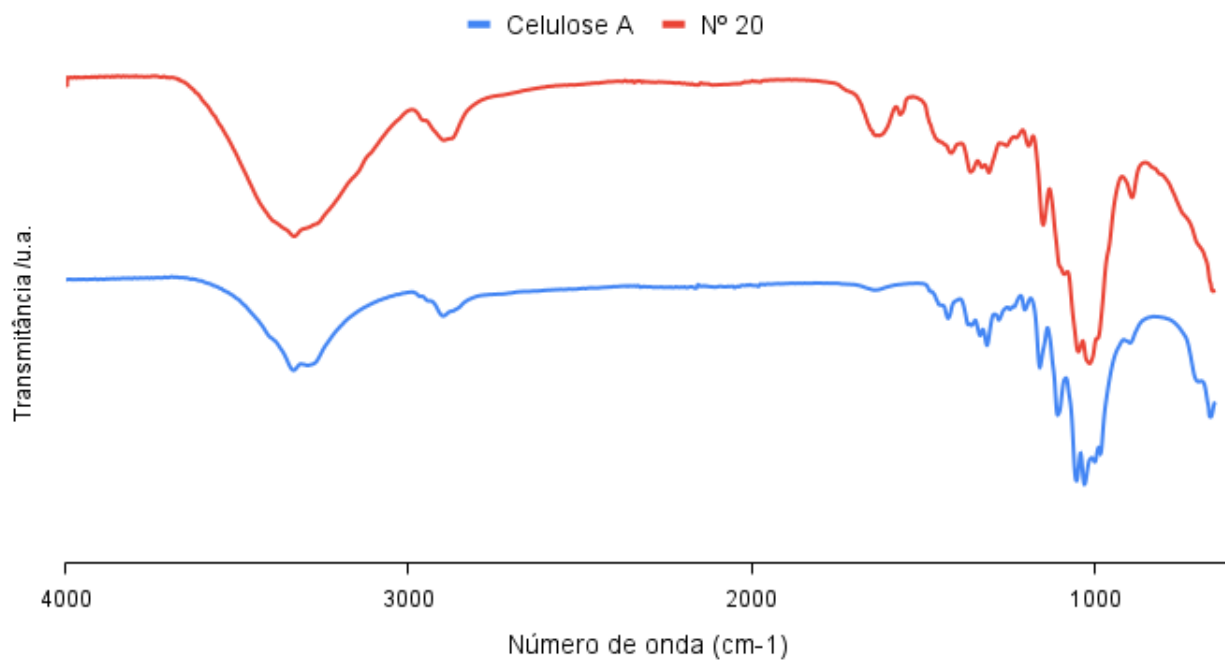


Figura 55 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 20.

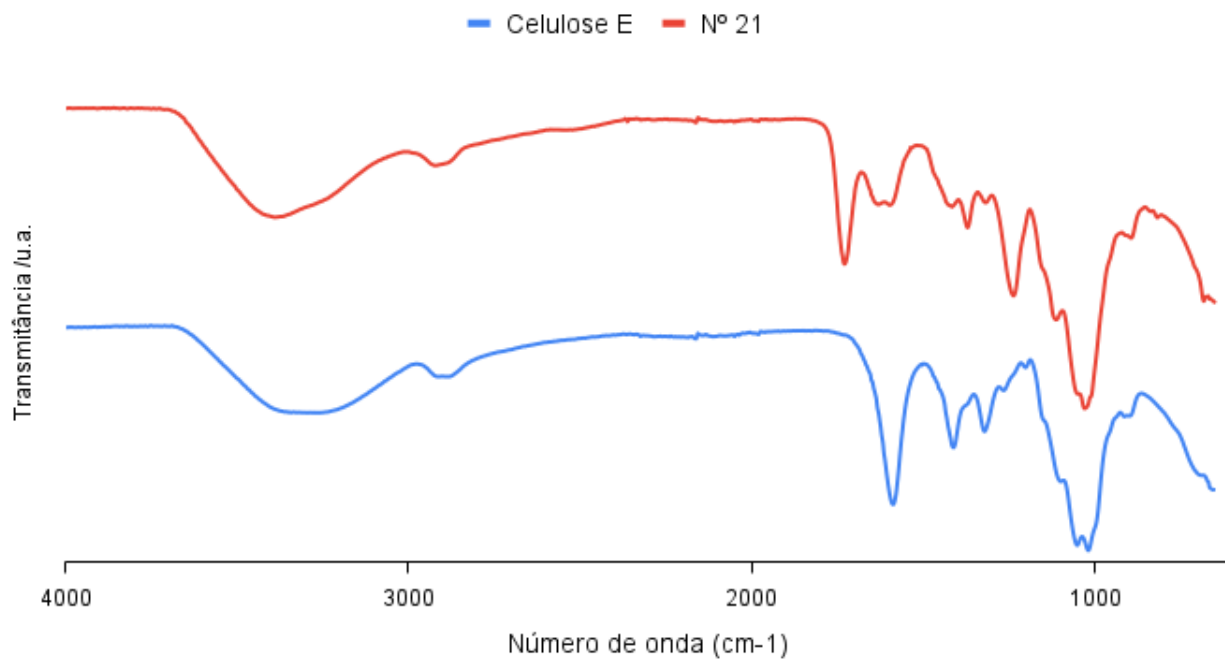


Figura 56 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 21.

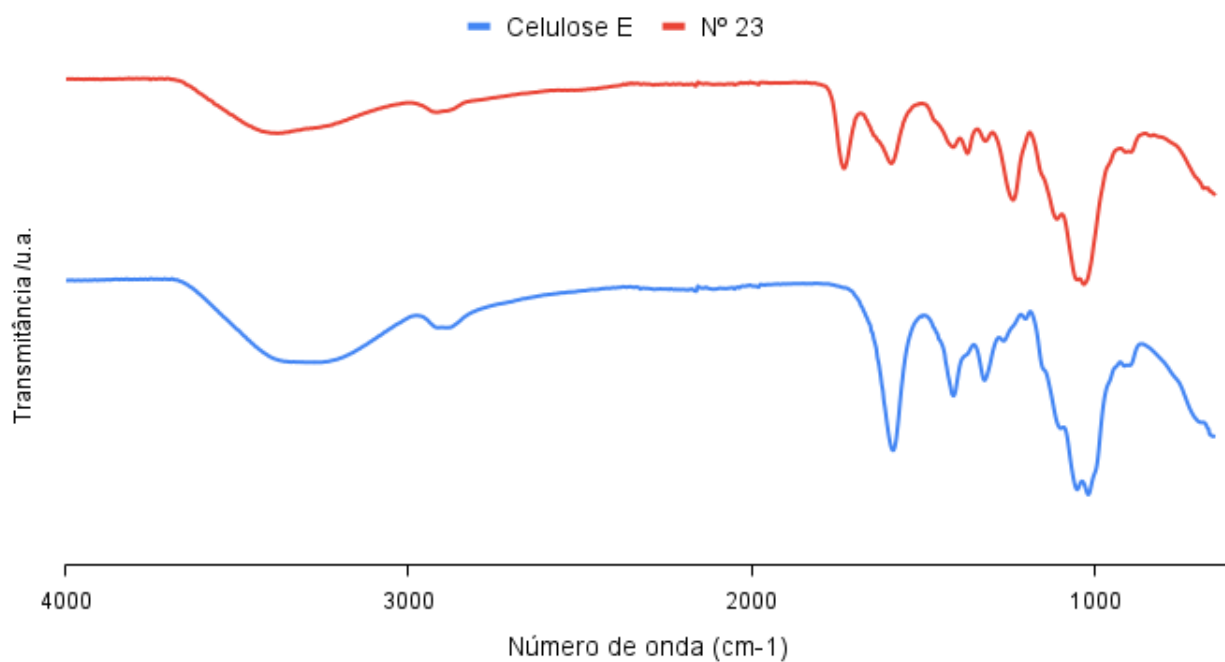


Figura 57 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 23.

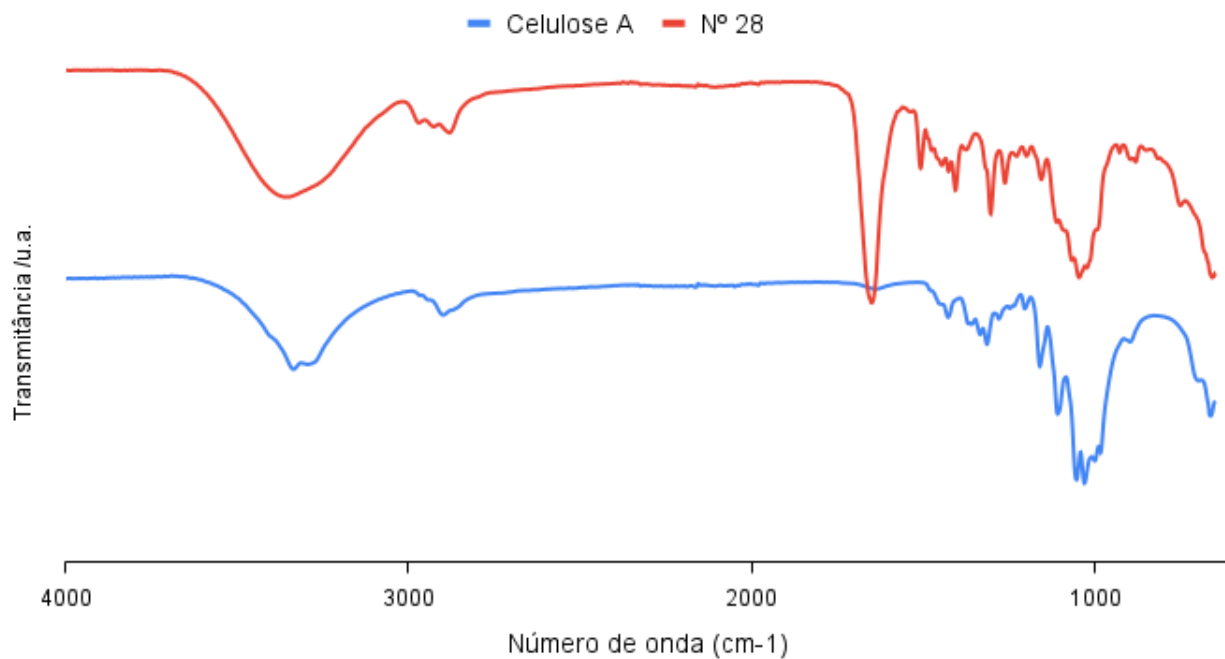


Figura 58 – Espectros de FTIR da celulose A e seu derivado n° 28.

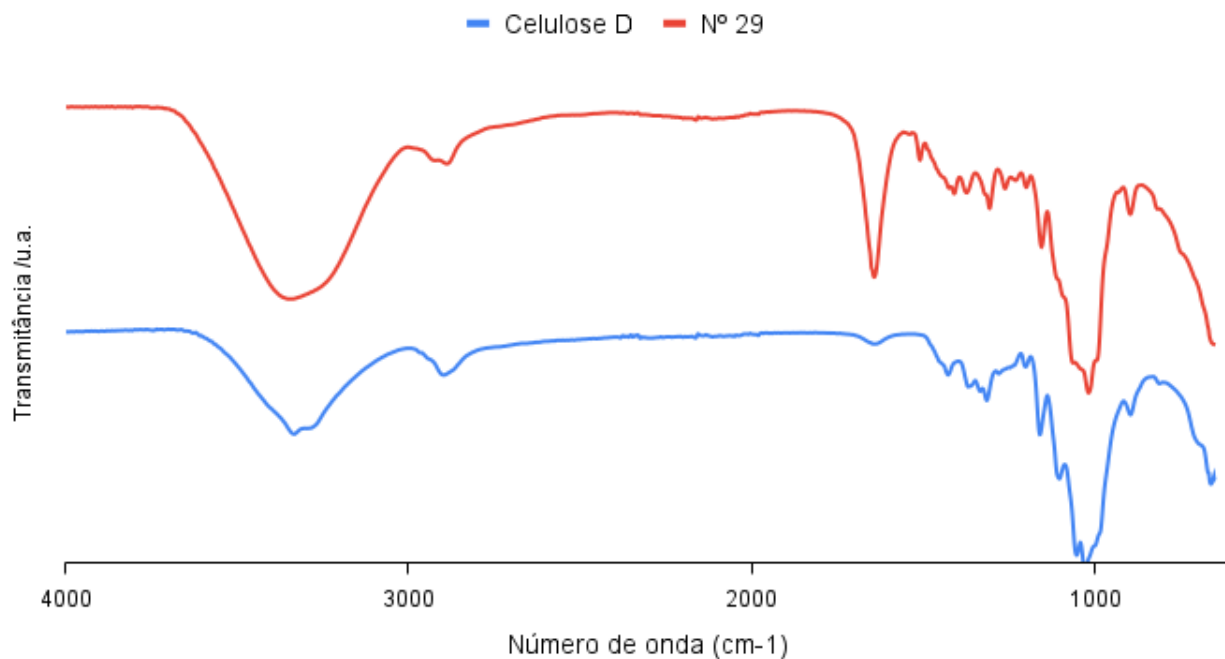


Figura 59 – Espectros de FTIR da celulose D e seu derivado n° 29.

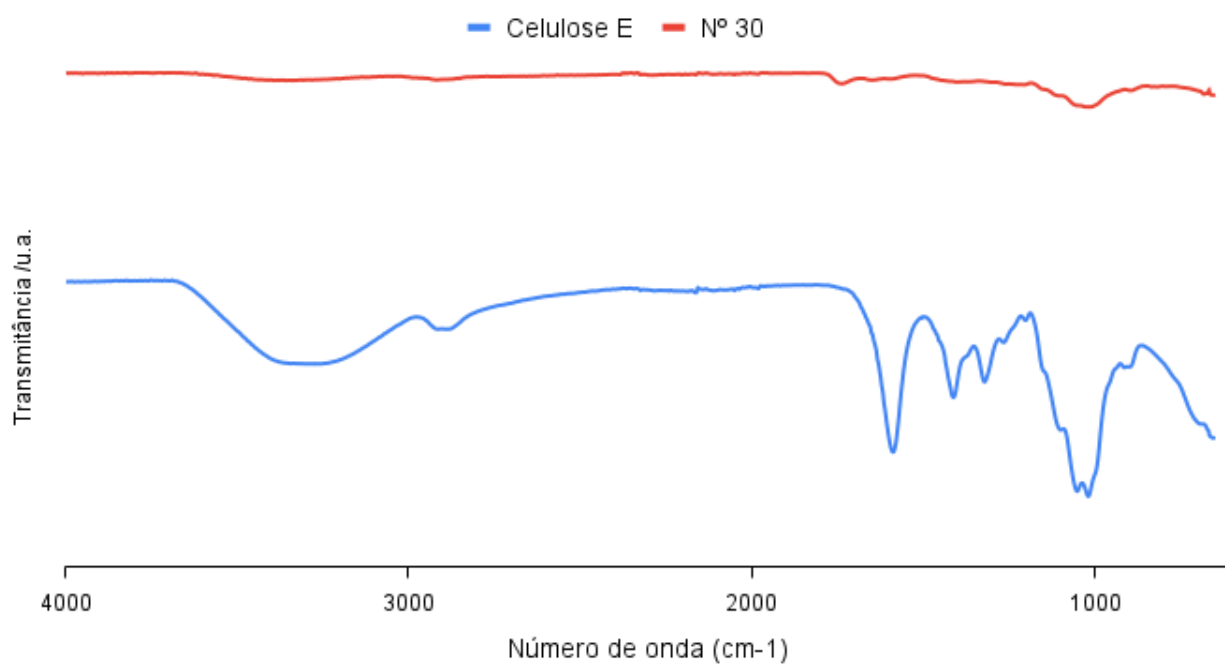


Figura 60 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 30.

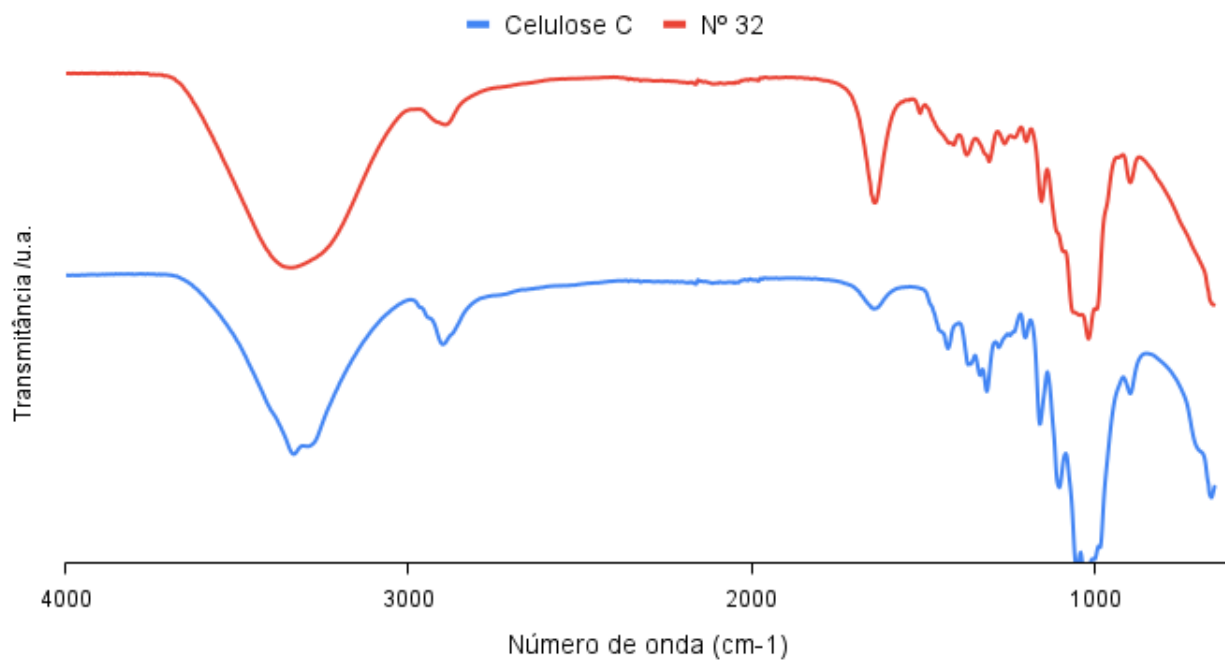


Figura 61 – Espectros de FTIR da celulose C e seu derivado n° 32.

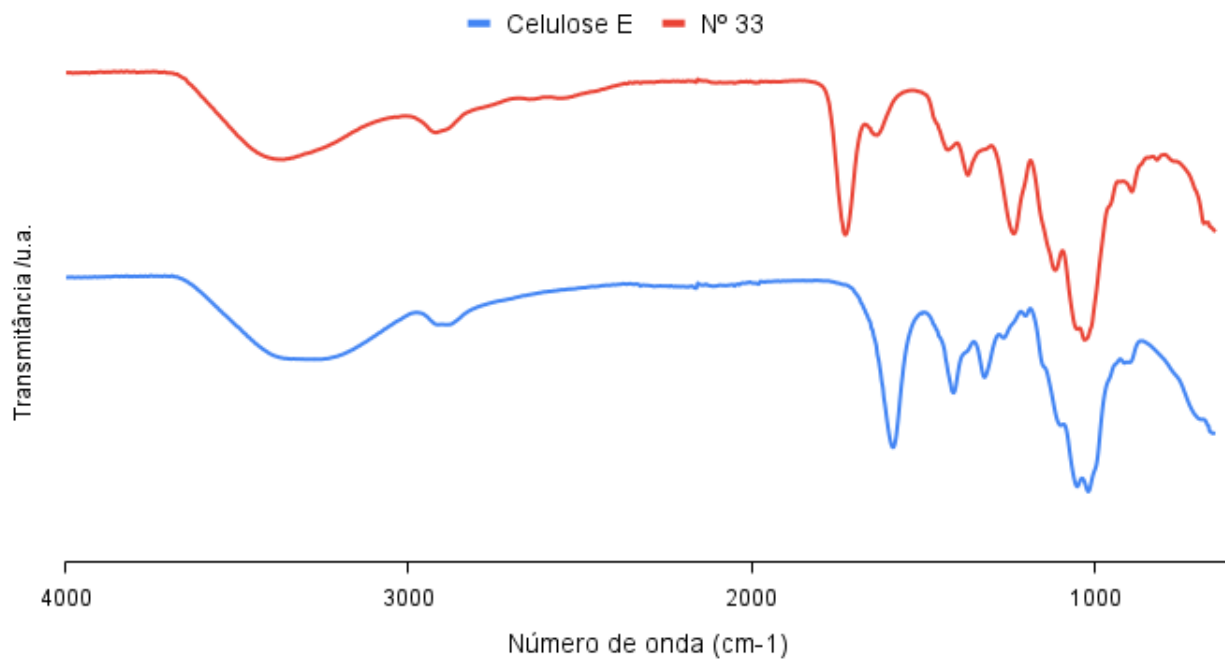


Figura 62 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 33.

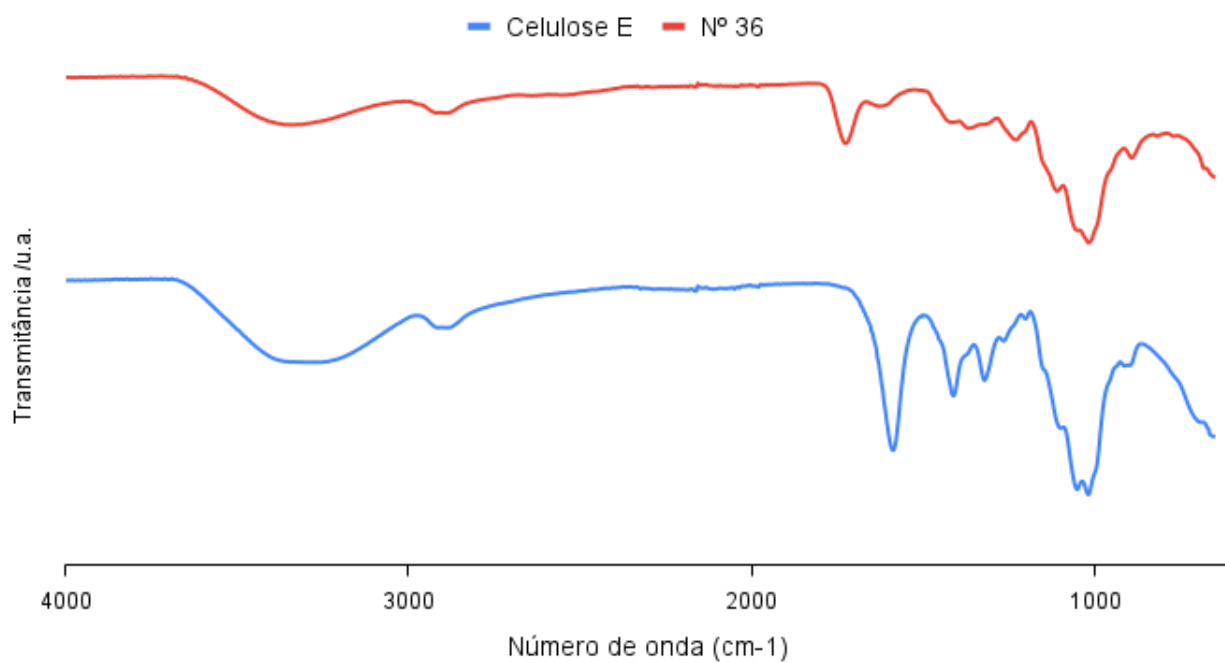


Figura 63 – Espectros de FTIR da celulose E e seu derivado n° 36.

4.5.2. Reações de amino celulose

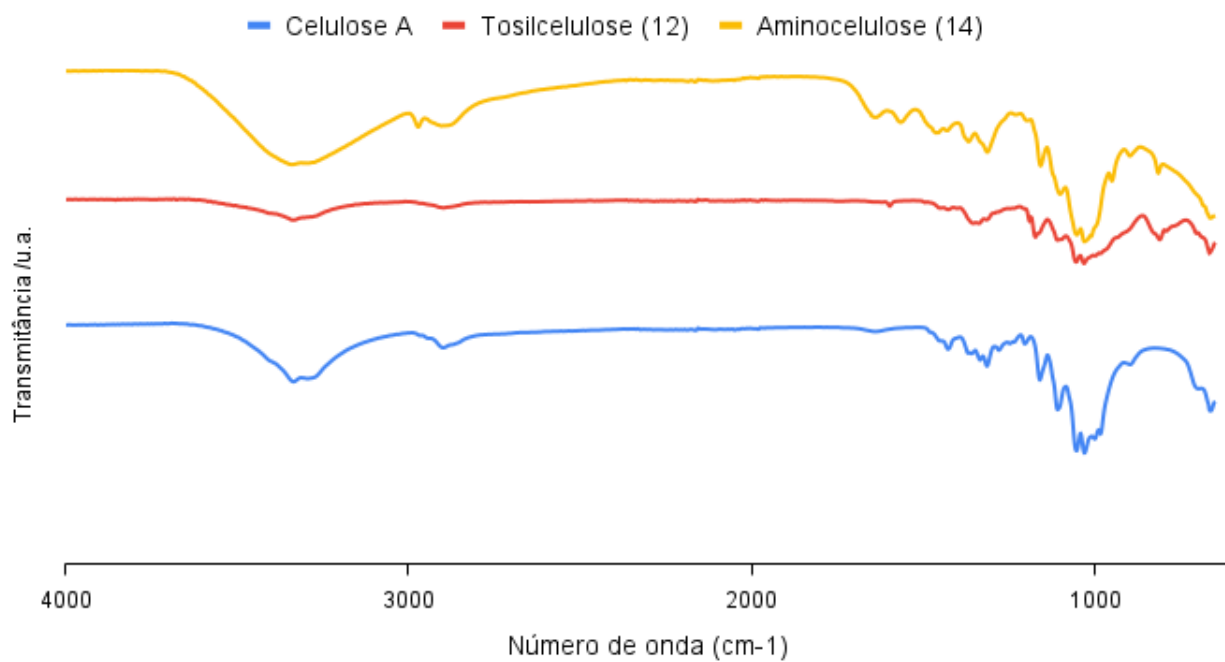


Figura 64 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados tosilcelulose n° 12 e aminocelulose I (14).

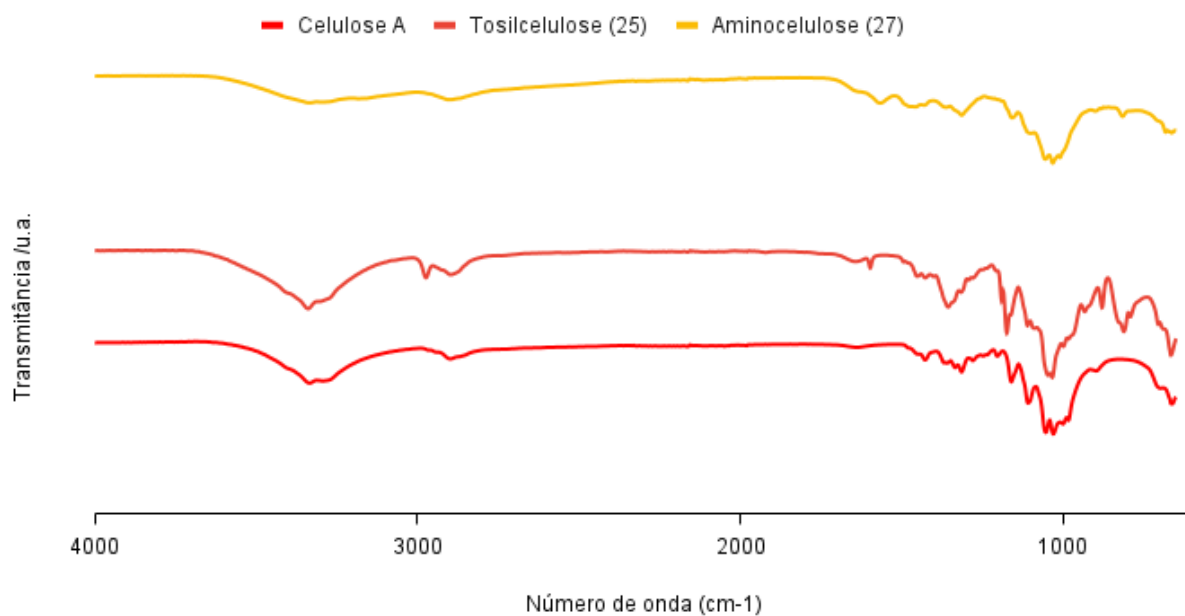


Figura 65 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados tosilcelulose n° 25 e aminocelulose II (27).

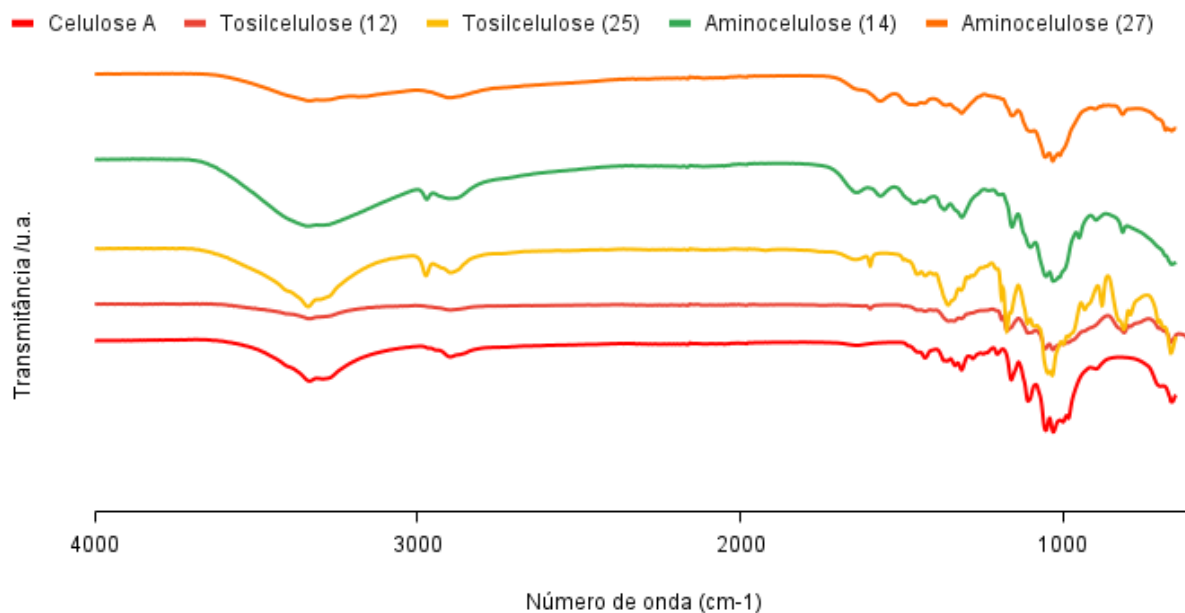


Figura 66 – Espectros de FTIR da celulose A e seus derivados tosilcelulose nº 12 e 25 e aminocelulose I (14) e II (27).

6. MIC

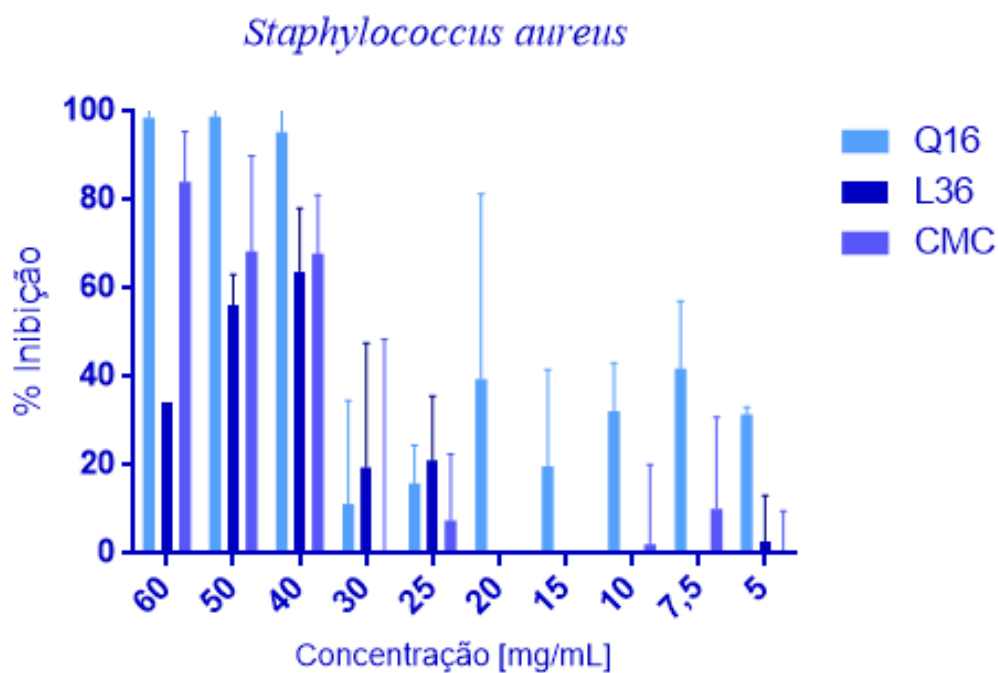


Figura 67 – MIC da CMC, do derivado catiónico (16) e zwitteriônica (36) para *Staphylococcus aureus*.

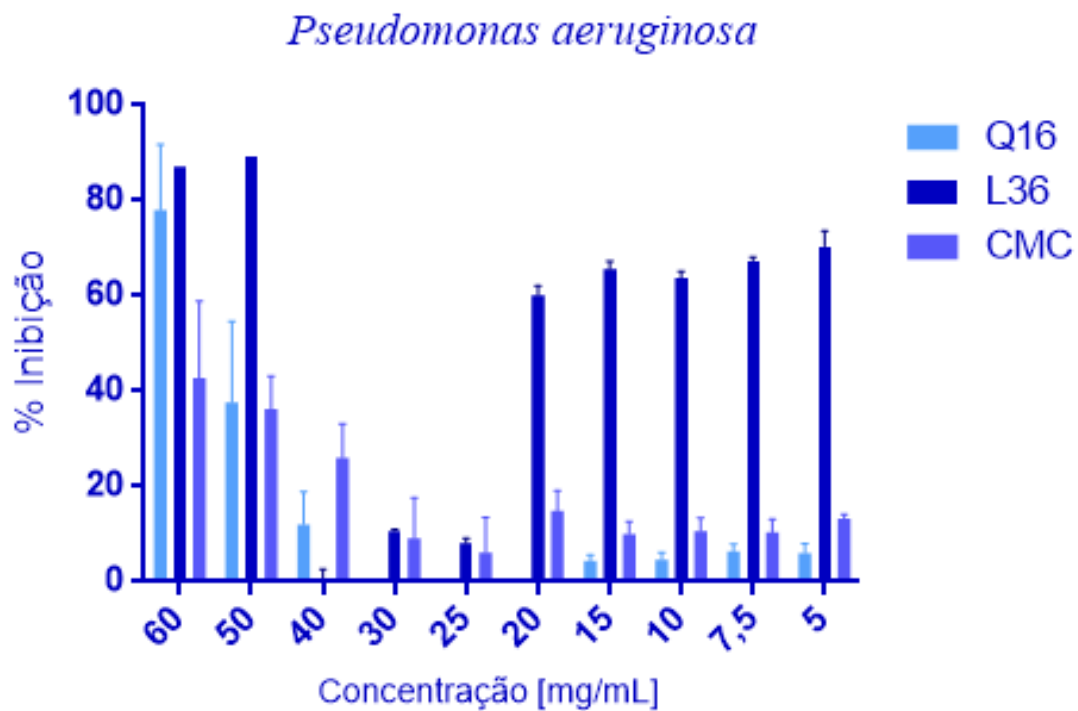


Figura 68 – MIC da celulose E, do derivado catiónico (16) e zwitteriónico (36) para *Pseudomonas aeruginosa*.

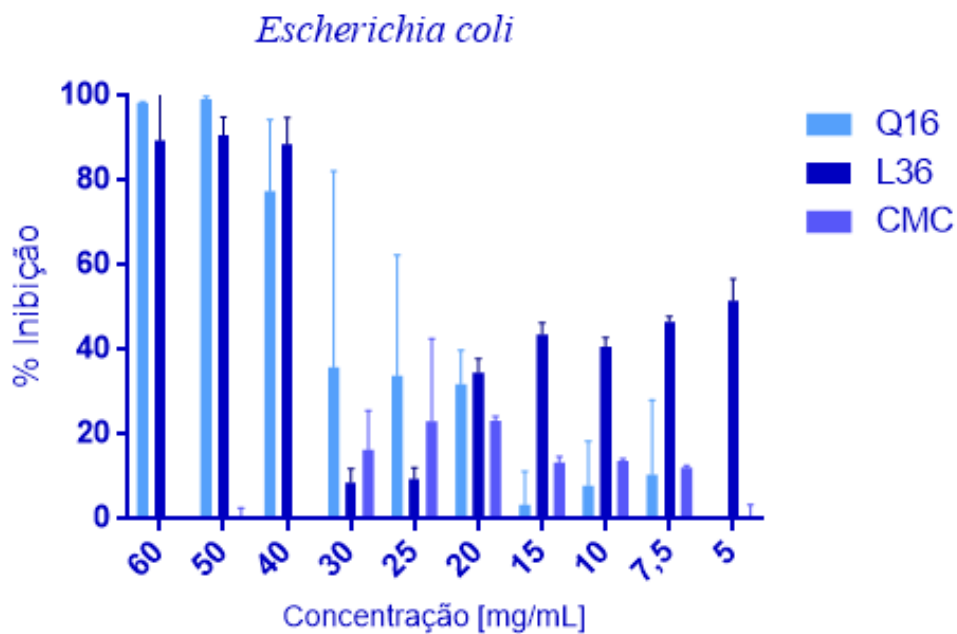


Figura 69 – MIC da celulose E (CMC), do derivado catiónico (16) e zwitteriônica (36) para *Escherichia coli*.