



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FERNANDA NARDO COBO

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES MICROPOROSOS
DE TRIACETATO DE CELULOSE UTILIZANDO A TÉCNICA DE *SPIN
COATING***

Londrina
2016

FERNANDA NARDO COBO

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES MICROPOROSOS
DE TRIACETATO DE CELULOSE UTILIZANDO A TÉCNICA DE *SPIN
COATING***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Gizilene Maria de Carvalho

Londrina
2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C657p Cobo, Fernanda Nardo.

Preparação e caracterização de filmes microporos e triacetato de celulose utilizando a técnica de Spin Coating / Fernanda Cobo Nardo. – Londrina, 2016.

96 f. : il.

Orientador: Gizilene Maria Carvalho.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2016.

Inclui bibliografia.

1. Físico-química– Teses. 2. Triacetato de celulose– Teses. 3. Materiais porosos - Microscopia – Teses. 4. Compósitos poliméricos – Teses. 5. Polímeros \$x Pesquisa – Teses. 6. I. Gizilene Maria Carvalho. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em química. III. Título.

CDU 541.1

FERNANDA NARDO COBO

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES MICROPOROSOS
DE TRIACETATO DE CELULOSE UTILIZANDO A TÉCNICA DE *SPIN
COATING***

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Gizilene Maria de
Carvalho
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Henrique de Santana
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. José Leonil Duarte
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 08 de março de 2016

*À minha família e a todos que
contribuíram para esta conquista.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, coragem e força perante todas as dificuldades encontradas durante esta trajetória.

À toda minha família pelo apoio, amor e dedicação, em especial ao meu esposo Victor, minha filha Sofia e aos meus pais João e Solange.

À minha orientadora, Profa. Dra. Gizilene Maria de Carvalho, por todo conhecimento compartilhado, pela dedicação e apoio em todos os momentos deste trabalho.

Ao meu grupo de pesquisa, em especial as alunas Aline, Ana Paula, Bárbara, Mariana e Natália pelo compartilhamento de conhecimento e também pela amizade e apoio.

Ao Prof. Dr. José Leonil Duarte pela disponibilidade do equipamento *spin coater*, que foi fundamental para realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Paula Tischer pela colaboração e dedicação na realização das análises de Microscopia de Força Atômica.

Ao Prof. Dr. Henrique Santana pela colaboração e empenho com as análises de Espectroscopia Raman intensificada por superfície.

Aos Laboratórios Multiusuários da PROPPG- Laboratório de Espectroscopia (ESPEC) e Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise (LMEM) da Universidade Estadual de Londrina.

À CAPES e CNPq pelo financiamento da bolsa de estudo e apoio a pesquisa.

“Se não posso realizar grandes coisas, posso pelo menos fazer pequenas coisas com grandeza”. (Clarck)

COBO, Fernanda Nardo. **Preparação e Caracterização de Filmes Microporosos de Triacetato de Celulose Utilizando a Técnica de Spin Coating**. 2016. 96 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, 2016.

RESUMO

O presente trabalho apresenta a produção e caracterização de filmes microporosos de triacetato de celulose. O triacetato de celulose foi obtido a partir da acetilação homogênea da celulose extraída da madeira, por um eficiente método totalmente livre de cloro. Os filmes microporosos foram produzidos através da técnica *breath figure* via *spin coating* e caracterizados por Microscopia Óptica, Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Força Atômica. O efeito do solvente, concentração da solução polimérica, massa molar do polímero e velocidade de rotação do *spin coater* foram investigados na formação e morfologia dos poros. Os poros observados apresentaram morfologia arredondada e o diâmetro médio variou de 0,1 - 0,4 μm . Foi observado que os solventes utilizados (CHCl_3 e CH_2Cl_2) produziram diferentes densidades de poros na superfície dos filmes. A concentração da solução polimérica e a massa molar do polímero tiveram efeito no tamanho dos poros. O aumento da velocidade de rotação do *spin coater* resultou na formação de poros com menor dispersão de tamanho. Os filmes microporosos de triacetato de celulose foram recobertos com nanopartículas de prata e utilizados como substratos em Espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS) para detecção de L-cisteína.

Palavras-chave: Estruturas microporosas. Breath Figure. Microscopia.

COBO, Fernanda Nardo. **Preparation and Characterization of Microporous Films of Cellulose Triacetate Using the Spin Coating Technique**. 2016. 96 pp. Dissertation (Master's Degree Chemistry) – State University of Londrina, 2016.

ABSTRACT

This work reports the production and characterization of microporous films of cellulose triacetate. The cellulose triacetate was obtained from homogeneous acetylation of cellulose extracted from wood by an effective method totally free of chlorine. The microporous films were produced using the breath figure technique via spin coating and characterized by Optical Microscopy, Scanning Electron Microscopy and Atomic Force Microscopy. Microporous films of cellulose triacetate showed pores with rounded morphology and average pore diameter was 0.1 to 0.4 μm . The effect of the solvent, concentration of the polymer solution, the polymer molar mass and spin coater speed of rotation were investigated on the formation and morphology of the pores. It was observed that the used solvents (CHCl_3 and CH_2Cl_2) yielded different densities of pores on the surface film. The concentration of the polymer solution and the molecular weight of the polymer had an effect on the pore size. Increasing the spin coater rotating speed resulted in formation of pores with less dispersion in size. The microporous films of cellulose triacetate were coated with silver nanoparticles and used as substrates for surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) for L-cysteine detection.

Keywords: Microporous structures. Breath Figure. Microscopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação dos principais processos de preparação de filmes poliméricos porosos pela técnica <i>breath figure</i>	21
Figura 2 – Representação do mecanismo de formação dos filmes poliméricos porosos pela técnica <i>breath figure</i>	22
Figura 3 - Ilustração do mecanismo de formação de filmes porosos proposto por Maruyama e colaboradores (1998)	24
Figura 4 - Estrutura química da cadeia polimérica da celulose	28
Figura 5 - Estrutura química da cadeia polimérica do acetato de celulose.....	29
Figura 6 - Representação esquemática para as formas carregadas da cisteína em função do pH.....	33
Figura 7 - Esquema experimental para a produção de filmes porosos pela técnica de <i>spin coating</i> combinada ao <i>breath figure</i>	39
Figura 8 - Fluxograma das etapas de produção dos filmes microporosos de triacetato de celulose	40
Figura 9 - Esquema das etapas realizadas para a produção dos substratos SERS para a detecção de L-cisteína	43
Figura 10 - Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) das amostras de (a) madeira e (b) Celulose	45
Figura 11 - Imagens digitais das amostras de madeira e celulose purificada.....	45
Figura 12 - Mecanismo proposto para a hidrólise heterogênea de celulose catalisada por ácido	46
Figura 13 - Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) das amostras de (a) Celulose e de (b) Celulose após a redução da massa molar (CEL MMR).....	46
Figura 14 - Reação de acetilação homogênea da celulose para obtenção do triacetato de celulose	48
Figura 15 - Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) das amostras (a) (1) Celulose (2) TAC e (b) (1) Celulose após redução da massa molar (CEL MMR) e (2) triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR).....	49
Figura 16 - Curvas de DSC para (a) triacetato de celulose (TAC) e (b) triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR). Taxa	

de aquecimento de 20 °C min⁻¹ sob fluxo de N₂ de 50 mL min⁻¹.

T_m – temperatura de fusão e T_c – temperatura de cristalização51

- Figura 17** - Curvas de (a) TG e de (b) DTG das amostras de Celulose, Celulose após a redução da massa molar (CEL MMR), triacetato de celulose (TAC) e triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR)52
- Figura 18** - Imagens de MO para (a) superfície compacta sem a presença de poros (Amostra 2- Tabela 4), (b) Superfície com poros regulares e bem distribuídos (Amostra 3- Tabela 4) e (c) Superfície com poros irregulares e com distribuição aleatória (próxima ao centro da amostra 3- Tabela 4)54
- Figura 19** - Imagens de MEV dos filmes microporosos de: (a) solução 3% (m/v) de acetato de celulose em clorofórmio obtido na velocidade de rotação 3000 rpm (TAC MMR- CHCl₃ 3000); (b) solução 5% (m/v) de acetato de celulose em diclorometano obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC- CH₂Cl₂- 1000 rpm)56
- Figura 20** - Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose 3% em diclorometano (m/v) obtido na velocidade de rotação de 1000rpm (TAC MMR-CH₂Cl₂ – 1000 rpm;) (b) solução de triacetato de celulose 3% (m/v) em clorofórmio obtido na velocidade de rotação de 1000rpm (TAC MMR-CHCl₃– 1000 rpm)58
- Figura 21** - Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose massa molar reduzida 3% em diclorometano (m/v) obtido na velocidade de rotação de 1000rpm (TAC MMR- CH₂Cl₂ – 1000 rpm;) (b) solução de triacetato de celulose massa molar reduzida 5% (m/v) em diclorometano obtido na velocidade de rotação de 1000rpm (TAC MMR-CH₂Cl₂ – 1000 rpm)61
- Figura 22** - Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose massa molar reduzida reduzida 5% em diclorometano (m/v) obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR- CH₂Cl₂ – 1000 rpm) (b) solução de triacetato de celulose 5% (m/v) em diclorometano obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC-CH₂Cl₂– 1000 rpm).....63

Figura 23 - Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose massa molar reduzida 3% em clorofórmio (m/v) obtido na velocidade de rotação de 3000 rpm (TAC MMR-CHCl ₃ – 3000 rpm;); (b) solução de triacetato de celulose 3% (m/v) em clorofórmio obtido na velocidade de rotação de 3000 rpm (TAC- CHCl ₃ – 3000 rpm).....	64
Figura 24 - Imagens de AFM dos filmes de triacetato de celulose	65
Figura 25 - Espectro UV-Vis do (a) Coloide de prata preparado com citrato de sódio como agente redutor e (b) Coloide de prata preparado com borohidreto de sódio como agente redutor.....	69
Figura 26 - (a) Coloide de prata utilizando Borohidreto de Sódio como agente redutor; (b) Coloide de prata utilizando Citrato de Sódio como agente redutor	70
Figura 27 - Confômeros rotacionais da L-cisteína (a) P _N (b) P _C e (c) P _H	71
Figura 28 - Espectro SERS para (a) (A) Filme Microporoso de triacetato de celulose + Coloide de prata obtido utilizando o borohidreto de sódio como agente redutor + cisteína; (B) Filme Microporoso de triacetato de celulose + Coloide de prata obtido utilizando o citrato de sódio como agente redutor + cisteína; (C) Filme de triacetato de celulose compacto + Coloide de prata obtido utilizando o borohidreto de sódio como agente redutor + cisteína + (D) Filme Microporoso de triacetato de celulose + cisteína:	73
Figura 29 - (a) Filme microporoso de triacetato de celulose + coloide de prata preparado com citrato de sódio como agente redutor. (b) Filme microporoso de triacetato de celulose + coloide de prata preparado com borohidreto de sódio como agente redutor.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físicas de alguns solventes orgânicos.....	25
Tabela 2 – Atribuição das principais bandas de absorção na região do infravermelho das amostras de madeira, Celulose e CEL MMR.....	47
Tabela 3 – Atribuição das principais bandas de absorção na região do infravermelho das amostras de acetatos de celulose.....	50
Tabela 4 – Planejamento experimental qualitativo para a produção de filmes porosos.....	55
Tabela 5 – Propriedades físicas e químicas do clorofórmio e diclorometano.....	59
Tabela 6 – Parâmetros de solubilidade de Hansen para o triacetato de celulose, clorofórmio, diclorometano e os valores do número de RED	60
Tabela 7 – Diâmetro e rugosidade média dos microporos dos filmes de triacetato de celulose	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MFA	Microscopia de Força Atômica
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CHCl ₃	Clorofórmio
CS ₂	Dissulfeto de Carbono
GA	Grau de acetilção
GS	Grau de substituição
HSP	Parâmetros de solubilidade de Hansen
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MO	Microscopia Óptica
SERS	Espectroscopia Raman intensificada por superfície
TAC	Triacetato de celulose
TAC MMR	Triacetato de massa molar reduzida
CEL MMR	Celulose massa molar reduzida
TGA	Análise Termogravimétrica
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1	BREATH FIGURE	19
2.1.1	Métodos de Preparação de Filmes Poliméricos Porosos via Breath Figure.....	20
2.1.2	Mecanismo de Formação de Filmes Porosos pelo Método Breath Figure.....	21
2.1.3	Fatores que Afetam a Formação e a Morfologia dos Poros nos Filmes Poliméricos.....	24
2.1.3.1	Solvente	24
2.1.3.2	Umidade.....	26
2.1.3.3	Concentração do polímero	26
2.1.3.4	Massa molar do polímero.....	26
2.1.3.5	Arquitetura do polímero.....	27
2.2	CELULOSE	28
2.2.1	Acetato de Celulose	29
2.2.2	Utilização de Derivados da Celulose na Produção de Filmes Poliméricos Porosos.....	30
2.3	ESPECTROSCOPIA RAMAN E EFEITO SERS	31
3	OBJETIVOS	34
3.1	OBJETIVO GERAL	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	MATERIAL	35
4.2	MÉTODOS	35
4.2.1	Obtenção e Caracterização de Celulose Purificada e dos Materiais Acetilados.....	35
4.2.1.1	Deslignificação e branqueamento de celulose	35
4.2.1.2	Redução da massa molar da celulose purificada.....	35

4.2.1.3	Acetilação homogênea da celulose para obtenção do acetato de celulose.....	36
4.2.1.4.	Determinação do grau de acetilação por via química.....	36
4.2.1.5	Determinação da massa molar média viscosimétrica	37
4.2.1.6	Espectroscopia por FT-IR	38
4.2.1.7	Calorimetria Exploratória Diferencial- DSC	38
4.2.1.8	TGA	38
4.2.2	Preparo dos Filmes Microporosos de Triacetato de Celulose pela Técnica de Spin Coating	38
4.2.2.1	Caracterização dos filmes microporosos de triacetato de celulose	41
4.2.3	Aplicação dos Filmes de Triacetato de Celulose como Substratos SERS ativos	41
4.2.3.1	Preparação dos colóides de prata.....	41
4.2.3.2	Espectroscopia UV-vis	42
4.2.3.3	Preparação dos filmes de triacetato de celulose como substratos SERS ativos	42
4.2.3.4	Espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS).....	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE E DOS MATERIAIS ACETILADOS	44
5.1.1	Caracterização por FT-IR.....	44
5.1.2	Determinação da Massa Molar Média Viscosimétrica.....	50
5.1.3	Análises Térmicas: DSC e TGA	50
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES MICROPOROSOS DE TRIACETATO DE CELULOSE	53
5.2.1	Microscopia Óptica.....	53
5.2.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	55
5.2.2.1	Efeito do solvente.....	58
5.2.2.2	Efeito da concentração da solução polimérica	61
5.2.2.3	Efeito da massa molar do polímero.....	62
5.2.2.4	Efeito da velocidade de rotação do <i>spin coater</i>	63
5.2.3	Microscopia de Força Atômica	65
5.3	APLICAÇÃO DOS SUBSTRATOS MICROPOROSOS DE ACETATO	

	DE CELULOSE PARA DETECÇÃO DE CISTEÍNA POR ESPECTROSCOPIA RAMAN INTENSIFICADA POR SUPERFÍCIE (SERS).....	68
5.3.1	Coloides de Prata.....	69
5.3.2	Detecção de Cisteína por Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (SERS).....	70
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO	76
6.1	SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	78
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICES	88
	APÊNDICE A – IMAGENS DE MICROSCOPIA ÓPTICA DOS FILMES MICROPOROSOS DE TRIACETATO DE CELULOSE	89
	APÊNDICE B- IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS FILMES MICROPOROSOS DE TRIACETATO DE CELULOSE	93
	APÊNDICE C- IMAGENS DE MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA DOS FILMES MICROPOROSOS DE TRIACETATO DE CELULOSE	95

1 INTRODUÇÃO

Filmes poliméricos com estruturas nano ou microporosas altamente organizadas têm atraído considerável interesse devido as suas potenciais aplicações em membranas de separação e purificação (WAN et al., 2012; TRIPATHI, PANDEY, 2014), catalisadores (NABOKA et al., 2012), superfícies super-hidrofóbicas (ZHAI et al., 2015), imobilizadores de biomoléculas (MA et al., 2013), *scaffolds* em cultura celular (KAWANO et al., 2013), entre outras.

Diversas técnicas podem ser utilizadas para produzir superfícies porosas, tais como, as técnicas de litografia e métodos baseados na automontagem de padrões (POKKI et al., 2012; XIAO et al., 2013). Dentre estas técnicas, o *breath figure* vem se destacando por ser uma técnica simples, com baixo custo de operação e que permite a formação de centenas de poros em poucos minutos (HENG et al., 2013).

Widawski, Rawiso e François (1994) foram os primeiros a empregarem a técnica *breath figure* na obtenção de filmes poliméricos porosos. O princípio desta técnica envolve o fenômeno de condensação de vapor de água sobre superfícies frias e apresenta as seguintes etapas: inicialmente, a solução polimérica é preparada em um solvente altamente volátil, uma gota desta solução é então depositada sobre um substrato, em ambiente úmido. A rápida evaporação do solvente volátil ocasiona o resfriamento da superfície da solução polimérica e a nucleação aleatória de gotículas de água na interface líquido/gás. Com a progressiva nucleação, as gotículas de água crescem e se auto-organizam em uma matriz hexagonal. Após a evaporação completa do solvente e das gotículas de água, um filme polimérico poroso é obtido (HERNÁNDEZ-GUERRERO, STENZEL, 2012; WAN et al., 2014).

A preparação de filmes poliméricos porosos via *breath figure* pode ser realizada a partir de processos convencionais e não convencionais. Os processos convencionais são classificados em: dinâmico e estático (BAI et al., 2013). Já os processos não convencionais envolvem as técnicas de *spin coating* (LIM, SUH, 2014) e *dip coating* (LI et al., 2010). Neste trabalho, a técnica selecionada para a produção dos filmes microporosos foi a técnica de *spin coating* combinada ao *breath figure*.

Na técnica *breath figure* várias classes de polímeros são utilizadas na produção dos filmes porosos. Como por exemplo, copolímeros em bloco (ESCALÉ et al., 2013; LI et al., 2010; ESCALÉ et al., 2016), polímeros com configuração estrela e ramificados (ZHANG et al., 2013; ZHU et al., 2014), homopolímeros lineares (LIMAYE et al., 1996; SRINIVASARAO et al., 2001), polímeros biodegradáveis (YAO et al., 2015) e materiais nano poliméricos (SAUNDERS et al., 2004).

Nos últimos anos, a escassez dos recursos naturais não renováveis tem impulsionado o emprego de polímeros oriundos de fontes renováveis em diversas aplicações. Dentre os biopolímeros, a celulose vem se destacando por sua abundância, biodegradabilidade, baixo custo e boas propriedades mecânicas (CARLMARK, LARSSON, MALMSTROM, 2012).

A celulose é constituída por unidades de glicose unidas entre si através de ligações do tipo $\beta(1-4)$. As ligações de hidrogênio intra e intermoleculares presentes nas cadeias da celulose a torna insolúvel em água, mesmo contendo grupos polares (KLEMM et al., 2011). A celulose também não se dissolve nos solventes voláteis convencionais, o que dificulta sua utilização na produção de filmes porosos via *breath figure*, pois a técnica requer solventes orgânicos voláteis. No entanto, é possível utilizar alguns de seus derivados, Lim e Suh (2014) empregaram o acetato butirato de celulose na produção de filmes porosos utilizando a técnica de *spin coating* combinada ao *breath figure*. Kim e colaboradores (2013) produziram filmes com estruturas porosas bem ordenadas utilizando o compósito PVK-CTA (poli(N-vinilcarbazole)-triacetato de celulose) e a técnica *breath figure* por meio do processo de fluxo de ar.

Sendo assim, a proposta deste trabalho foi realizar a obtenção de um derivado celulósico, o triacetato de celulose, a partir da reação de acetilação homogênea da celulose extraída de resíduos de madeira, e emprega-lo na produção de filmes microporosos utilizando a técnica *breath figure* via *spin coating*. A celulose purificada foi caracterizada por FT-IR e TGA e os materiais acetilados foram caracterizados por FT-IR, TGA e DSC. A fim de investigar o efeito do solvente, concentração da solução polimérica, massa molar do polímero e a velocidade de rotação do *spin coater* na formação e na morfologia dos poros, os filmes microporosos de triacetato de celulose foram caracterizados por Microscopia Óptica, Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Força Atômica. Os filmes

microporosos ainda foram recobertos com nanopartículas de prata e avaliados como substratos para utilização em Espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS) para detecção de L-cisteína.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 BREATH FIGURE

O termo *breath figure* é empregado para descrever a matriz hexagonal de gotículas de água, formadas quando o vapor de água entra em contato com uma superfície sólida ou líquida, fria (LORD RAYLEIGH, 1911; STEYER et al., 1990). Este fenômeno frequentemente observado na natureza, foi investigado por Aitken (1911), e por Lord Rayleigh (1911) que relatou a morfologia hexagonal das gotículas de água.

Por décadas, o *breath figure* foi considerado apenas um fenômeno natural, sem quaisquer aplicações práticas na área de ciências dos materiais (ZHANG, BAI, LI, 2015). Até que em 1994, Widawski, Rawiso e François produziram pela primeira vez, filmes poliméricos com estruturas microporosas hexagonais similares a favos de mel, denominadas estruturas *honeycombs*. Estas estruturas microporosas e auto-organizadas foram obtidas através da rápida evaporação de uma solução de poliestireno com configuração estrela e de poliestireno-poli-parafenileno em um solvente altamente volátil, o dissulfeto de carbono (CS₂), sob um fluxo de ar úmido.

A formação espontânea de poros com morfologia hexagonal obtidos por Widawski, Rawiso e François (1994) foi relacionada aos trabalhos de Lord Rayleigh (1911) e conclui-se que os filmes poliméricos microporosos resultaram da formação de *breath figures* na superfície da solução polimérica. Onde, as gotículas de água agiram como *templates* para a formação dos poros. Esta forma de geração de poros foi denominada técnica *breath figure*.

Nos últimos vinte anos, foram realizados importantes avanços nesta técnica, como por exemplo, em relação aos métodos de preparação, ao mecanismo de formação dos filmes porosos, ao efeito de diversas variáveis experimentais na formação e na morfologia dos poros e às classes de polímeros empregadas na produção dos filmes (HENG et al., 2013; DOU et al., 2015). Os respectivos avanços são descritos com mais detalhes nas próximas seções.

2.1.1 Métodos de Preparação de Filmes Poliméricos Porosos via Breath Figure

Na técnica *breath figure* convencional, uma gota da solução polimérica é depositada sobre um substrato sólido, em um ambiente com alta umidade relativa do ar. Dependendo de como o ambiente úmido é concebido, o processo pode ser classificado em: dinâmico ou estático (BAI et., 2013).

No método dinâmico, ou técnica de fluxo de ar, o ar úmido escoa verticalmente sobre a superfície da solução polimérica, induzindo a rápida evaporação do solvente (Figura 1(a)). Isto favorece a condensação do vapor de água e o crescimento espontâneo de gotículas de água sobre a superfície da solução polimérica (HERNÁNDEZ-GUERRERO, STENZEL, 2012). Geralmente, o fluxo de ar úmido é produzido pelo borbulhamento de um gás inerte, tal como nitrogênio, em um recipiente com água (XIONG, LIN, ZOU, 2011).

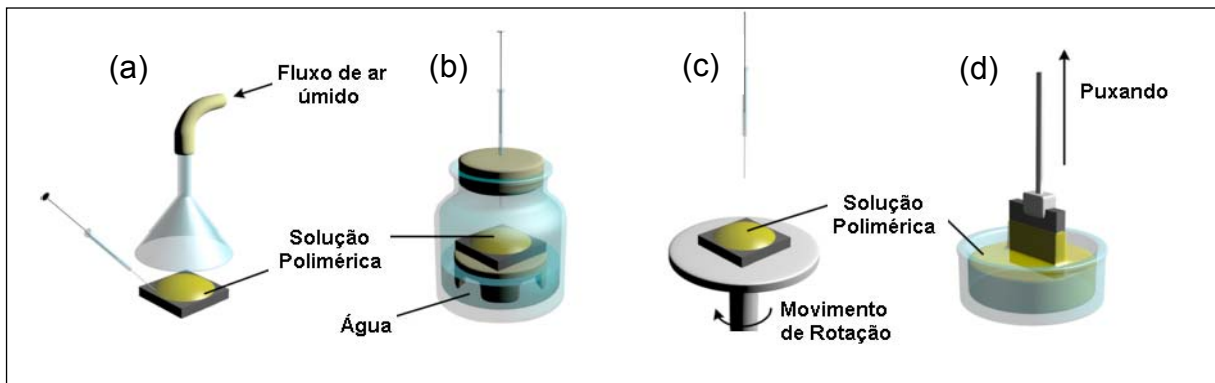
No método estático, a solução polimérica é depositada sobre o substrato, em um recipiente fechado e com umidade relativa saturada, como mostra a Figura 1(b). A umidade saturada no recipiente é frequentemente obtida pela adição prévia de água ou pelo uso de soluções salinas, como por exemplo, brometo de sódio, cloreto de sódio e cloreto de potássio (LI et al., 2014; LIU et al., 2013). Pelo método estático, Ding e colaboradores (2013) relataram o uso de uma atmosfera não aquosa para a preparação de filmes *honeycombs* com poros ordenados, vapores de metanol e etanol foram utilizados como atmosfera para a produção dos filmes porosos.

Além dos processos convencionais descritos acima, há ainda os processos não convencionais. Dentre eles, destacam-se as técnicas de *spin coating* e *dip coating* (PONNUSAMY et al., 2012; LI et al., 2010).

Na técnica de *spin coating*, o polímero também é dissolvido em solventes altamente voláteis. Uma pequena quantidade da solução polimérica, aproximadamente 100 μL , é depositada sobre um substrato sólido anexado ao suporte do equipamento *spin coater*. Através da aceleração centrífuga induzida pela aplicação de um movimento de rotação do substrato, a solução polimérica é espalhada sobre o substrato e o solvente é rapidamente evaporado, formando um filme fino em poucos segundos. (Figura 1(c)) (FIERRO, COMNINELLIS, 2010; LIM, SUH, 2014).

Já na técnica de *dip coating*, o substrato é mergulhado perpendicularmente dentro da solução polimérica e em seguida retirado da mesma, (Figura 1(d)). Depois deste processo, uma fina camada da solução polimérica permanece na superfície do substrato e após a evaporação completa do solvente, o substrato fica revestido pelo filme poroso. A velocidade de retirada do substrato e o tempo de retenção são usados para controlar a morfologia dos filmes (MANSOURI, YAPIT, CHEN, 2013; LI et al., 2010).

Figura 1- Representação dos principais processos de preparação de filmes poliméricos porosos pela técnica *breath figure*. (a) Dinâmico; (b) Estático; (c) *Spin Coating* e (d) *Dip Coating*.



Fonte: Adaptado de Zhang, Bai, e Li (2015).

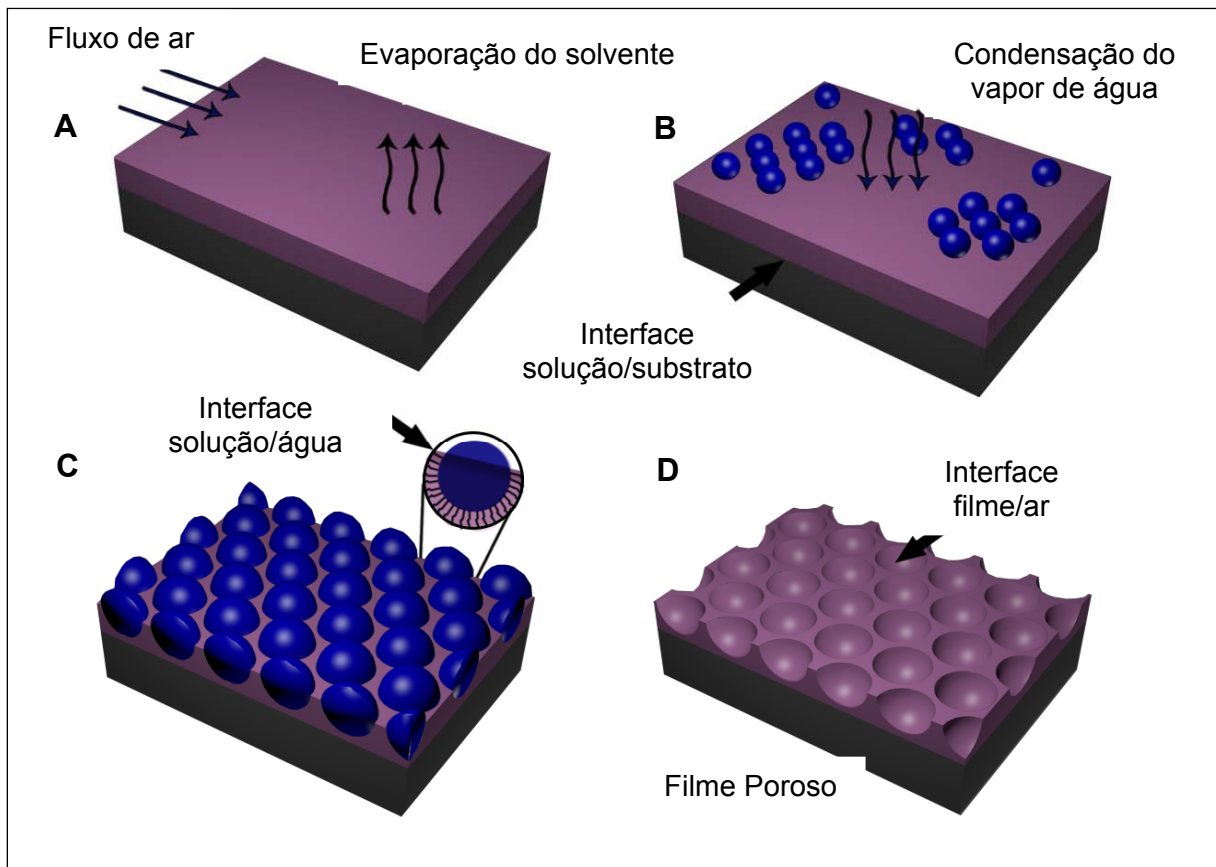
2.1.2 Mecanismo de Formação de Filmes Poliméricos Porosos pela Técnica *Breath Figure*

O mecanismo de formação de filmes poliméricos com estruturas porosas auto-organizadas produzidos pela técnica *breath figure* ainda não está totalmente elucidado, pois é um processo bastante complicado que envolve transferências complexas de massa e calor (Bunz, 2006). Contudo, de acordo com relatos da literatura, acredita-se que o mecanismo apresenta as seguintes etapas: (1) Resfriamento da solução polimérica, ocasionada pela rápida evaporação de um solvente volátil em um ambiente com alta umidade relativa do ar, e nucleação aleatória de gotículas de água na interface líquido/gás. (2) Crescimento e auto-organização das gotículas de água, formando uma matriz hexagonal ordenada. (3) Evaporação do solvente e das gotículas de água imprimindo uma matriz de poros no

filme polimérico (NEPOMNYASHCHY et al., 2006; HERNÁNDEZ-GUERRERO, STENZEL, 2012; WAN et al., 2014).

A Figura 2 ilustra o mecanismo de formação de filmes porosos pela técnica *breath figure*.

Figura 2- Representação do mecanismo de formação de filmes poliméricos porosos pela técnica *breath figure* (A-B- Resfriamento da solução polimérica e nucleação de gotículas de água; B-C- Crescimento e auto-organização das gotículas de água; C-D- Evaporação do solvente e das gotículas de água; D- Filme poroso).



Fonte: Adaptado de BAI et al., 2013.

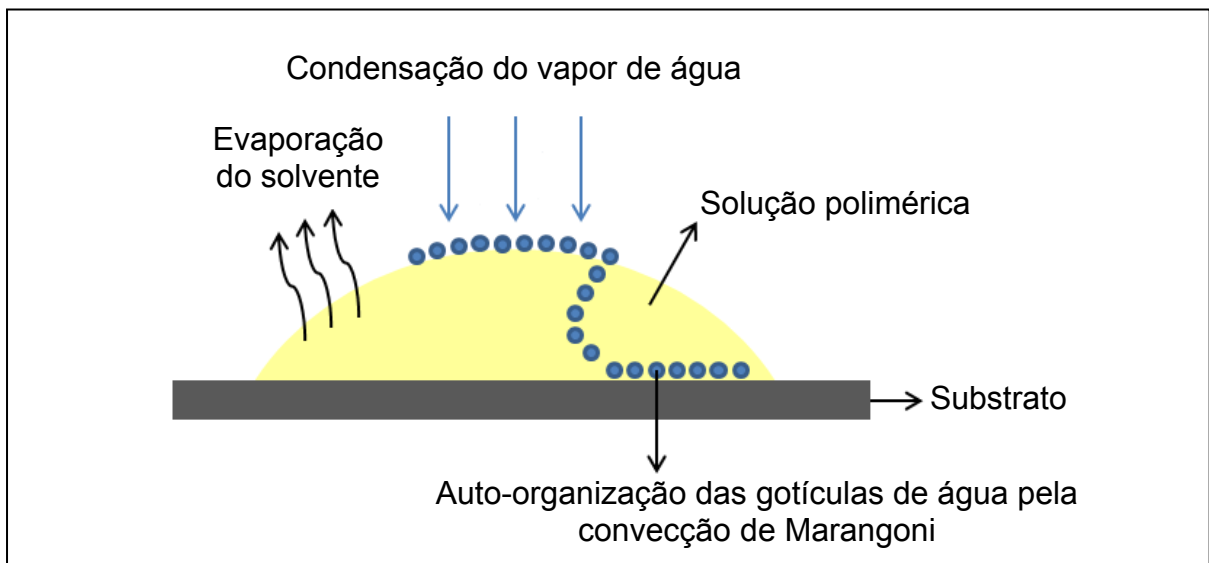
No *breath figure*, a condensação do vapor de água sobre a superfície da solução polimérica ocorre espontaneamente, portanto, a temperatura da superfície da solução polimérica deve ser menor do que o ponto de orvalho da atmosfera (ZHANG, BAI, LI, 2015). Uma forma simples de reduzir a temperatura da superfície da solução polimérica é por meio da evaporação de um solvente volátil. Chiu e colaboradores (2011) relataram a queda de 6 °C na superfície de uma gota

da solução de PF-b-PSA em clorofórmio, durante a evaporação do solvente. Isto explica porque a técnica *breath figure* requer o uso de solventes altamente voláteis.

Com a crescente nucleação das gotículas de água, inicia-se o processo de crescimento e auto-organização. A estabilidade das gotículas de água condensadas sobre a superfície da solução polimérica e a sua auto-organização têm intrigado a comunidade científica. Para explicar a estabilidade, Srinivasarao e colaboradores (2001) propuseram que a convecção termocapilar gerada pelo gradiente de temperatura é o principal fator que estabiliza as gotículas de água na superfície da solução polimérica. De acordo com seus experimentos, o gradiente de temperatura surge porque a superfície da solução é mais fria do que as gotículas de água, em decorrência do resfriamento provocado pela evaporação do solvente. Além disso, Srinivasarao e colaboradores (2001) também propuseram que uma fina camada de ar entre duas gotículas de água pode agir como um lubrificante que suprime a coalescência. Entretanto, a proposta mais aceita para explicar a estabilidade das gotículas de água foi relatada por François e Pitois (1999). Segundo estes autores, a precipitação do polímero ao redor das gotículas de água, forma uma fina camada polimérica protetora que previne a coalescência das gotículas de água e contribui para a estabilidade delas.

Quanto à auto-organização das gotículas de água, a convecção de Marangoni é citada como a principal responsável por este fenômeno (MARUYAMA et al., 1998). A convecção de Marangoni surge pelo fato da tensão superficial em um fluido ser dependente da temperatura. Durante o processo de evaporação do solvente, a temperatura da superfície da gota polimérica é menor que a temperatura da região inferior, próxima ao substrato, por isso há um gradiente de temperatura e consequentemente um gradiente de tensão superficial que induz um fluxo radial da região de baixa tensão superficial, região inferior, para a região de alta tensão superficial, região superior (ADAMSON, GAST, 1997). Para Maruyama e colaboradores (1998), a convecção de Marangoni faz com que as gotículas de água submerjam para dentro da solução polimérica e conduza o padrão hexagonal na superfície, como representado na Figura 3.

Figura 3- Ilustração do mecanismo de formação de filmes porosos proposto por Maruyama e colaboradores (1998).



2.1.3 Fatores que Afetam a Formação e a Morfologia dos Poros nos Filmes Poliméricos

Estudos têm revelado que o *breath figure* é bastante sensível às condições experimentais. Variáveis como: solvente, umidade, temperatura, arquitetura do polímero, concentração da solução polimérica e massa molar do polímero podem influenciar na morfologia dos poros e também no espaçamento entre eles (SERVOLI, RUFFO, MIGLIARESI, 2010; ZHENG et al., 2011; BROWN et al., 2012). A seguir, será descrito os efeitos das principais variáveis experimentais na formação e morfologia dos filmes poliméricos porosos.

2.1.3.1 Solvente

O solvente é uma das variáveis mais importantes na formação dos filmes poliméricos porosos. Escalé e colaboradores (2012) sugeriram que a escolha do solvente a ser empregado no *breath figure* deve ser dirigida pela combinação das seguintes características: alta pressão de vapor, baixo ponto de ebulição e baixa solubilidade em água. A Tabela 1 apresenta as propriedades físicas de alguns solventes orgânicos.

Tabela 1- Propriedades físicas de alguns solventes orgânicos (Lide, 2005).

Propriedades físicas	CHCl₃	CH₂Cl₂	CS₂	C₆H₅CH₃	THF
Densidade (g cm⁻³)	1,48	1,32	1,26	0,86	0,89
Pressão de vapor (Pa)	21,3	46,5	39,7	2,9	21,6
Solubilidade em H₂O (g L⁻¹)	8,2	20	2,9	0,5	Miscível
Ponto de Ebulição (°C)	6,1	39	46	110	65

CHCl₃- clorofórmio, CH₂Cl₂- diclorometano, CS₂- dissulfeto de carbono, C₆H₅CH₃- tolueno, THF- tetrahidrofurano.

Os dados da Tabela 1 explicam porque o CS₂ e os solventes clorados são os solventes mais utilizados na técnica *breath figure* para a produção de filmes poliméricos porosos (GAO et al., 2014).

Um estudo realizado por Ferrari e colaboradores (2011) com vários solventes revelou que filmes de poliestireno preparados com acetona, acetato de etila, tetrahidrofurano ou tolueno apresentaram poros pouco ordenados ou com morfologia deformada. Mas, filmes preparados com clorofórmio, dissulfeto de carbono e diclorometano apresentaram poros bem ordenados, confirmando o que a literatura relata.

Tian e colaboradores (2006) investigaram o efeito da afinidade termodinâmica entre o solvente e o polímero, e a tensão interfacial entre o solvente e as gotículas de água. Foi observado que a menor compatibilidade entre o polímero e o solvente resulta em uma maior irregularidade de poros.

Srinivasarao e colaboradores (2001) demonstraram que a densidade dos solventes pode levar à formação de múltiplas camadas porosas ou a formação de apenas uma única camada porosa. Solventes menos densos que a água, tais como, tolueno e benzeno resultaram na formação de múltiplas camadas porosas através do filme. Em contraste, os filmes preparados em solventes mais densos que a água, como o dissulfeto de carbono, somente uma única camada de poros foi formada.

2.1.3.2 Umidade

Vários trabalhos têm demonstrado que o diâmetro médio dos poros aumenta de forma quase linear com o aumento da umidade relativa, ou seja, quanto mais elevada a umidade do ambiente, maior o diâmetro dos poros (ZHENG et al., 2011; LIU et al., 2013). Geralmente, ambientes com umidade relativa acima de 50% são necessários para promover uma condensação de vapor de água favorável. Porém, ambientes com umidade relativa muito alta (acima de 90%) podem favorecer a coalescência das gotículas de água, resultando na deformação dos poros (SHARMA et al., 2010, BOKER et al., 2004).

Jiang e colaboradores (2010) conseguiram produzir filmes poliméricos porosos em ambiente com umidade relativa baixa (< 30%), isto foi possível pela adição de nanopartículas de prata à solução polimérica de poliuretano.

Assim, embora ambientes com alta umidade relativa seja recomendado, a umidade mais favorável para a produção de poros ordenados pode variar para cada sistema: solvente/ polímero/ aditivo.

2.1.3.3 Concentração do polímero

Stenzel e colaboradores (2006) propuseram que o aumento da concentração da solução polimérica leva à diminuição do tamanho dos poros, devido ao aumento da capacidade do polímero em estabilizar a grande área superficial das gotículas de água. Os autores ainda observaram uma correlação entre o tamanho dos poros (PS) e a concentração (c), o qual é aproximadamente $PS = k/c$, onde k é uma constante que depende do material utilizado.

Zhang e colaboradores (2014) também investigaram a influência da concentração do polímero no diâmetro dos poros. O copolímero estrela $(PS)_8-(PtBA)_{10}$ -PDVB foi dissolvido em CS_2 e aumentando-se a concentração de 10 para 20 $mg\ mL^{-1}$, o diâmetro médio dos poros diminuiu de 3,0 para 1,2 μm .

2.1.3.4 Massa molar do polímero

Stenzel e colaboradores (2006) também investigaram o efeito da massa molar do polímero na formação dos poros. De acordo com os autores, o

aumento da massa molar resulta na formação de poros maiores, quando a massa do polímero for mantida constante. Sendo assim, a concentração molar diminui com o aumento da massa molar do polímero, podendo conduzir a uma precipitação retardada do polímero ao redor das gotículas de água e elas têm mais tempo para crescer, conseqüentemente poros maiores são obtidos.

Liu e colaboradores (2013) relataram a influência da massa molar do PVC (policloreto de vinila) na formação de filmes *honeycombs*. Os graus de polimerização foram 600, 1000 e 1300. O polímero foi dissolvido em THF, à concentração de 40 mg mL⁻¹. Os resultados revelaram que o aumento da massa molar resultou em poros maiores, confirmando assim que a precipitação do polímero ao redor das gotículas de água é um fator chave para a formação dos poros. Segundo o estudo, a cadeia molecular muito longa torna a taxa de condensação tão lenta que as gotículas de água precisam de mais tempo para se evaporar.

2.1.3.5 Arquitetura do polímero

Inicialmente, acreditava-se que a formação de filmes poliméricos porosos pela técnica *breath figure* só seria possível com polímeros muito específicos, como por exemplo, o poliestireno com configuração estrela. Enquanto que o polímero linear correspondente não formaria filmes com matrizes hexagonais porosas sob as mesmas condições experimentais (BUNZ, 2006).

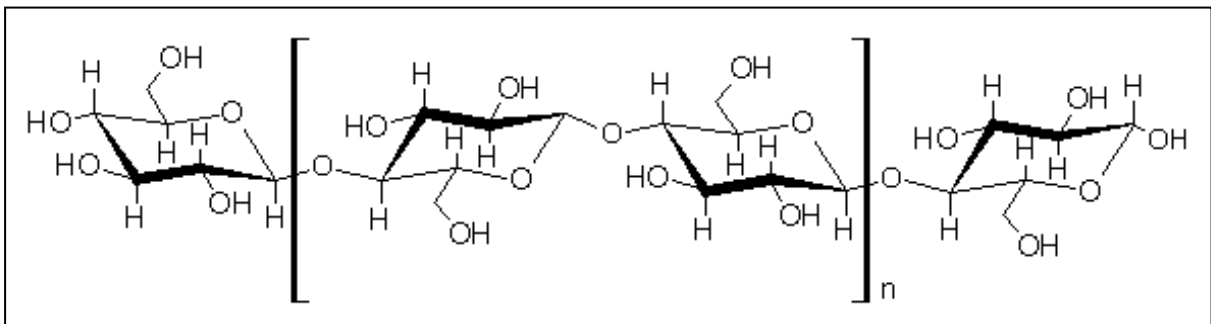
Stenzel e colaboradores (2006) estudaram o efeito do número e do comprimento das ramificações dos polímeros e concluíram que embora não haja pré-requisitos para a arquitetura do polímero, estruturas mais ramificadas toleram mais variabilidades das condições de *casting*.

Billon e colaboradores (2009) utilizaram poliestireno linear de baixa massa molar com cadeia terminal iônica para gerar filmes com estruturas *honeycombs* altamente ordenadas. O ionômero sintetizado preveniu que as gotículas de água se coalescessem e conduziram à formação de poros de tamanho regulares, provavelmente devido às propriedades estabilizantes de PS-COO⁻Na⁺ na interface água/CS₂.

2.2 CELULOSE

A celulose é um biopolímero constituído por cadeias lineares de D-glicose. A unidade de repetição é constituída por dois anéis de anidroglicose ($C_6H_{10}O_5$) $_n$, com $n = 10.000$ a 15.000 , dependendo da fonte de celulose (TIAN et al., 2010). As unidades glicosídicas estão ligadas entre si através de um oxigênio ligado covalentemente ao C_1 da glicose e C_4 do anel adjacente, originando as ligações glicosídicas denominadas $\beta(1\rightarrow4)$ (BIAN et al., 2012). A estrutura química da celulose está representada na Figura 4.

Figura 4- Estrutura química da cadeia polimérica de celulose.



Durante a sua síntese, interações de Van der Waals e ligações intermoleculares de hidrogênio entre os grupos hidroxilas e oxigênios dos anéis de glicose adjacentes promovem o empilhamento paralelo de várias cadeias de celulose, originando as microfibrilas, que apresentam largura, comprimento, forma e cristalinidade que varia de acordo com a fonte de celulose. As microfibrilas se agregam em estruturas maiores denominadas *ribbons*, estruturas na ordem de 100 nm. A rede de ligação intra e inter-cadeia de hidrogênio torna a celulose um polímero relativamente estável, e fornece às fibrilas de celulose alta rigidez (KLEMM et al., 2011).

A importância da celulose pode ser calculada pela sua diversidade, uma vez que é o polímero natural mais abundante da Terra sendo encontrada nos organismos fotossintéticos e em outros organismos como algas (*Valonia*), alguns cogumelos e bactérias (*Acetobacter* e *Rhizobium*) (CARLMARK, LARSSON, MALMSTROM, 2012). A principal fonte industrial de celulose é a madeira, a qual é constituída por celulose (40 a 50%), hemicelulose (20 a 25%) e lignina (25 a 30%),

além de outros componentes inorgânicos (FERREIRA, ROCHA, SILVA, 2009).

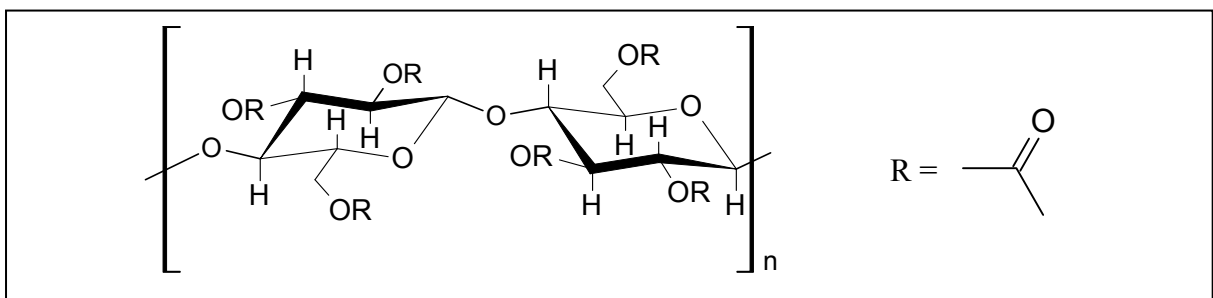
As propriedades da celulose são influenciadas por sua massa molar média e também pelas ligações de hidrogênio, uma vez que elas ditam a organização das cadeias de glicose e seu arranjo cristalino (CERQUEIRA et al., 2010; FERREIRA, ROCHA, SILVA, 2009). As microfibrilas são constituídas por regiões ordenadas (cristalinas) que se alternam a regiões desordenadas (amorfas). Na região cristalina a fibra tem maior resistência à tração, a solvatação e alongamento. A razão entre regiões ordenadas e desordenadas varia conforme a origem da celulose. Como consequência da estrutura das fibras e da intensidade das ligações de hidrogênio, a celulose é insolúvel na maioria dos solventes convencionais (STEINMEIR, 2004).

Isoladamente ou na produção de compósitos, diferentes metodologias têm sido empregadas para modificação da celulose, seja na utilização das porções cristalinas das microfibrilas através da obtenção de *nanowhiskers* (HARAGUCHI et al., 2013), celulose microcristalina (MERCÍ et al., 2015), uso de métodos físicos como ultrassom (FARIA-TISCHER et al., 2015), modificação por processo de mercerização (FARIA-TISCHER et al., 2010), ou regeneração para obtenção de derivados (LIMA et al., 2011).

2.2.1 Acetato de Celulose

Entre os derivados da celulose, o acetato de celulose (Figura 5), destaca-se pela sua importância comercial devido à extensa aplicação em diversas áreas industriais, como na produção de fios para a indústria têxtil, filtros, materiais plásticos e cápsulas para a indústria farmacêutica (PINTO, CALLONI, SILVA, 2013).

Figura 5- Estrutura química da cadeia polimérica do acetato de celulose.



O acetato de celulose é obtido pela substituição dos grupos OH das unidades de glicose por grupos acetila, portanto podem-se obter materiais com diferentes graus de substituição (GS), o qual pode variar de 1 para o mono acetato a 3 para o material tri substituído. O GS é um fator determinante no material que se deseja obter, pois afeta a cristalinidade do polímero, o potencial de biodegradabilidade e a solubilidade em diferentes solventes, direcionando dessa forma sua utilização (CERQUEIRA et al., 2010).

A reação de esterificação da celulose pode ser realizada através de rotas homogêneas ou heterogêneas. Ambas as rotas utilizam o ácido acético como solvente, anidrido acético como agente acetilante e ácido sulfúrico como catalisador. Na acetilação heterogênea um agente não inchante como tolueno é utilizado, alterando menos a cristalinidade do material. Por outro lado, na acetilação homogênea a celulose é solubilizada no meio reacional, ocasionando mudanças na cristalinidade e na morfologia das fibras de celulose (SASSI, CHANZY, 1995).

O acetato de celulose tem sido sintetizado a partir de diferentes resíduos da agroindústria, como da casca de arroz, palhas de trigo (PINTO, CALLONI, SILVA, 2013), palhas de milho (RIBEIRO et al., 2014), bagaço da cana de açúcar (SHAIKH et al., 2009) e caroço de manga (CRUZ et al., 2011).

Por ser abundante, facilmente obtido de diferentes fontes renováveis e versátil, devido as propriedades específicas de acordo com o método de modificação, este polímero tem grande potencial na preparação de filmes porosos pela técnica *breath figure*.

2.2.2 Utilização de Derivados da Celulose na Produção de Filmes Poliméricos Porosos

Kasai e Kondo (2004) foram os primeiros a reportarem a obtenção de filmes *honeycombs* de celulose preparados pela técnica da emulsão, utilizando o triacetato de celulose. Os filmes *honeycombs* de triacetato de celulose foram desacetilados por imersão em solução aquosa de hidróxido de amônia 14%, sem modificar o padrão original das estruturas *honeycombs*. Os poros apresentaram diâmetro de 1 a 100 µm, variando conforme as condições experimentais. Os autores propuseram que os filmes *honeycombs* de triacetato de celulose e de celulose

poderiam ser utilizados como matrizes para o crescimento celular, sendo aplicados no cultivo de células.

Xu e colaboradores (2012) geraram robustas estruturas *open-framework* de celulose que foram pós-funcionalizadas através de uma modificação sítio-específica. Neste estudo, filmes porosos de 3-O-azidopropoxipoli(etileno glicol)-2,6-di-O-texildimetilsilil celulósicos foram produzidos via *breath figure*. Alterando o grau de polimerização dos grupos pendentes do etileno glicol de 22 para 4, houve um aumento correspondente do diâmetro dos poros de aproximadamente 1,2 para 2,6 μm . Além disso, os filmes foram funcionalizados utilizando Cu (I). Os resultados do estudo indicaram que este sistema pode ser usado como uma plataforma para o *design* e desenvolvimento de biosensores.

Filmes com estruturas *honeycombs* bem ordenadas utilizando o compósito PVK-CTA (poli(N-vinilcarbazole)-triacetato de celulose) foram produzidos por Kim e colaboradores (2013). Os filmes *honeycombs* formados pelo compósito PVK-CTA foram ligeiramente afetados pela concentração do triacetato de celulose. O estudo revelou que o aumento na concentração triacetato de celulose induziu a padrões *honeycombs* mais ordenados e com poros de tamanho muito regular.

2.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN E EFEITO SERS

A espectroscopia Raman é uma técnica que visa caracterizar a identidade química e estrutural dos materiais orgânicos e inorgânicos, considerando a vibração molecular dos grupos funcionais presentes. A técnica recebe este nome porque está baseada no efeito Raman, que é o fenômeno de espalhamento inelástico da luz através da matéria. Atualmente, a espectroscopia Raman é aplicada em diferentes áreas, como na área farmacêutica, alimentícia, biomédica, ciências forenses e arqueologia (PAUDEL, RAIJADA, RANTANEN, 2015).

No espalhamento Raman, uma radiação monocromática no visível, na maioria dos casos ultravioleta ou infravermelho próximo, interage com a molécula, e é espalhada com frequências ligeiramente modificadas. A variação da frequência corresponde à diferença de energia entre dois níveis vibracionais (FARIA, TEMPERINI, SALA, 1999). Apesar de ser uma técnica rápida e não destrutiva, o espalhamento Raman apresenta baixa eficiência e sensibilidade, devido à seção de choque ser baixa (cerca de $10^{-30} \text{ cm}^2 \text{ Sr}^{-1} \text{ molécula}^{-1}$). Entretanto, se as moléculas a

serem analisadas são ligadas ou aproximadas de superfícies especialmente preparadas, como por exemplo, superfícies metálicas nanoestruturadas, o espalhamento Raman destas moléculas pode ser intensificado por fatores da ordem de 10^6 vezes (SANTANA et al., 2006). Esta intensificação é chamada de espalhamento Raman intensificado por superfície, ou SERS ("*Surface-enhanced Raman spectroscopy*") e foi desenvolvida na década de 70 por Fleischmann, Hendra e McQuillan (1974).

Os modelos mais aceitos pela comunidade científica para explicar o aparecimento do efeito SERS são os modelos químico e eletromagnético. O modelo químico sugere a interação química entre a molécula espalhadora com a superfície, resultando em modificações na polarizabilidade molecular. Essa interação pode ser através da formação de complexos de transferência de carga, ligações químicas convencionais, ou por interações eletrostáticas. O modelo eletromagnético considera a intensificação do campo eletromagnético próximo à superfície do metal devido à ressonância com o plasma de superfície (ou *surface plasmon*) (RIBEIRO, 2009).

Embora, o efeito SERS tenha sido observado pela primeira vez em uma superfície áspera de um eletrodo de prata, outros tipos de superfícies podem ser empregados, como coloides de alguns metais (principalmente ouro, prata e cobre), filmes metálicos depositados em ultra-vácuo e eletrodos (FARIA, TEMPERINI, SALA, 1999).

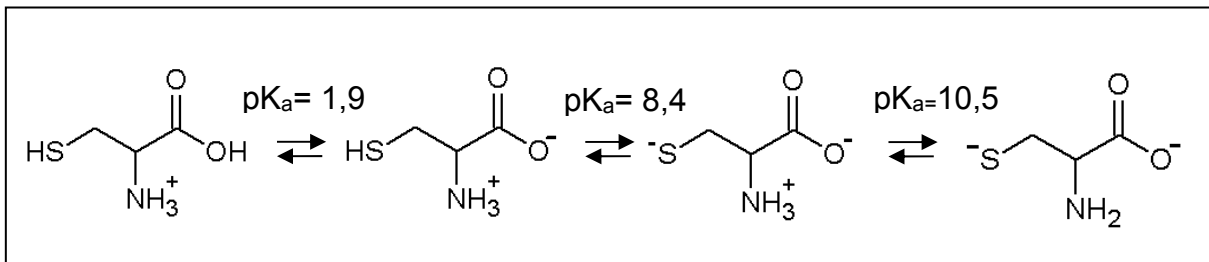
Filmes poliméricos microporosos são excelentes candidatos para a obtenção de substratos SERS, visto que os poros podem servir de sítios para a localização de nanopartículas metálicas, contribuindo para que sua distribuição seja homogênea (HE, KUNITAKE, NAKAO, 2003). Recentemente, Ou e colaboradores (2014) prepararam substratos SERS combinando filmes poliméricos microporosos com nanopartículas de prata adsorvidas sobre uma superfície de poli(N,N dimetilaminoetilmetacrilato) para detecção de rodamina (R6G). As estruturas porosas foram obtidas pela técnica *breath figure*, e os substratos SERS produzidos foram altamente efetivos.

Dentre as moléculas de interesse, os aminoácidos tem sido foco de diversos estudos. Principalmente, pelo papel que desempenham no metabolismo, por suas propriedades antioxidantes (KIM, KIM, SUH, 1987; CHUMANOV, EFREMOV, NABIEV, 1990), e no interesse de elucidar o mecanismo de surgimento da vida (NASCIMENTO et al., 2014).

Entre os aminoácidos, a cisteína tem atraído atenção em estudos baseados na espectroscopia Raman e na espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS), tanto por sua importância no metabolismo, sendo responsável pela estabilização das estruturas secundárias das proteínas e desativação de radicais livres, como por ter uma forte tendência em se adsorver sobre superfícies metálicas, como prata, ouro e cobre (JING, FANG, 2007).

A cisteína apresenta três grupos funcionais que são ionizados em solução, o COOH, HS e NH_3^+ , como representado na Figura 6, e no estado cristalino as moléculas de cisteína existem na forma zwitteriônica (carga final neutra). Segundo dados da literatura, esses três grupos funcionais podem estar envolvidos na adsorção deste aminoácido nas nanopartículas de prata (FLEMING et al., 2008).

Figura 6- Representação esquemática para as formas carregadas da cisteína em função do pH.



Sendo assim, no presente trabalho aplicou-se a técnica SERS para detecção de L-cisteína depositada sobre os filmes microporosos de triacetato de celulose, decorados com nanopartículas de prata, a fim de avaliar a eficiência dos substrato SERS produzidos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Produzir e caracterizar filmes microporosos de triacetato de celulose utilizando a técnica de *spin coating* combinada ao *breath figure*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar o processo de deslignificação e branqueamento de resíduos de madeira para obtenção de celulose purificada. Caracterizar a celulose por espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier e TGA.

Realizar a redução da massa molar da celulose purificada, através da reação de hidrólise ácida heterogênea e caracteriza-la por espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier e TGA.

Realizar a modificação química da celulose purificada e da celulose de massa molar reduzida, por meio da reação de acetilação homogênea para obtenção do triacetato de celulose e caracteriza-lo por espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier, TGA e DSC.

Caracterizar os filmes microporosos de triacetato de celulose por Microscopia Óptica, Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Força Atômica e analisar a influência do solvente, concentração da solução polimérica, massa molar do polímero e velocidade de rotação do *spin coater* na formação, morfologia, diâmetro e profundidade média dos microporos nos filmes de triacetato de celulose.

Avaliar o potencial dos filmes microporosos recobertos com nanopartículas de prata, como substratos em Espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS) para detecção de L-cisteína.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

A madeira utilizada neste trabalho foi doada pelo Centro de Tecnologia em Ação e Desenvolvimento Sustentável – CETEC, do Parque Moveleiro de Arapongas, localizado no Norte do Paraná.

Todos os reagentes empregados apresentam grau analítico (PA). O ácido acético glacial, ácido clorídrico 37%, peróxido de hidrogênio, clorofórmio e citrato de sódio foram adquiridos da Biotec (Brasil), o anidrido acético da Anidrol (Brasil), o ácido sulfúrico concentrado e o etanol da Fmaia (Brasil) e o diclorometano e o hidróxido de sódio da Cinética (Brasil), o nitrato de prata e o borohidreto de sódio da Vetec (Brasil) e a L-cisteína da INLAB (Brasil).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção e Caracterização da Celulose Purificada e dos Materiais Acetilados

4.2.1.1 Deslignificação e branqueamento de celulose

Inicialmente, a madeira foi moída, lavada em água corrente e seca em estufa a 100 °C até peso constante. Em seguida, colocou-se a madeira em uma solução de ácido acético glacial, peróxido de hidrogênio e água (50%, 38% e 12%, respectivamente) com agitação contínua a 60 °C por 24 h. Após este processo, o produto obtido foi lavado com água corrente até pH próximo de sete e seco em estufa a 50 °C por 24 h. O produto obtido foi designado por Celulose (BRASILEIRO, COLODETTE, PILÓ-VELOSO, 2001).

4.2.1.2 Redução da massa molar da celulose purificada

Uma fração da celulose macerada foi submetida a uma hidrólise ácida, para redução da massa molar. Seguiu-se o procedimento descrito por

Meiland, Liebert e Heinze (2011). Suspendeu-se 20,0 g de celulose em 7,5 mL de uma solução de ácido clorídrico 2,5 M. Posteriormente, a suspensão foi adicionada a uma solução em ebulição de ácido clorídrico 2,5 M (67,5 mL) e aquecida sob refluxo até a ebulição por 15 minutos. A celulose degradada foi lavada repetidamente com água até ficar livre de ácido. Em seguida, a celulose de massa molar reduzida foi seca em estufa a 50 °C por 24 h. O produto obtido foi designado CEL MMR.

4.2.1.3 Acetilação homogênea da celulose para obtenção do triacetato de celulose

Adicionou-se 25,0 mL de ácido acético glacial a 1,0 g de Celulose ou CEL MMR e agitou-se por 30 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se uma solução contendo 0,08 mL de H₂SO₄ concentrado em 9,0 mL de ácido acético glacial e agitou-se por mais 25 minutos. Posteriormente, adicionou-se 32,0 mL de anidrido acético, agitou-se a mistura por 30 minutos e deixou-se em repouso por 14 h. Após o repouso, adicionou-se água destilada ao meio reacional até que não houvesse mais a formação de precipitado. O produto obtido foi lavado com água até pH próximo de sete e seco em estufa a 50 °C (CERQUEIRA et al., 2010).

O produto obtido a partir da acetilação da Celulose, o triacetato de celulose, foi designado de TAC e o produto obtido a partir da acetilação da CEL MMR foi designado por TAC MMR.

4.2.1.4 Determinação do grau de acetilação por via química

A determinação do grau de acetilação (GA) dos materiais acetilados foi realizada por via química, seguindo o procedimento descrito por Cerqueira e colaboradores (2010). Adicionou-se 5,0 mL de uma solução de NaOH 0,25 M e 5,0 mL de etanol a 0,10 g de acetato de celulose. Após 24 h adicionou-se a mistura 10,0 mL de HCl 0,25 M e deixou-se em repouso por mais 30 minutos. Em seguida, titulou-se a mistura com a solução de NaOH padronizada. O GA foi determinado pela Equação 1, e o grau de substituição (GS) dado pela Equação 2.

$$GA = \frac{[Vb \times \mu_b - Va \times \mu_a] \times 43 \times 100}{m_{\text{acetato}}} \quad \text{Equação 1}$$

$$GS = \frac{(162 \times GA)}{[(43 \times 100) - (42 \times GA)]} \quad \text{Equação 2}$$

Onde: Vb é a soma do volume de NaOH adicionado no procedimento e o volume gasto na titulação em L; Va é o volume de HCl adicionado em L; μ_b e μ_a são concentração molar de NaOH e HCl em mol L⁻¹, respectivamente; m_{acetato} é a massa de acetato de celulose em gramas.

4.2.1.5 Determinação da massa molar média viscosimétrica

A massa molar média dos materiais acetilados foi determinada por viscosimetria. Conforme descrito por Meireles e colaboradores (2010). Utilizou-se o viscosímetro de Cannon Fenske (número 50, altura 10,2 cm e diâmetro de 3,00 cm). O viscosímetro foi mergulhado e fixado em uma cuba de vidro com óleo, acoplada a um banho termostizado na temperatura de 24 °C. Foi preparada uma solução 2 g L⁻¹ para ambos os polímeros (TAC e TAC MMR) usando diclorometano/etanol (8:2) como solvente. O tempo de escoamento das soluções poliméricas foi realizado em triplicata. Usando o método de ponto único desenvolvido por Solomon e Ciutã (1962) foi determinada a viscosidade intrínseca. Segundo este método, a viscosidade intrínseca é calculada usando as seguintes relações:

$$[\eta] = \frac{\sqrt{2(n_{sp} - \ln(n_{rel}))}}{c} \quad \text{Equação 3}$$

$$n_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad \text{Equação 4}$$

$$n_{sp} = n_{rel} - 1 \quad \text{Equação 5}$$

Onde: $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca, n_{rel} é a viscosidade relativa, n_{sp} é a viscosidade específica, c é a concentração da solução polimérica, t é o tempo de escoamento da solução e t_0 é o tempo de escoamento do solvente. Utilizou-se a equação de Mark-Houwink-Sakurada para determinação da massa molar média viscosimétrica.

$$[\eta] = K \cdot M_v^a \quad \text{Equação 6}$$

Onde: M_v é a massa molar média viscosimétrica; K e a são constantes relacionadas com o solvente, os valores são respectivamente: $K = 13,9 \cdot 10^{-3} \text{ mL g}^{-1}$ e $a = 0,834$ (KNAUS, BAUER-HEIM, 2003).

4.2.1.6 Espectroscopia por FT-IR

As análises de FT-IR foram realizadas em modo transmissão utilizando pastilhas de KBr em um equipamento IR Prestige-2 com resolução de 1 cm^{-1} , 100 varreduras, e escala de 4000 a 400 cm^{-1} . As análises foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia (ESPEC) da Universidade Estadual de Londrina.

4.2.1.7 Calorimetria Exploratória Diferencial- DSC

Os experimentos foram realizados em um calorímetro modelo TGA-50. A velocidade de aquecimento utilizada foi de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, em atmosfera de nitrogênio a $50 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ e fluxo de temperatura de 25 a $350 \text{ }^\circ\text{C}$. As análises foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia (ESPEC) da Universidade Estadual de Londrina.

4.2.1.8 TGA

As curvas termogravimétricas foram obtidas em um analisador Perkin Elmer TGA 4000, sob fluxo de nitrogênio com vazão de $20 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Todas as amostras foram aquecidas em intervalo de temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ até $800 \text{ }^\circ\text{C}$, com taxa de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. As análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa 345, do Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina.

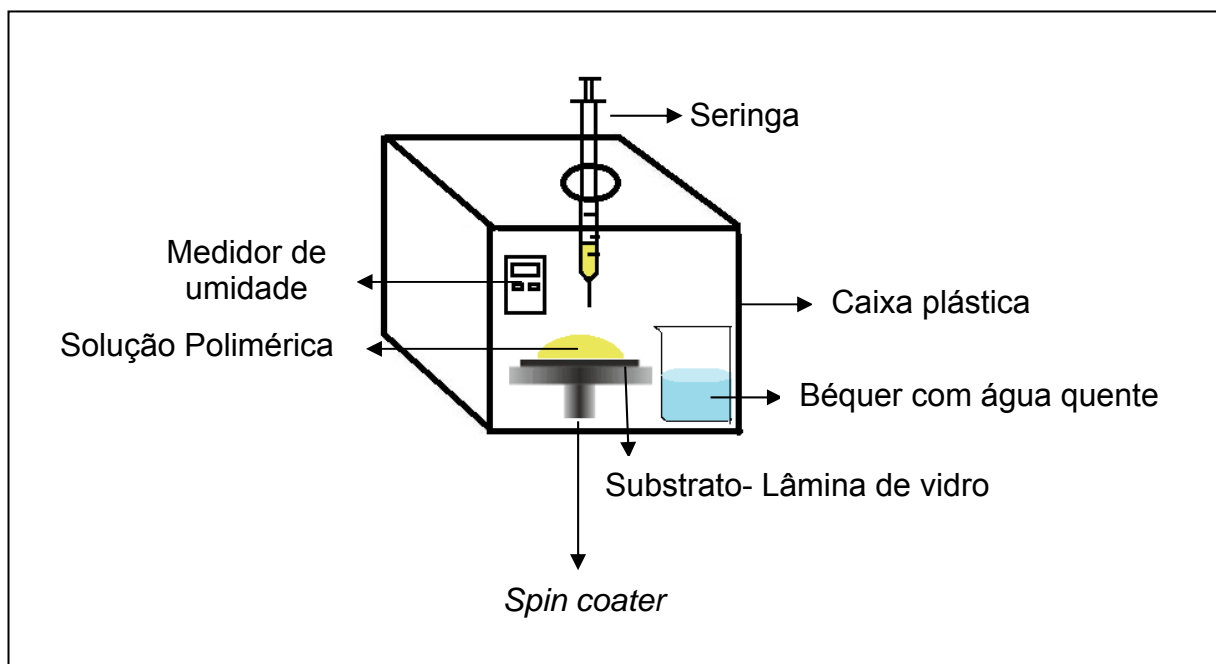
4.2.2 Preparo dos Filmes Microporosos de Triacetato de Celulose pela Técnica de Spin Coating

Triacetato de celulose com massa molar média viscosimétrica de aproximadamente $34.243 \text{ g mol}^{-1}$ (TAC MMR) e $46.549 \text{ g mol}^{-1}$ (TAC) foram

utilizados na produção dos filmes microporosos. Preparou-se soluções com concentrações de 3 e 5% (m/v) em clorofórmio (CHCl_3) e diclorometano (CH_2Cl_2). Para a obtenção dos filmes, utilizou-se o equipamento *spin coater* do Laboratório de Óptica e Eletrônica do Departamento de Física – UEL. Sobre uma lâmina de vidro (20 x 20 mm) colocada no *spin coater*, adicionou-se 100,0 μL da solução polimérica com o auxílio de uma seringa. O sistema foi rotacionado a 1000 rpm por 10 s. O mesmo procedimento foi realizado para a rotação de 3000 rpm. Os filmes foram produzidos com umidade relativa constante de 75% e com temperatura entre 22-26°C.

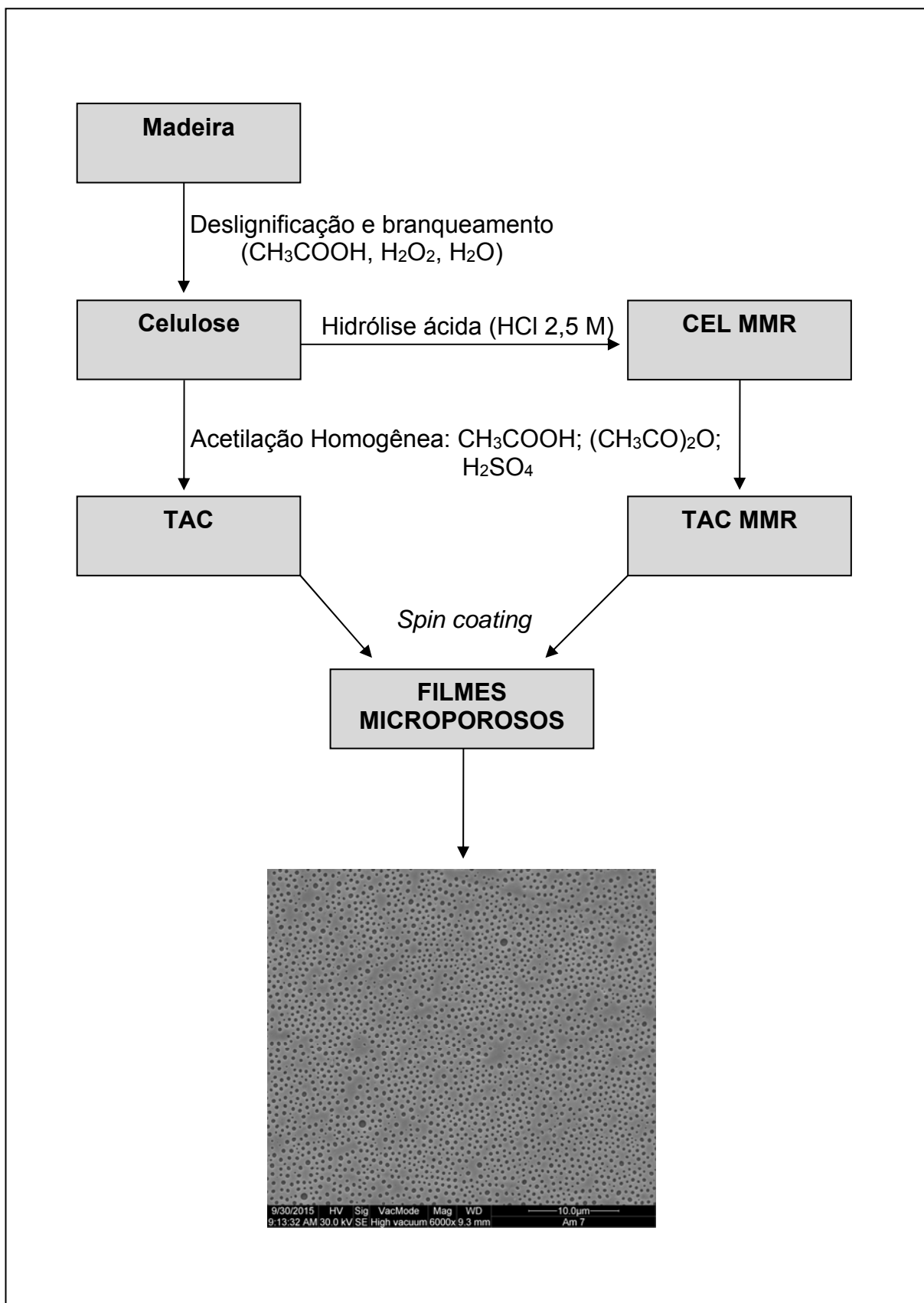
A Figura 7 ilustra o esquema experimental realizado para produção dos filmes porosos de acetato de celulose.

Figura 7- Esquema experimental para a produção de filmes porosos pela técnica de *spin coating* combinada ao *breath figure*.



A Figura 8 apresenta um fluxograma de todas as etapas experimentais realizadas para a obtenção dos filmes porosos de triacetato de celulose.

Figura 8- Fluxograma das etapas experimentais para a produção dos filmes microporosos de triacetato de celulose.



4.2.2.1 Caracterização dos filmes microporosos de triacetato de celulose

Os filmes microporosos de triacetato de celulose foram analisados por Microscopia Óptica (MO), utilizando o Microscópio Fotônico Axio Zeiss, por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando o equipamento da marca Philips, modelo FEI Quanta 200 com voltagem de aceleração de 30 kV. A superfície das amostras foi previamente coberta com uma fina camada de ouro e a magnitude de observação foi de 6000x. Ambas as análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia e Microanálise- UEL. Os filmes também foram caracterizados por Microscopia de Força Atômica (MFA), utilizando o equipamento NanoSurf FlexAFM (Liestal-Suíça) do Laboratório de Espectroscopia (ESPEC)- UEL, as análises foram conduzidas em ar e as imagens obtidas em modo contato intermitente, utilizando agulhas de silício (Tap190Al-G). A varredura foi feita na frequência de oscilação livre da haste e com diferentes amplitudes, dependendo da estabilidade e do contraste obtido. O *set point* foi fixado em 30-50% da amplitude de oscilação livre.

4.2.3 Aplicação dos Filmes Microporosos de Triacetato de Celulose como Substratos SERS Ativos

4.2.3.1 Preparação dos coloides de prata

Foram realizadas duas metodologias para a preparação dos coloides de prata. Todas as vidrarias utilizadas foram previamente lavadas com solução de ácido nítrico ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}$, 1:1 (v/v)).

Método A- Foi adicionado 90,0 mg de nitrato de prata a um frasco erlenmyer (envolto com papel alumínio) com 500,0 mL de água destilada e aqueceu-se até a ebulição. Enquanto se agitava vigorosamente, adicionou-se 10,0 mL de uma solução de citrato de sódio 1% (m/v) gota a gota e aqueceu-se por mais 40 minutos, com subsequente agitação por 90 minutos. Depois que a solução atingiu a temperatura ambiente, o volume da solução foi retornado para 500,0 mL com água destilada e estocado no refrigerador (LEE, MEISEL, 1982).

Método B- O coloide de prata foi preparado em água deionizada como descrito por Creighton, Blatchford e Albrecht (1979) e modificado por Xiaojun, Huaimin e Jiwei (2010). Dissolveu-se 8,5 mg de AgNO_3 em 50,0 mL de água

deionizada e adicionou-se gota a gota 150,0 mL de uma solução $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de borohidreto de sódio (NaBH_4), enquanto agitava-se vigorosamente em um banho de gelo. Após a adição completa da solução de AgNO_3 , a solução resultante amarela foi agitada e mantida a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 minutos.

4.2.3.2 Espectroscopia UV-vis

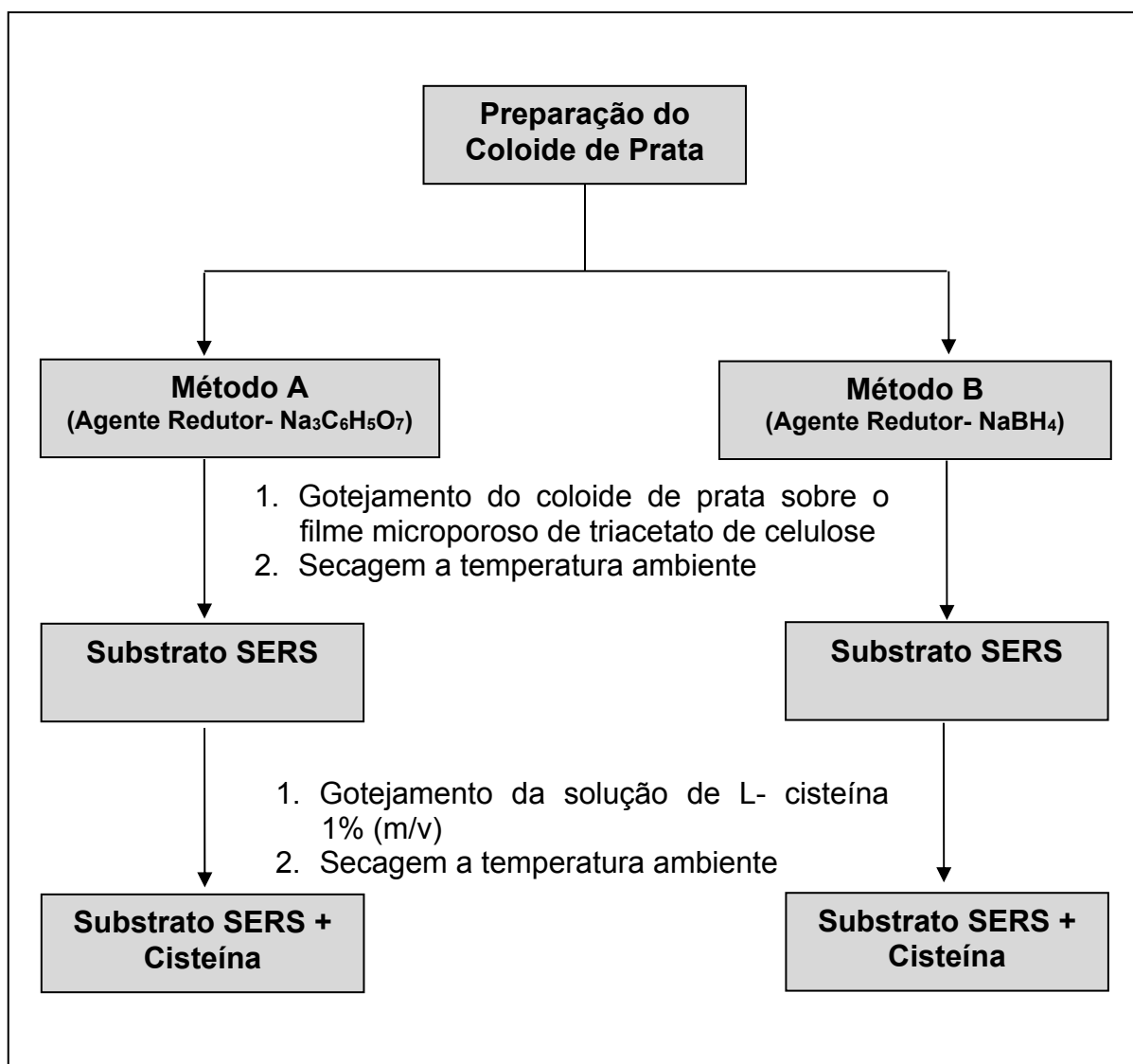
Os espectros UV-vis dos coloides de prata foram registrados entre 200 – 700 nm, em intervalos de 1 nm, utilizando-se o espectrofotômetro da marca Perkin Elmer, modelo Lambda 25 e cubetas de quartzo. Água destilada foi usada como branco (NASCIMENTO et al., 2014).

4.2.3.3 Preparação dos filmes microporosos de triacetato de celulose como substratos SERS ativos

Inicialmente, realizou-se o gotejamento do coloide de prata preparado pelo método A e B, separadamente, sobre os filmes microporosos de triacetato de celulose. Após a secagem dos filmes depositou-se algumas gotas de uma solução de L-cisteína 1% (m/v), preparada em pH 1,0, e aguardou-se a evaporação do solvente. Posteriormente, os filmes foram submetidos à técnica SERS para avaliação do potencial dos filmes microporosos como substratos SERS ativos.

A Figura 9 descreve as etapas realizadas para a produção dos substratos SERS, recobertos com nanopartículas de prata para detecção de L-cisteína.

Figura 9- Esquema das etapas realizadas para a produção dos substratos SERS para a detecção de L-cisteína.



4.3.3.4 Espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS)

Os espectros SERS foram obtidos usando o equipamento Microscópio Raman Confocal (alpha 300+) localizado no Laboratório de Espectroscopia da UEL, com laser de 532 nm e resolução espectral de 4 cm⁻¹.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE E DOS MATERIAIS ACETILADOS

5.1.1 Caracterização por FT-IR

Neste trabalho, a celulose purificada foi extraída da sua principal fonte industrial, a madeira, através de um processo totalmente livre de cloro que envolveu a utilização do ácido peracético.

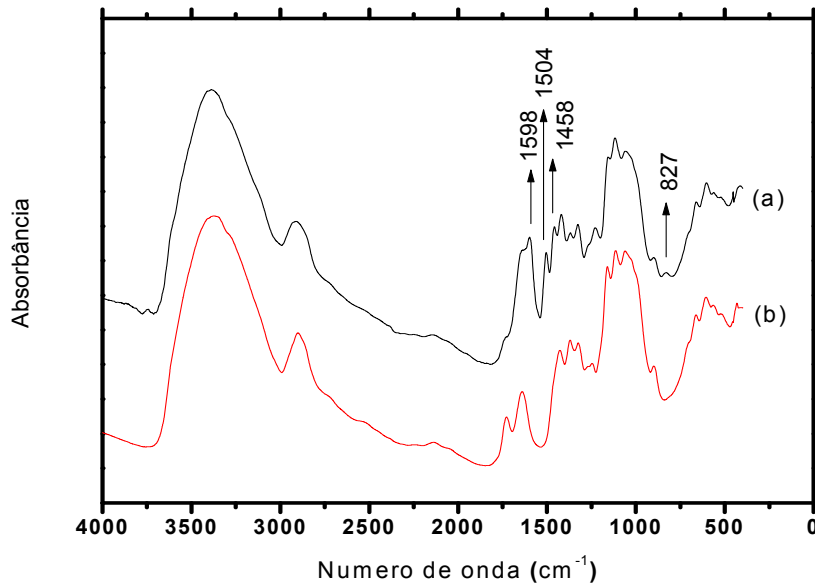
O ácido peracético apresenta elevado poder oxidante, e é considerado um agente deslignificante altamente seletivo, devido a sua capacidade de oxidar estruturas ricas em elétrons, como os anéis aromáticos da lignina (ABDEL-HALIM, AL-DEYAB, 2011). Ele é capaz de realizar a clivagem das ligações β- aril éter e ambas as ligações C-C e C-O ligadas ao anel aromático (LAWRENCE, MCKELVEY, JOHNSON, 1980).

O perácido utilizado foi preparado pela oxidação do ácido acético com peróxido de hidrogênio, como representado na Equação 7. Esta reação estando em equilíbrio químico apresenta as seguintes espécies químicas: ácido acético, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e água (BRASILEIRO, COLODETTE, PILÓ-VELOSO, 2001).



Analisando os espectros na região do infravermelho, Figura 10 da madeira e da celulose purificada, denominada Celulose, é possível observar que as bandas de absorção em: 1598, 1504, 1458 e 827 cm^{-1} não apareceram no espectro da Celulose. Outras bandas tiveram sua intensidade reduzida, como em: 1427 e 1246 cm^{-1} . Estas bandas de absorção estão associadas aos grupos funcionais presentes na lignina e na hemicelulose (Tabela 2). A ausência e a diminuição da intensidade destas bandas no espectro da Celulose indicam que a maior parte da lignina foi removida durante o processo de deslignificação e branqueamento com o ácido peracético.

Figura 10- Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) das amostras de (a) Madeira e (b) Celulose.



A Figura 11 apresenta a imagem da amostra de madeira antes do processo de deslignificação e branqueamento, e a imagem da amostra de celulose purificada obtida pelo processo.

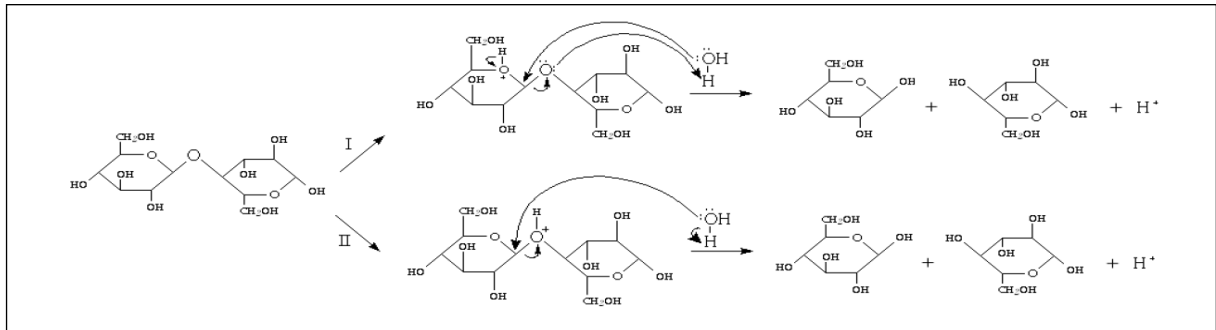
Figura 11- Imagens digitais das amostras de madeira e celulose purificada.



Com base nestas imagens, podemos considerar que o ácido peracético é um promissor substituto dos reagentes clorados utilizados nos processos convencionais de branqueamento de polpas celulósicas, pois a utilização de reagentes químicos a base de cloro (cloro, dióxido de cloro e hipoclorito de sódio) apresentam o grande problema da formação de compostos organoclorados, especialmente dioxinas e furanos de alta toxicidade.

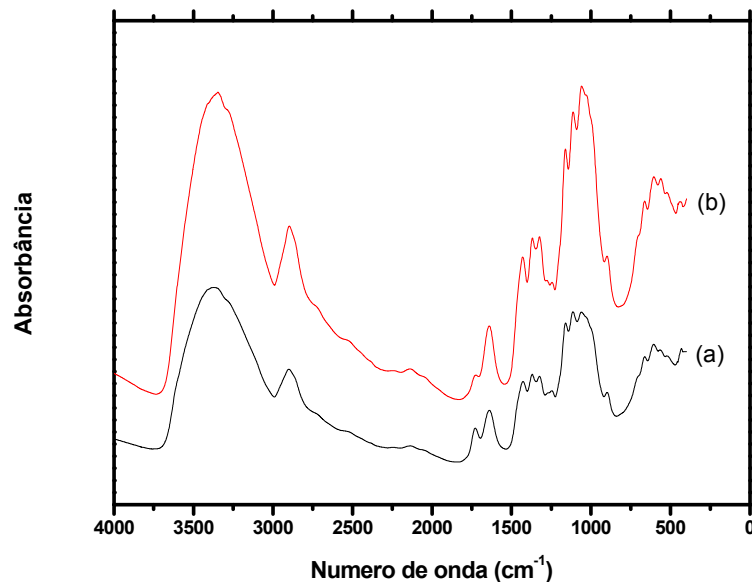
Para a redução da massa molar, a celulose purificada foi submetida à hidrólise heterogênea em meio ácido. O processo envolve três etapas: (1) protonação do oxigênio da ligação glicosídica ou do anel piranosídico, formando o ácido conjugado, (2) quebra da ligação C-O e a formação de um carbocátion cíclico, (3) adição e clivagem heterolítica de uma molécula de água produzindo dois fragmentos e regenerando o próton. O mecanismo da reação está ilustrado na Figura 12 (XIANG et al., 2003).

Figura 12- Mecanismo proposto para a hidrólise heterogênea de celulose catalisada por ácido (XIANG et al., 2003).



A Figura 13 apresenta o espectro na região do infravermelho da amostra de Celulose e da CEL MMR obtida pelo processo de hidrólise ácida.

Figura 13- Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) das amostras de (a) Celulose e de (b) Celulose após a redução da massa molar (CEL MMR).



O espectro da CEL MMR apresentou as mesmas bandas presentes no espectro da Celulose. Portanto, durante o processo de hidrólise não houve a formação de produtos secundários.

Pode-se ainda analisar a cristalinidade da celulose a partir da razão entre as alturas das bandas em 1372 cm^{-1} e 2900 cm^{-1} (A_{1372}/A_{2900}), como proposto por Akerholm, Hinterstoisser e Salmén (2004) e Fan, Dai e Huang (2012). Os valores encontrados foram 0,71 para a Celulose e 1,43 para a CEL MMR. O maior valor da razão para a amostra CEL MMR indica que o processo de redução da massa molar contribuiu para o aumento da cristalinidade da celulose. Este comportamento é o esperado, considerando que a hidrólise ácida acontece predominantemente nas regiões amorfas da celulose.

Tabela 2- Atribuição das principais bandas de absorção na região do infravermelho das amostras de madeira, Celulose e CEL MMR (VIEIRA et al., 2007; JOAHAR, AHMAD, DUFRESNE, 2012).

Número de onda (cm^{-1})			Atribuições
Madeira	Celulose	CEL MMR	
3387	3373	3346	Estiramento O-H
2911	2901	2898	Estiramento C-H de grupos CH_2 e CH_3
1729	1727	1726	Estiramento C=O não conjugada (hemicelulose)
1636	1639	1640	Deformação de água
1598	-	-	Estiramento C=C do anel aromático (lignina)
1504	-	-	Estiramento C=C do anel aromático (lignina)
1458	-	-	Deformação assimétrica C-H em CH_2 e CH_3
1420	1427	1430	Deformação angular no plano C-H adjacente a carbonila
1368	1369	1368	Deformação angular no plano C-H (celulose e hemicelulose)
1228	1246	1244	Estiramento C-O éter (lignina e hemicelulose)
1156	1160	1160	Estiramento C-O-C assimétrico
1117	1114	1113	Estiramento simétrico C-O de álcool secundário
1059	1060	1060	Estiramento simétrico C-O de álcool primário
899	899	890	Estiramento C-O-C da ligação glicosídica
827	-	-	Estiramento C-H fora do plano

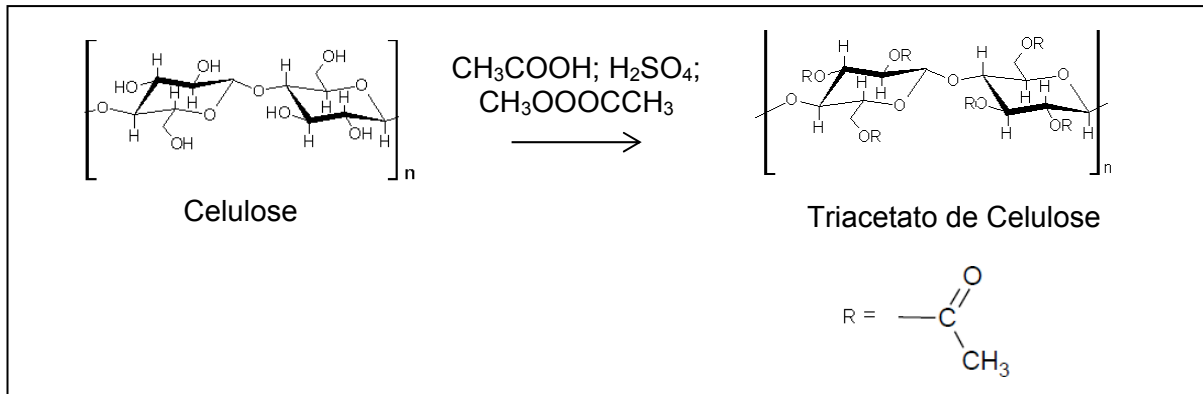
CEL MMR- Celulose de massa molar reduzida

Ambas as amostras, Celulose e CEL MMR, foram quimicamente modificadas através da reação de acetilação homogênea. A partir das Equações 1 e 2, determinou-se o grau de substituição (GS) para as amostras acetiladas de Celulose e CEL MMR, os valores encontrados foram de $2,95 \pm 0,06$ e $2,77 \pm 0,07$,

respectivamente. Caracterizando os materiais como materiais tri-acetilados, ou seja, durante este processo de esterificação, as três hidroxilas livres das unidades de glicose foram substituídas por grupos acetila (CRUZ et al., 2011). As amostras tri-acetiladas foram denominados TAC e TAC MMR.

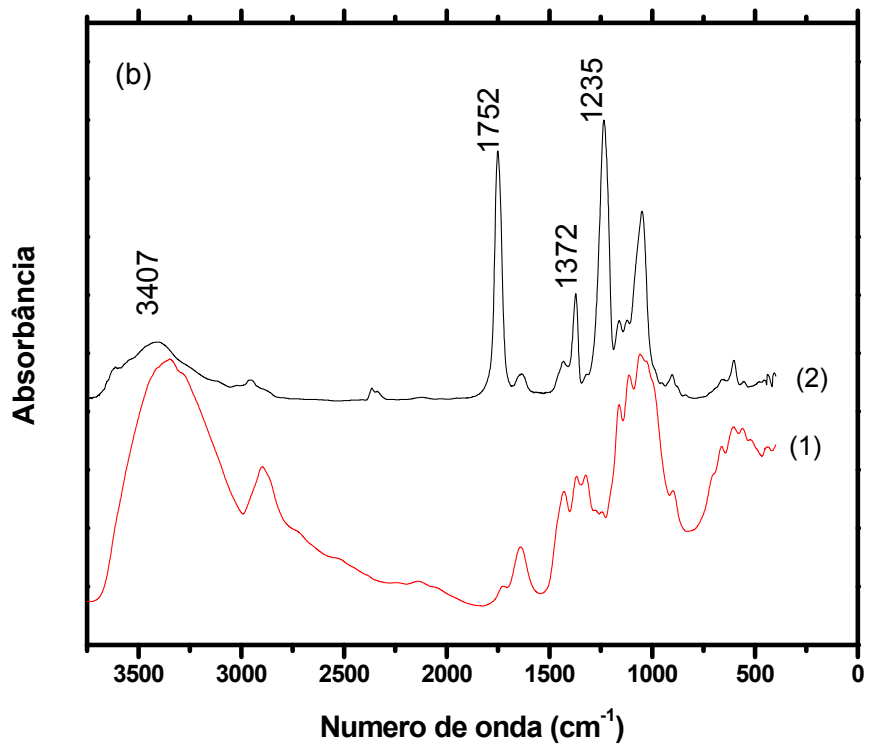
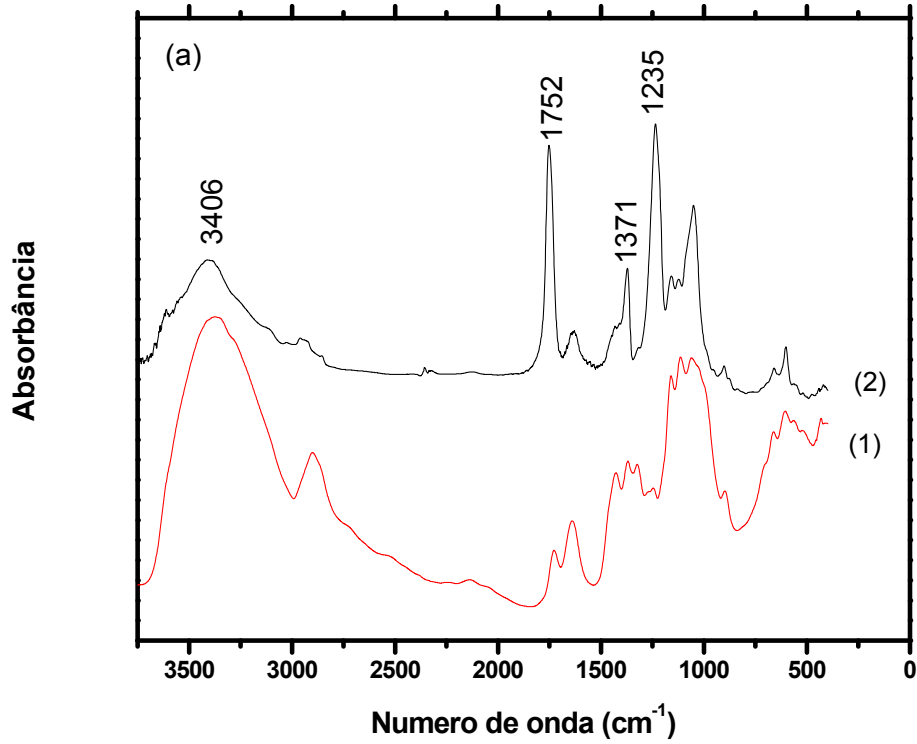
A Figura 14 ilustra a reação de acelilação homogênea da celulose.

Figura 14- Reação de acetilação homogênea da celulose para obtenção do triacetato de celulose.



Os espectros de FT-IR das amostras TAC e TAC MMR, representados na Figura 15, apresentam as bandas de absorção características dos ésteres, tais como, a banda intensa em 1752 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), e as bandas em 1371 cm^{-1} (deformação simétrica CH_3) e em 1235 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}$). Os espectros também apresentaram uma diminuição da intensidade das banda de absorção na região de 3700 a 3000 (estiramento OH), em comparação com os materiais não acetilados (LIU et al., 2007). Estes resultados indicam que o processo de acetilação das amostras de celulose foi efetivo para a produção do acetato de celulose.

Figura 15- Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) das amostras (a) (1) Celulose (2) TAC e (b) (1) Celulose após redução da massa molar (CEL MMR) e (2) triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR).



A Tabela 3 apresenta a atribuição das principais bandas de absorção dos materiais tri-acetilados.

Tabela 3- Atribuição das principais bandas de absorção na região do infravermelho das amostras de acetatos de celulose (JEBRANE, PICHAVANT, SÈBE, 2011).

Número de onda (cm ⁻¹)		Atribuições
TAC	TAC MMR	
3406	3407	Estiramento O-H
2960	2957	Estiramento C-H de grupos CH ₂ e CH ₃
1752	1752	Estiramento C=O de éster
1636	1636	Deformação de água
1371	1372	Deformação simétrica CH ₃
1235	1235	Estiramento C-O acetato
1051	1050	Estiramento C-O

TAC- Triacetato de Celulose

TAC MMR- Triacetato de Celulose de Massa Molar Reduzida

A razão entre as alturas das bandas em 1372 cm⁻¹ e 2900 cm⁻¹ (A_{1372}/A_{2900}) também foi determinada para os acetatos de celulose e obtiveram-se os valores de 1,31 e 0,75 para a amostra de TAC MMR e TAC, respectivamente. Estes dados sugerem que após a acetilação a celulose mantém os mesmos valores de cristalinidade que antes da reação (AKERHOLM, HINTERSTOISSER, SALMÉN, 2004; FAN, DAI, HUANG, 2012).

5.1.2 Determinação da Massa Molar Média Viscosimétrica

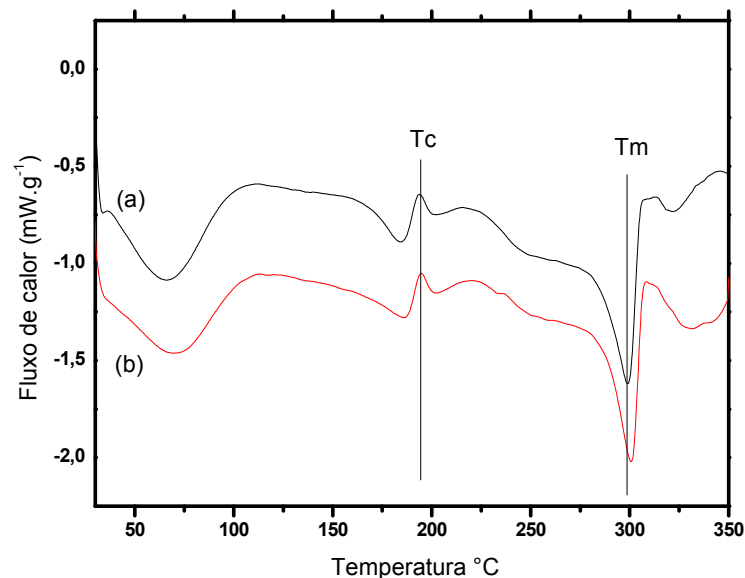
Através das Equações 3, 4, 5 e 6 encontrou-se a viscosidade intrínseca e a massa molar média viscosimétrica para os materiais tri-acetilados. Para a amostra de TAC MMR, $[\eta]= 84,11 \text{ mL g}^{-1}$ e $M_v= 34.243 \text{ g mol}^{-1}$. Para o TAC $[\eta]= 108,66 \text{ mL g}^{-1}$ e $M_v= 46.549 \text{ g mol}^{-1}$.

5.1.3 Análises Térmicas: DSC E TGA

A Figura 16 apresenta as curvas de DSC para o TAC e TAC MMR. Com base nesta figura, foi possível observar que os materiais acetilados possuem: (i) uma endoterma entre 30 – 105 °C, a qual é atribuída à saída de água que está adsorvida na estrutura dos materiais; (ii) uma exoterma em aproximadamente 194 °C, referente à cristalização do polímero durante a varredura; (iii) uma endoterma por

volta de 300 °C atribuída à fusão do triacetato de celulose (CRUZ et al., 2011). O pico de fusão alargado apresentado pelos acetatos de celulose na curva de DSC indica a presença de cadeias de diferentes tamanhos. O fato dos picos de fusão das amostras TAC e TAC MMR apresentarem o mesmo perfil e ocorrerem na mesma temperatura, indica que a redução da massa molar não foi suficiente para alterar o comportamento de fusão dos acetatos de celulose.

Figura 16- Curvas de DSC para (a) Triacetato de celulose (TAC) e (b) Triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR). Taxa de aquecimento de 20°C min⁻¹ sob fluxo de N₂ de 50 mL min⁻¹ T_m – temperatura de fusão e T_c – temperatura de cristalização.

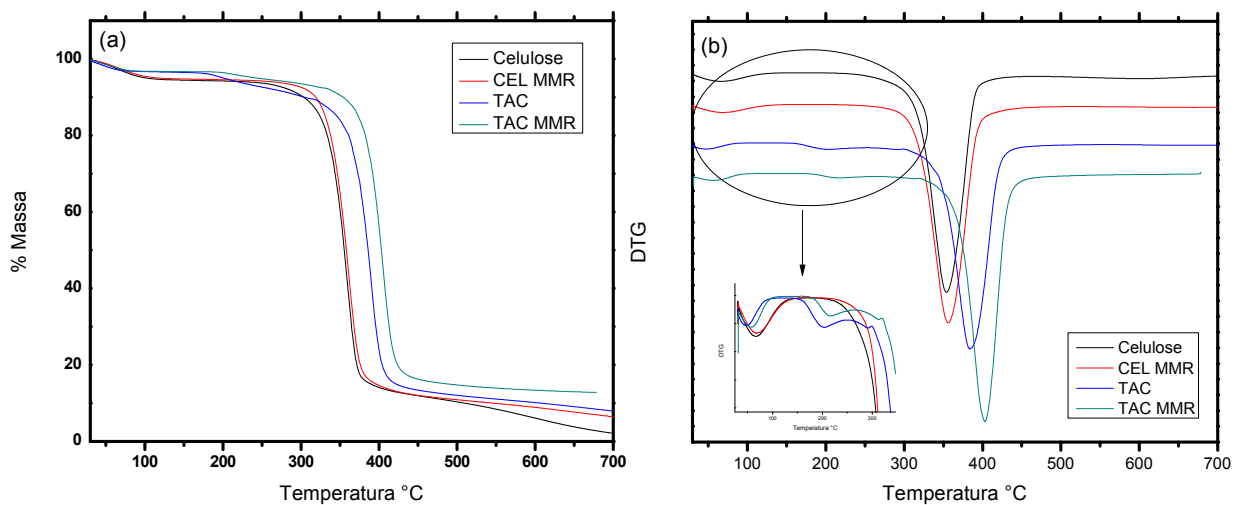


Pelas curvas de perda de massa, Figura 17 (a), observa-se uma perda de massa inicial referente à saída de água de aproximadamente 5,4% para a celulose na temperatura de 50 °C e de 3,4% para os acetatos de celulose na temperatura de 70 °C. Fatos esses também observados nas curvas de DSC. O maior valor de perda de água foi observado para a celulose devido à sua hidrofiliabilidade. Para o acetato de celulose, observa-se ainda um pico em aproximadamente 200 °C, que provavelmente se deve à saída dos grupos acetila. Pode ser observado que materiais acetilados apresentaram maior estabilidade térmica do que o material não acetilado. A T_{onset}, menor temperatura que pode ser detectado o início da variação da massa, e a T_{max}, temperatura máxima de

degradação encontrada para Celulose, CEL MMR, TAC E TAC MMR foram: 319, 321, 350 e 369 °C e 354, 356, 383 e 402 °C, respectivamente (Figura 17 (b)). Os valores de T_{max} obtidos para as amostras de Celulose e CEL MMR foram muito próximas, o que indica que a extensão da redução da massa molar não foi suficiente para alterar as propriedades térmicas dos materiais, como já observado pelo comportamento da fusão destes materiais na curva de DSC. Já o maior valor de T_{max} encontrado para as amostras acetiladas está de acordo com o observado por outros autores e pode estar relacionado com a retirada de polioses residuais e água e ou ao aumento da cristalinidade do material durante o processo de acetilação (FILHO et al., 2008).

A redução da massa molar altera o comportamento térmico dos polímeros, pois materiais com cadeias menores tendem a se degradar mais facilmente. Entretanto a maior facilidade das cadeias menores se organizarem durante o processo de precipitação após a reação de acetilação pode favorecer a formação de domínios cristalinos, o que contribui para o aumento da estabilidade térmica (SHAIKH et al., 2009).

Figura 17- Curvas de (a) TG e de (b) DTG para as amostras de Celulose, Celulose após a redução da massa molar (CEL MMR), triacetato de celulose (TAC) e triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR).



5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES MICROPOROSOS DE TRIACETATO DE CELULOSE

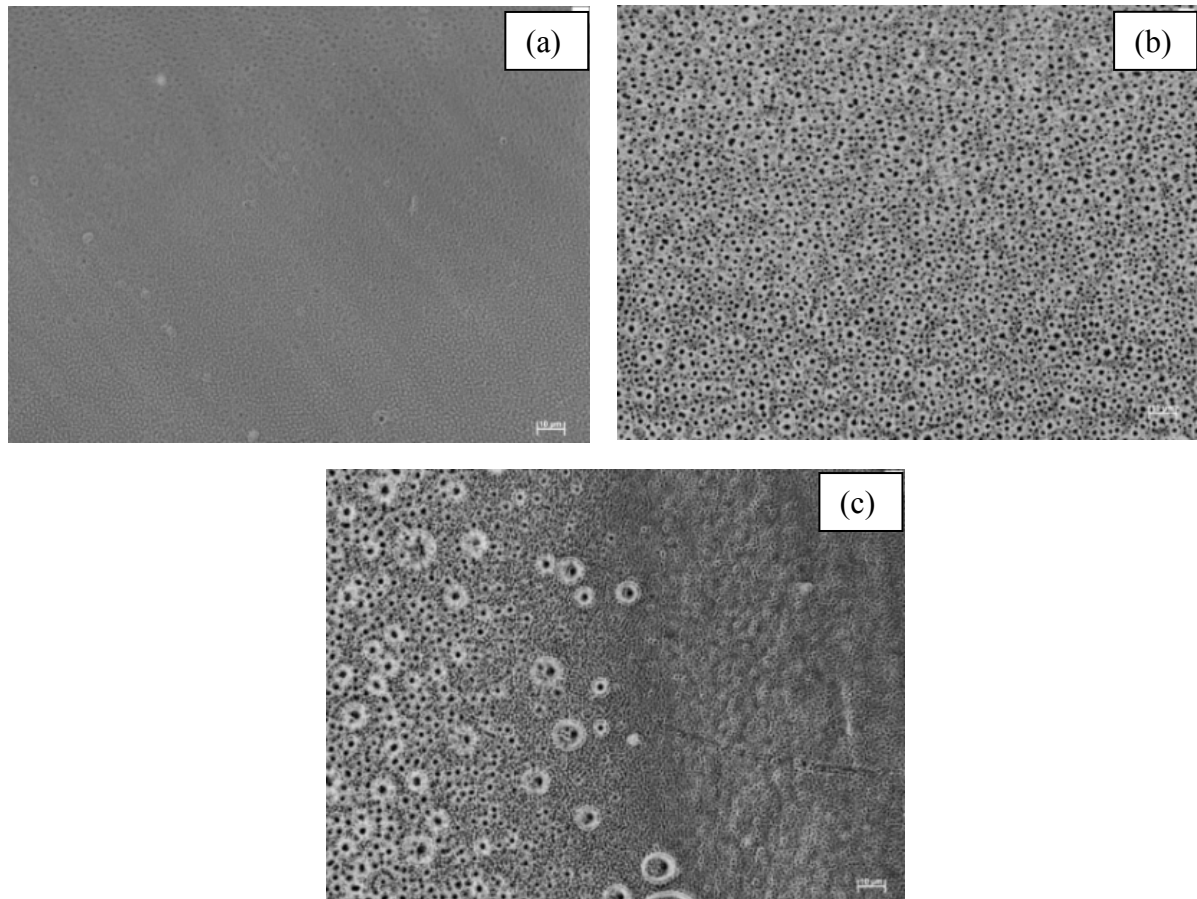
5.2.1 Microscopia Óptica

Para investigar o efeito do solvente, concentração da solução polimérica, massa molar do polímero e velocidade de rotação do *spin coater* na formação e na morfologia dos poros nos filmes de triacetato de celulose, realizou-se um planejamento experimental qualitativo, resultando num total de 16 tipos de amostras, como descrito na Tabela 4.

Inicialmente, foi realizada a observação visual dos filmes de triacetato de celulose e as amostras que apresentaram maior iridescência, fenômeno observado em grandes áreas com estruturas altamente ordenadas devido aos efeitos de difração e interferência com a incidência de luz, foram observadas no microscópio óptico.

As imagens obtidas pela Microscopia Óptica foram utilizadas como resposta qualitativa. A partir delas avaliou-se quais amostras apresentavam melhores indícios de formação de poros (IFP), no aumento de 40 vezes. A imagem de MO de todas as amostras analisadas estão registradas no Apêndice A. Como exemplos de resposta, são apresentadas três imagens características na Figura 18. Na Figura 18 (a) observa-se a superfície de um filme com baixa densidade de poros, em (b) observa-se a superfície de um filme com poros regulares e bem distribuídos e (c) a superfície de um filme com poros irregulares e com distribuição aleatória.

Figura 18- Imagens de MO para (a) superfície compacta com pouca presença de poros (Amostra 2 – Tabela 4), (b) Superfície com poros regulares e bem distribuídos (Amostra 3- Tabela 4) e (c) Superfície com poros irregulares e com distribuição aleatória (próxima ao centro da amostra 3- Tabela 4).



Pelas imagens de MO também pode ser observado que não houve formação de poros na região central do filme, e que os poros localizados próximos das bordas do substrato são maiores do que os poros próximos da região central do filme. Isto pode ser explicado pelo fato de haver uma maior quantidade de solução nas bordas do substrato, pois o movimento de rotação do *spin coater* faz com que a solução polimérica flua para as bordas do substrato. Sendo assim, o solvente leva um tempo maior para se evaporar nas bordas e as gotículas têm mais tempo para crescer (Figura 18 (c)).

Tabela 4 - Planejamento experimental qualitativo para a produção de filmes porosos.

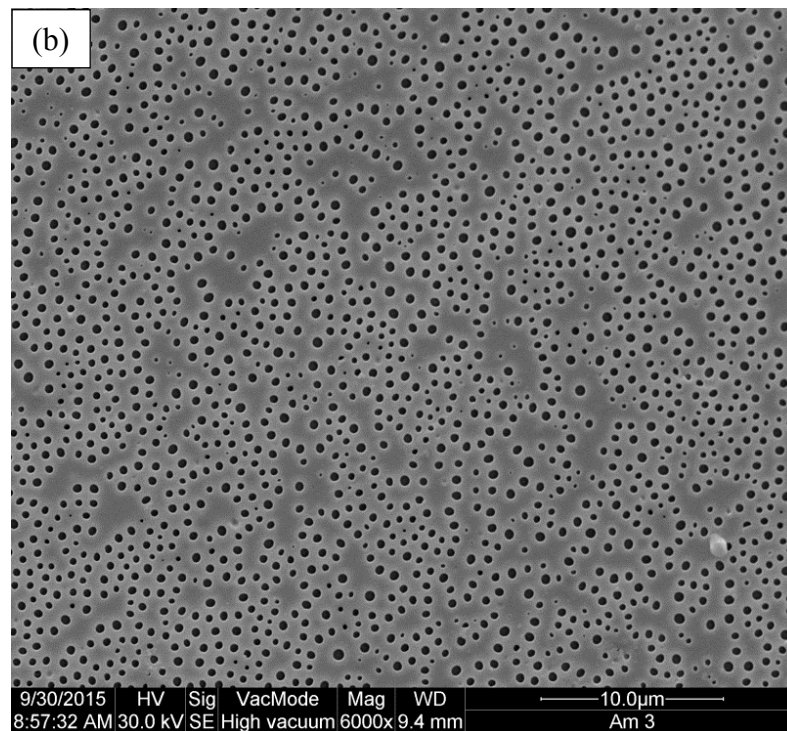
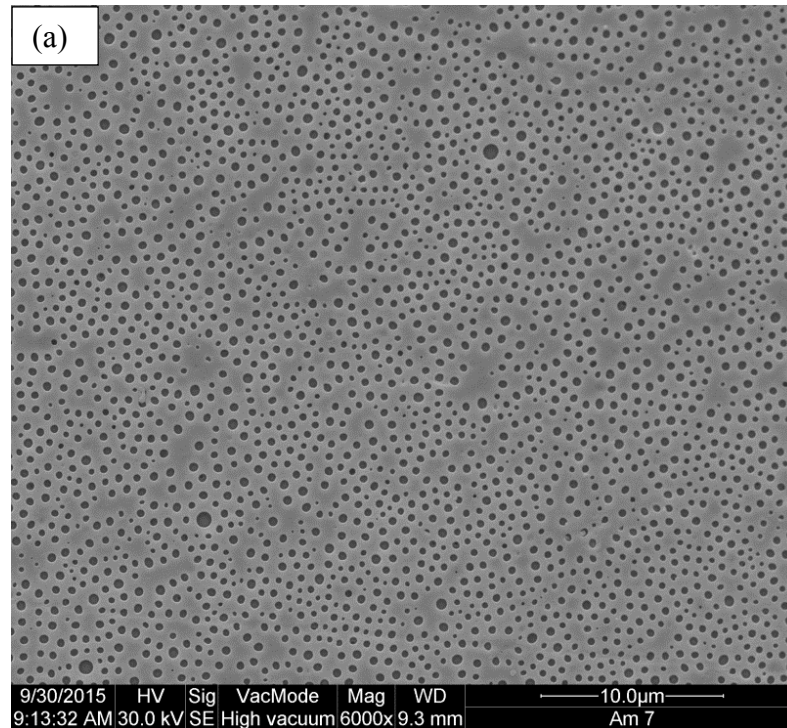
Amostra	Polímero	Solvente	Rotação (rpm)	Concentração % (m/v)	Resposta
1	TAC MMR	CHCl ₃	1000	3	IFP
2	TAC	CHCl ₃	1000	3	-
3	TAC MMR	CH ₂ Cl ₂	1000	3	IFP
4	TAC	CH ₂ Cl ₂	1000	3	IFP
5	TAC MMR	CHCl ₃	3000	3	IFP
6	TAC	CHCl ₃	3000	3	IFP
7	TAC MMR	CH ₂ Cl ₂	3000	3	-
8	TAC	CH ₂ Cl ₂	3000	3	-
9	TAC MMR	CHCl ₃	1000	5	IFP
10	TAC	CHCl ₃	1000	5	IFP
11	TAC MMR	CH ₂ Cl ₂	1000	5	IFP
12	TAC	CH ₂ Cl ₂	1000	5	IFP
13	TAC MMR	CHCl ₃	3000	5	IFP
14	TAC	CHCl ₃	3000	5	IFP
15	TAC MMR	CH ₂ Cl ₂	3000	5	IFP
16	TAC	CH ₂ Cl ₂	3000	5	IFP

TAC- Triacetato de Celulose, TAC MMR- Triacetato de Celulose de Massa Molar Reduzida, IFP- Indício de formação de poros, CHCl₃- clorofórmio, CH₂Cl₂- diclorometano.

5.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

A partir das imagens obtidas por Microscopia Óptica, nove amostras foram selecionadas (Amostra 1, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12 e 13, Tabela 4) para a caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A Figura 19 apresenta duas imagens de MEV dos filmes de triacetato de celulose. Todas as imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura estão registradas no Apêndice B. Através das imagens de MEV, foram realizadas 200 medidas do diâmetro dos poros pelo software SizeMeter, desenvolvido pelo laboratório de controle de processos LCP, do departamento de engenharia Química da UFSC (<http://size-meter.software.informer.com/>).

Figura 19 - Imagens de MEV dos filmes microporosos de: (a) solução 3% (m/v) de acetato de celulose em clorofórmio obtido na velocidade de rotação 3000 rpm (TAC MMR- CHCl_3 - 3000 rpm); (b) solução 5% (m/v) de acetato de celulose em diclorometano obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC- CH_2Cl_2 - 1000 rpm).



Todos os filmes de triacetato de celulose caracterizados por MEV apresentaram estruturas porosas com morfologia arredondada. Verificou-se também uma distribuição heterogênea dos poros sobre a superfície dos filmes. Estes resultados indicam que durante o processo *breath figure* ocorreu a coalescência das gotículas de água.

De acordo com o mecanismo proposto para a técnica *breath figure*, a evaporação do solvente ocasiona o resfriamento da superfície da solução polimérica e a condensação do vapor de água na interface solução/ar. Quando as gotículas de água tocam a superfície da solução polimérica, elas são encapsuladas pelo polímero, e isto provavelmente previne a coalescência das gotículas (BAI et al., 2013).

Esta camada protetora ao redor das gotículas de água é controlada principalmente por dois fatores, a velocidade de precipitação do polímero e a solubilidade do polímero em água (ZHANG, BAI, LI, 2015). Estudos revelam que os polímeros ramificados produzem poros mais ordenados comparados com seus homólogos lineares, porque eles se precipitam com mais facilidade ao redor das gotículas de água, devido à alta densidade de segmentos (STENZEL, KOWOLLIK e DAVIS, 2006). Quanto à solubilidade, os polímeros devem ser hidrofóbicos, pois se o polímero também for hidrofílico, ele se dissolverá na água e o encapsulamento das gotículas não será efetivo. No entanto, tem sido relatado que a introdução de grupos terminais polares na cadeia polimérica, podem se agregar na interface solução polimérica/água e prevenir a coalescência devido à interação hidrofílica (CHEN et al., 2014).

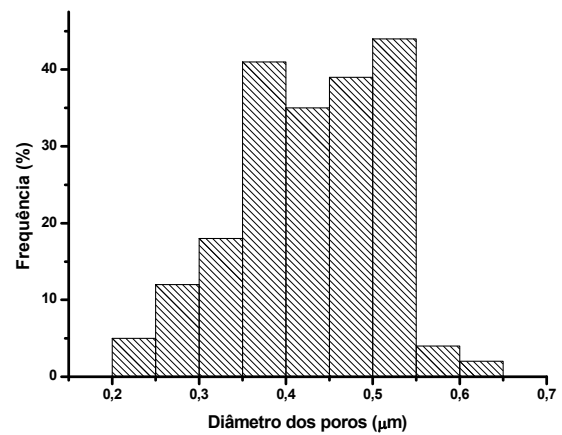
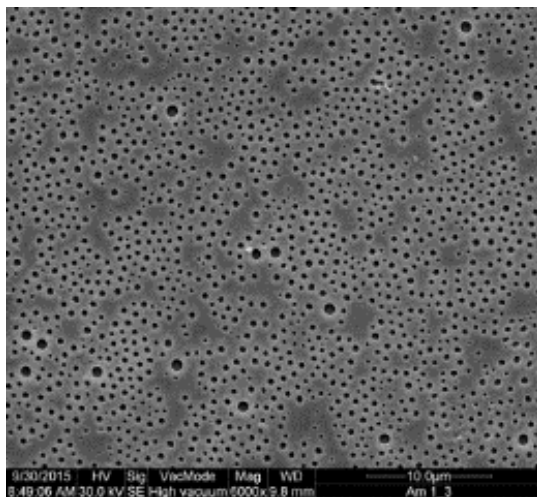
Neste trabalho, os polímeros empregados (TAC E TAC MMR) apresentam uma cadeia polimérica linear, o que dificulta a estabilização das gotículas de água, e também provavelmente apresentam poucos terminais polares. Sendo assim, a obtenção de poros desorganizados e com morfologia arredondada ocorreram provavelmente porque os polímeros não foram muito efetivos na estabilização das gotículas de água. No entanto, para a maioria das amostras analisadas por MEV foi verificada uma boa densidade de poros.

A seguir, será discutido o efeito do solvente, da concentração da solução polimérica, da massa molar do polímero e da velocidade de rotação do *spin coater* na formação e na morfologia dos poros nos filmes de triacetato de celulose.

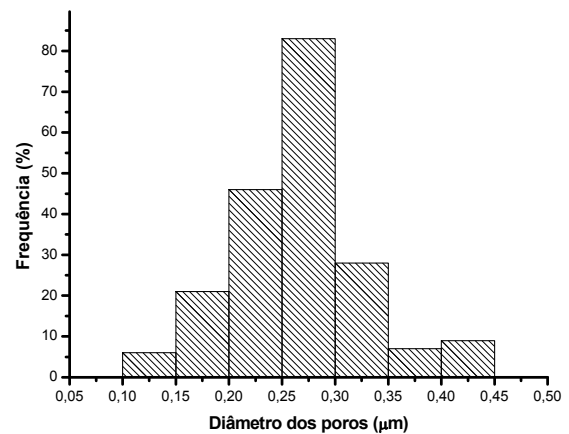
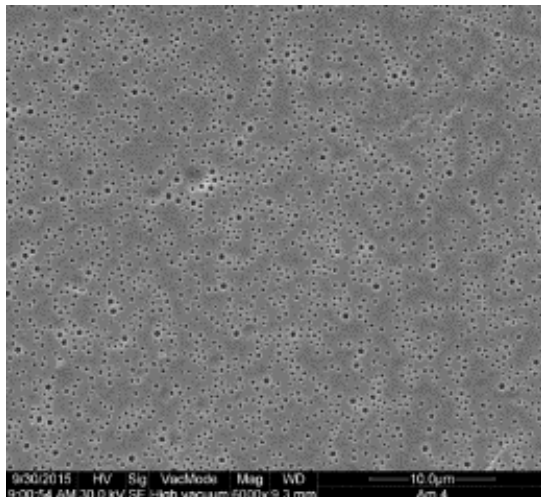
5.2.2.1 Efeito do solvente

No presente trabalho, o clorofórmio e o diclorometano foram selecionados para investigar o efeito do solvente na formação e na morfologia dos poros nos filmes de triacetato de celulose. A Figura 20 apresenta imagens de MEV para o filme de TAC MMR preparado em diclorometano e clorofórmio com concentração constante de 3% (m/v).

Figura 20 - Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose 3% em diclorometano (m/v) obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR-CH₂Cl₂ – 1000 rpm) (b) solução de triacetato de celulose 3% (m/v) em clorofórmio obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR-CHCl₃ – 1000 rpm).



$$D = 0,4291\mu\text{m} \pm 0,0833$$



$$D = 0,2636\mu\text{m} \pm 0,0625$$

Analisando as imagens acima, foi constatado que os filmes preparados em diclorometano apresentaram uma densidade superior de poros na superfície do filme polimérico. Comparando as propriedades físicas e químicas dos dois solventes (Tabela 5), verifica-se que o diclorometano apresenta maior ponto de ebulição, maior pressão de vapor e menor entalpia de evaporação. Portanto, as propriedades físicas do diclorometano são mais favoráveis para a formação de poros pela técnica *breath figure*.

Tabela 5. Propriedades físicas e químicas do clorofórmio e diclorometano (FERRARI, FABBRI, PILATI, 2011).

Propriedades Físicas e Químicas	CHCl₃	CH₂Cl₂
Densidade 20 °C (g/cm ³)	1,4832	1,3266
Viscosidade 25 °C (mPa.s)	0,537	0,413
Solubilidade em água 20 °C (g/100 mL)	0,8	2,0
Tensão Superficial 25°C (mN/m)	26,5	27,2
Tensão Interfacial com água 25°C (mN/m)	33,5	28,3
Ponto de ebulição °C	61,0	40,0
Pressão de vapor 25 °C (Kpa)	26,2	58,2
Entalpia de vaporização 25 °C (KJ/mol)	31,28	28,82

CHCl₃ – Clorofórmio, CH₂Cl₂- Diclorometano.

Alguns estudos revelam que o diâmetro médio dos poros aumenta com a elevação do ponto de ebulição do solvente, porque diminui a volatilidade do solvente e as gotículas de água têm mais tempo para crescer (TIAN et al., 2006). Por outro lado, a maior volatilidade do solvente, aumenta o gradiente de temperatura entre a solução e a atmosfera próxima. A maior diferença de temperatura favorece a condensação do vapor de água e, conseqüentemente o aumento do raio médio das gotículas de água. Visualmente, os filmes preparados em diclorometano apresentaram poros com tamanhos ligeiramente superiores, porém quantitativamente os poros não apresentaram uma diferença muito significativa, devido à dispersão de tamanho dos poros.

Outro fator que pode favorecer a formação dos poros é a boa afinidade termodinâmica entre o polímero e o solvente (FERRARI, FABBRI, PILATI 2011).

Para avaliar a afinidade termodinâmica entre o polímero e os solventes, utilizou-se os parâmetros de solubilidade de Hansen (HSP).

Em 1967, Hansen propôs que o parâmetro de solubilidade δ é formado pelo somatório das forças presentes na molécula, tendo, contribuições relativas às forças de dispersão (δ_d), às forças de ponte de hidrogênio (δ_h), e das interações dipolo-dipolo (δ_p) (CANEVAROLO, JR., 2006)

Neste estudo, a afinidade termodinâmica baseou-se na distância do parâmetro de solubilidade $Ra^{1/2}$ (Mpa)^{1/2}, dado pela Equação 8.

$$Ra^2 = (\delta_{d2} - \delta_{d1})^2 + (\delta_{p2} - \delta_{p1})^2 + (\delta_{h2} - \delta_{h1})^2 \quad \text{Equação 8}$$

Onde: os sub índices 1 e 2 correspondem aos parâmetros de solubilidade para o solvente e o polímero, respectivamente.

A alta afinidade termodinâmica requer que Ra seja menor do que R_o , raio da esfera de interação (HSP). A razão entre Ra e R_o tem sido chamado de número de diferença de energia relativa (RED). Se o número RED é igual a 1, não há diferença de energia. Números de RED menores que 1 indicam alta afinidade termodinâmica; números RED iguais ou próximo de 1 são uma condição de limite, e número RED superiores indicam afinidades progressivamente mais baixas (NOVO, L., 2012). Os valores dos números RED calculados para o polímero/ solventes são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6- Parâmetros de Hansen para o triacetato de celulose, clorofórmio, diclorometano e os valores do número de RED.

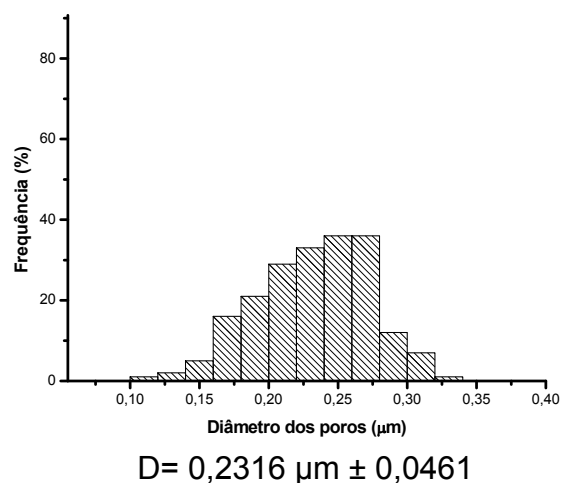
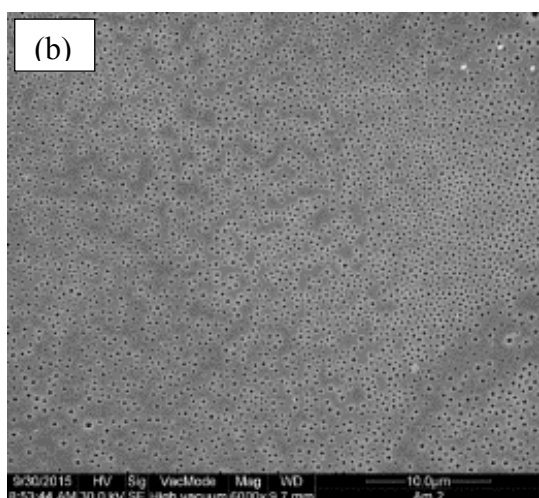
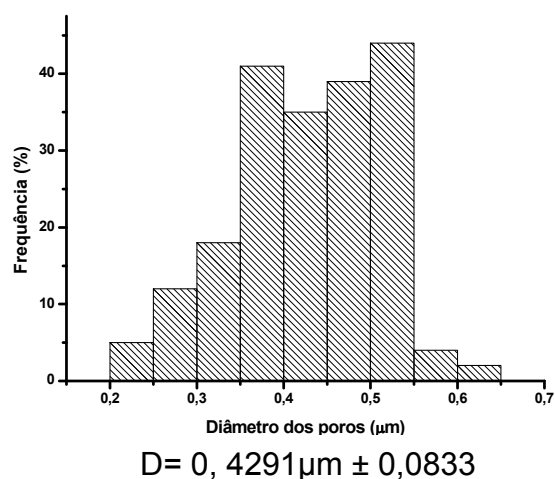
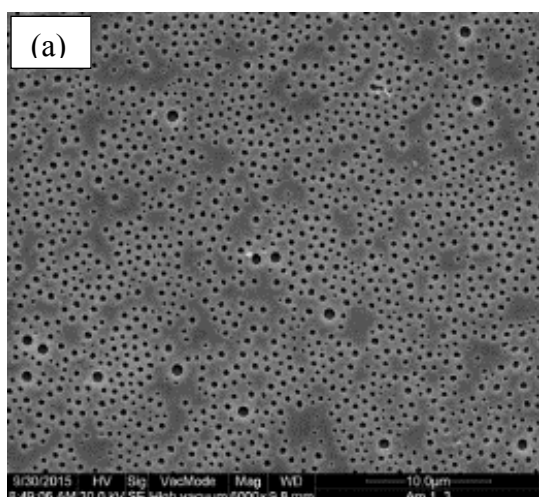
	δ_d (Mpa) ^{1/2}	δ_p (Mpa) ^{1/2}	δ_h (Mpa) ^{1/2}	Ra (Mpa) ^{1/2}	R_o (Mpa) ^{1/2}	RED
Triacetato de Celulose	18,6	12,7	11,0	-	10,6	-
Clorofórmio	17,8	3,1	5,7	11,0	-	1,04
Diclorometano	18,2	6,3	6,1	8,1	-	0,76

Com base nos valores do número de RED, verificou-se que há uma maior afinidade entre o triacetato de celulose e o diclorometano, do que entre o triacetato de celulose e o clorofórmio. A maior afinidade entre o polímero e o solvente favorece a formação de uma fina película do polímero na superfície das gotículas de água. A formação desta película diminui a tensão superficial entre o solvente e a água, impedindo a sua coalescência e permitindo que estruturas mais ordenada sejam formadas (FERRARI, FABBRI, PILATI, 2011).

5.2.2.2 Efeito da concentração da solução polimérica

A Figura 21 apresenta as imagens de MEV para as amostras de TAC MMR preparadas em diclorometano, com concentrações de 3 e 5% (m/v), respectivamente.

Figura 21 - Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose de massa molar reduzida 3% em diclorometano (m/v) obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR-CH₂Cl₂ – 1000 rpm) (b) solução de triacetato de celulose massa molar reduzida 5% (m/v) em diclorometano obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR-CH₂Cl₂ – 1000 rpm).



Analisando as imagens acima e as imagens (d)-(e) e (h)-(i) do Apêndice B, observou-se que os filmes preparados com concentração de 5% (m/v) apresentaram poros menores do que os filmes preparados com concentração de 3% (m/v). Este resultado está de acordo com os encontrados na literatura (LIU et al., 2013; XIONG et al., 2011) e pode ser explicado pelo aumento da capacidade do polímero em estabilizar as gotículas de água, já que há um aumento da quantidade de polímero na solução (STENZEL, KOWOLLIK, DAVIS, 2006).

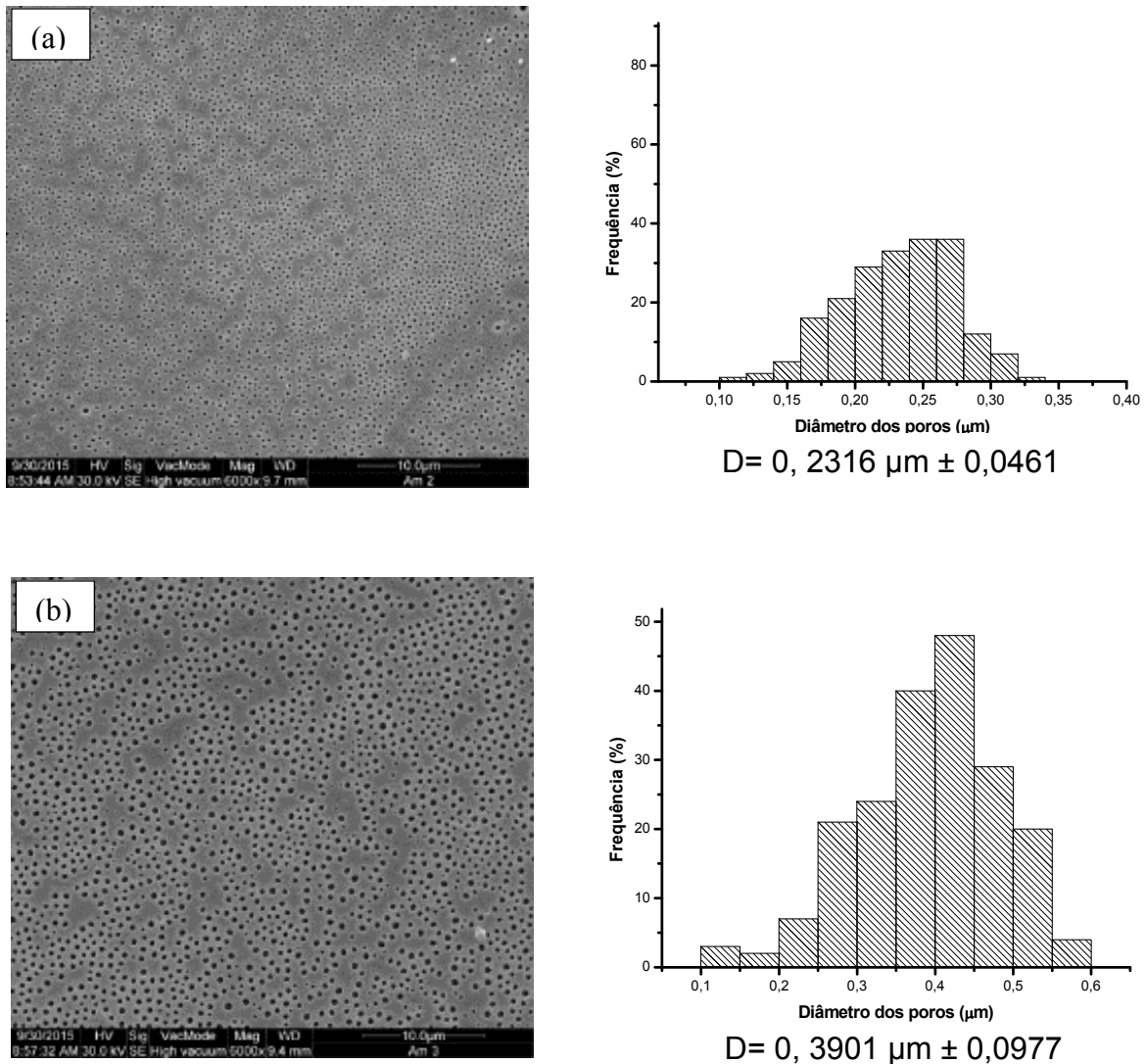
Outra explicação para este fenômeno está relacionada com a diminuição do gradiente de temperatura. A rápida evaporação do solvente melhora o gradiente de temperatura entre a solução polimérica e a atmosfera próxima. No entanto, na solução mais concentrada, o solvente tem menor pressão de vapor e, portanto a velocidade de evaporação é mais lenta, com isso o gradiente de temperatura na solução mais concentrada favorece menos, para a condensação do vapor de água (XIONG et al., 2011).

5.2.2.3 Efeito da massa molar do polímero

Os itens (a) e (b) da Figura 22 apresentam as imagens de MEV para os filmes preparados com soluções de 5% (m/v) de TAC MMR e TAC em CH_2Cl_2 com velocidade rotação de 1000 rpm.

As imagens de MEV revelaram que os filmes preparados com o TAC, polímero de maior massa molar, tendem a formar poros maiores que os filmes preparados com o TAC MMR, mantendo-se as demais variáveis experimentais constantes. Este resultado coincide com outros relatados na literatura (Tian, et al., 2006). Como o TAC MMR tem menor massa molar, ele pode ser mais facilmente dissolvido nos solventes que o TAC, permitindo assim que suas cadeias poliméricas se reúnam na superfície da solução com mais facilidade e, portanto, encapsule as gotículas de água mais fortemente, prevenindo a coalescência delas. Outro fator que colabora com o aumento do tamanho dos poros com o aumento da massa molar, é que o TAC tem fração molar menor que o TAC MMR, pois como os dois polímeros tem a mesma concentração em massa, o TAC MMR tem mais moléculas na solução e consegue formar uma camada protetora mais forte que o TAC. Isto impede que gotículas coalesçam, e, portanto os poros tendem a serem menores.

Figura 22- Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose massa molar reduzida 5% em diclorometano (m/v) obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR- CH₂Cl₂ – 1000 rpm) (b) solução de triacetato de celulose 5% (m/v) em diclorometano obtido na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC-CH₂Cl₂ – 1000 rpm).

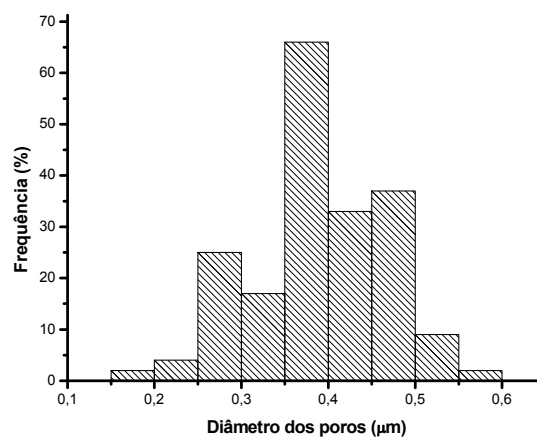
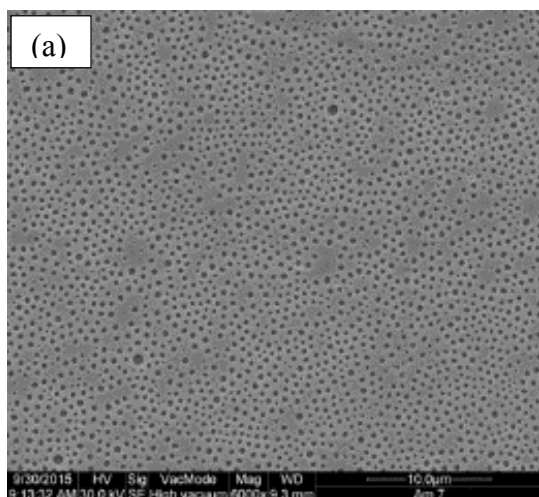


5.2.2.4 Efeito da velocidade de rotação do *Spin Coater*

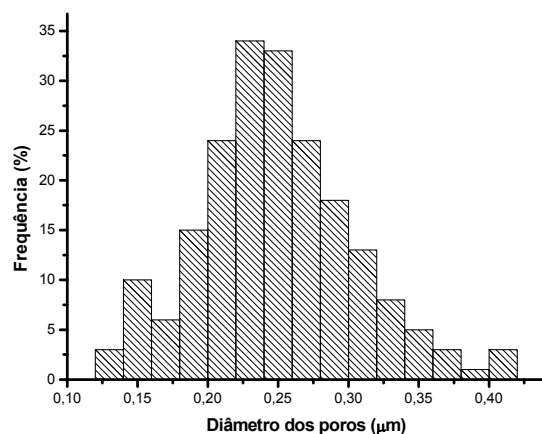
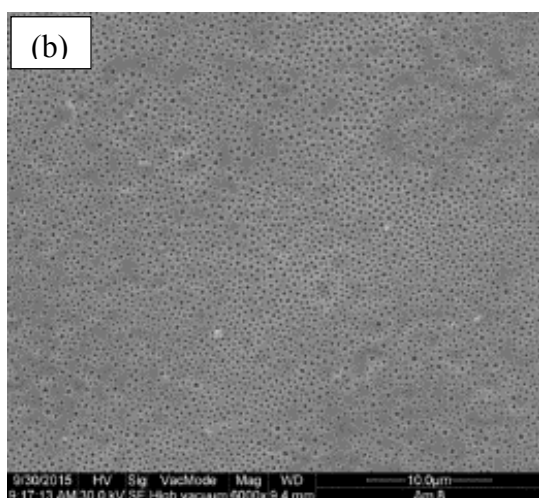
Foi verificado que as amostras preparadas com concentração de 3% (m/v) para ambos os polímeros em clorofórmio e com velocidade de rotação do *spin coater* de 3000 rpm apresentaram uma elevada densidade de poros na superfície dos filmes (Figura 23). Na rotação de 3000 rpm houve uma menor dispersão do

tamanho dos poros. Isto pode ser explicado pela evaporação mais rápida do solvente na rotação em 3000 rpm do que em 1000 rpm. Consequentemente, os polímeros precipitam mais rapidamente ao redor das gotículas de água impedindo que elas se coalesçam e gerem poros com elevada dispersão de tamanho.

Figura 23- Imagens de MEV dos filmes microporosos (a) solução de triacetato de celulose massa molar reduzida 3% em clorofórmio (m/v) obtido na velocidade de rotação de 3000 rpm (TAC MMR-CHCl₃ – 3000 rpm) (b) solução de triacetato de celulose 3% (m/v) em clorofórmio obtido na velocidade de rotação de 3000 rpm (TAC- CHCl₃ – 3000 rpm).



$$D = 0,3806 \mu\text{m} \pm 0,0981$$



$$D = 0,2505 \mu\text{m} \pm 0,0581$$

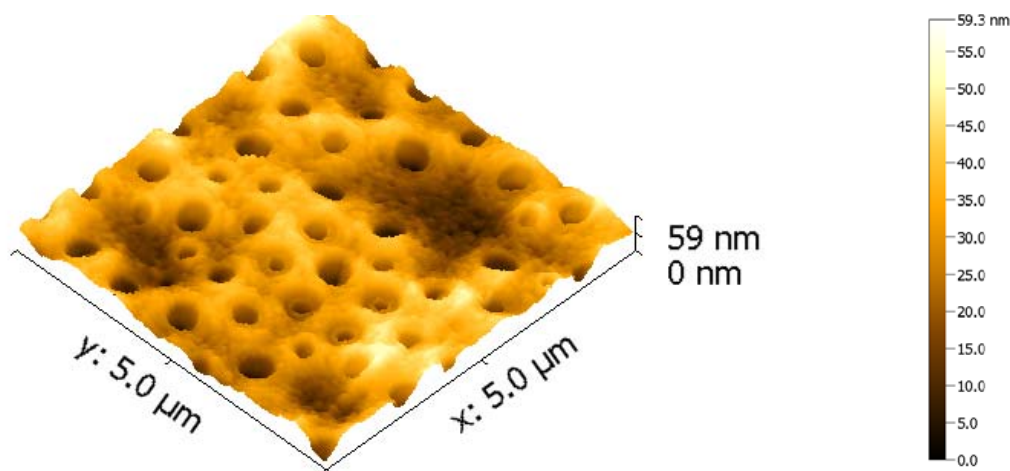
As imagens obtidas por MEV revelaram a morfologia dos poros, e o efeito do solvente, concentração da solução polimérica, massa molar do polímero e velocidade de rotação do *spin coater* na densidade, distribuição e tamanhos dos poros. Para avaliar a profundidade dos poros foi realizada a Microscopia de Força Atômica (MFA).

5.2.3 Microscopia de Força Atômica

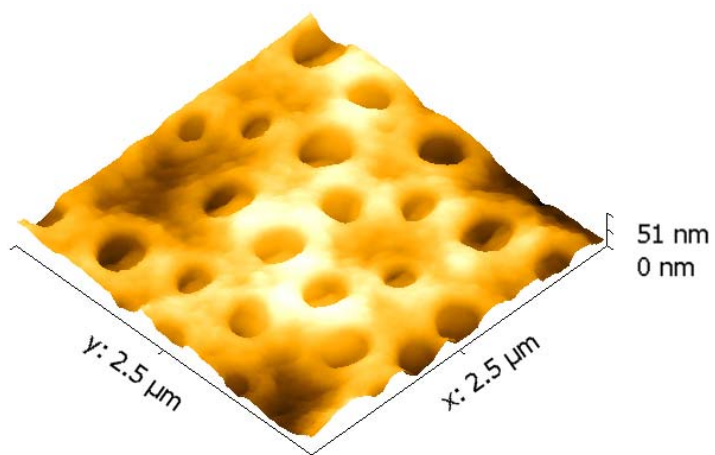
Para análise de MFA foram selecionadas quatro amostras. As imagens em 3D destas amostras são apresentadas na Figura 24 e A imagem em 2D de todas as amostras analisadas por MFA estão registradas no Apêndice C.

Figura 24- Imagens de MFA dos filmes de triacetato de celulose (a) solução de 3% de triacetato de celulose em diclorometano após a redução da massa molar depositado na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR- CH_2Cl_2 - 1000); (b) solução de 5% de triacetato de celulose após a redução da massa molar em diclorometano depositado na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR- CH_2Cl_2 - 1000); (c) solução de 5% de triacetato de celulose em diclorometano molar depositado na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC - CH_2Cl_2 - 1000); (d) solução de 3% de triacetato de celulose em clorofórmio após a redução da massa molar depositado na velocidade de rotação de 1000 rpm (TAC MMR- CHCl_3 - 1000).

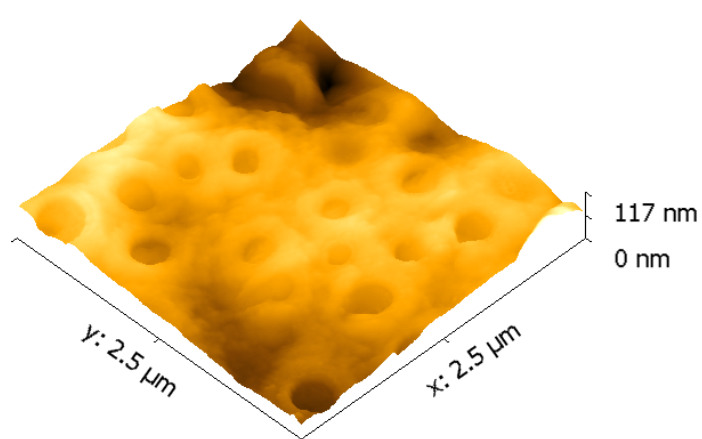
(a)



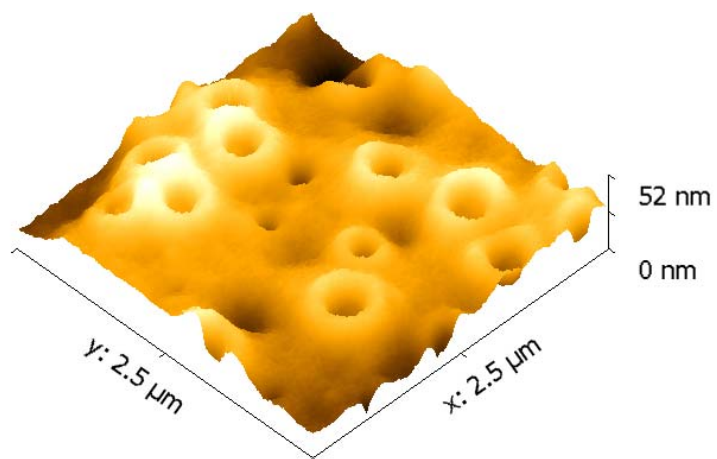
(b)



(c)



(d)



Analisando as imagens é possível observar a formação de microporos na superfície dos filmes. Os filmes preparados em diclorometano apresentaram uma maior densidade de poros, este resultado está de acordo com o obtido pela Microscopia Eletrônica de Varredura.

A Tabela 7 apresenta os valores do diâmetro médio e os valores da rugosidade média, Rms (Sq) dos microporos, correspondentes à média de três imagens de MFA. Os valores de Rms foram calculados pelo programa Gwyddion (www.sourceforge.net/projects/gwyddion/). O objetivo desta análise foi verificar o quanto a concentração, a massa molar dos polímeros e o solvente influenciaram na penetração da gotícula de água na solução polimérica. Para isso determinou-se o diâmetro (d) e a rugosidade média (Rms), Tabela 7. Considerou-se que as gotas de água são esferas perfeitas, assim, se o raio (r) é igual à profundidade, isso é $r = Rms$ considera-se que metade da gota penetrou na solução. Quando o raio é maior que a profundidade ($r > Rms$) considera-se que menos que a metade da gota penetrou e quando o raio é menor que a profundidade ($r < Rms$) considera-se que mais da metade da gota de água penetrou na solução (FRAGAL, V., 2013).

Tabela 7- Diâmetro e rugosidade média dos microporos dos filmes de triacetato de celulose.

Amostra	Diâmetro médio (nm)	Rugosidade média (Rms) (nm)
3% TAC MMR- CH ₂ Cl ₂ - 1000 rpm	429,1 ± 83,3	9,12 ± 2,8
5% TAC MMR- CH ₂ Cl ₂ - 1000 rpm	231,6 ± 46,1	20,47 ± 4,2
5% TAC- CH ₂ Cl ₂ - 1000 rpm	390,1 ± 97,7	15,53 ± 4,2
3% TAC MMR- CHCl ₃ - 1000 rpm	263,6 ± 62,5	21,40 ± 3,8

De acordo com os dados da Tabela 7, observa-se que para todas as amostras a gota penetrou menos da metade na solução polimérica. Com relação à concentração, observou-se que os valores de diâmetro médio e profundidade dos poros da amostra 5% TAC MMR- CH₂Cl₂- 1000 rpm é significativamente diferente do valor da amostra 3% TAC MMR- CH₂Cl₂- 1000 rpm. O aumento da concentração resultou na diminuição do diâmetro médio dos poros, como discutido no item 5.2.2.2, e em uma maior rugosidade média. Este aumento se deve provavelmente porque o aumento da concentração torna a evaporação do solvente mais lenta, conseqüentemente, o tempo de contato das gotículas de água com a solução

polimérica é maior, permitindo uma maior penetração da gotícula de água na solução.

Analisando o efeito da massa molar do polímero observou-se o aumento no diâmetro médio dos poros, porém não teve uma diferença significativa nos valores de rugosidade média. Este comportamento se deve a maior solubilidade do TAC MMR no diclorometano e também a maior fração em massa de TAC MMR na solução polimérica, o que contribui para a melhor estabilização das gotículas de água, como já relatado no item 5.2.2.3.

Comparando-se os valores de rugosidade média encontrados para as amostras 3% TAC MMR- CH_2Cl_2 - 1000 rpm e 3% TAC MMR- CHCl_3 - 1000 rpm, foi verificado que as amostras preparadas em diclorometano apresentaram menor rugosidade média. Como o diclorometano é mais volátil do que o clorofórmio, o tempo de contato das gotículas de água com a solução polimérica é menor e, portanto, as gotículas de água penetram menos, resultando em menores valores de rugosidade.

Devido as estruturas microporosas formadas não serem muito regulares e os poros apresentarem tamanhos heterogêneos, os valores de diâmetro e rugosidade apresentaram valores de desvio elevado.

5.3 APLICAÇÃO DOS SUBSTRATOS MICROPOROSOS DE ACETATO DE CELULOSE PARA DETECÇÃO DE CISTEÍNA POR ESPECTROSCOPIA RAMAN INTENSIFICADA POR SUPERFÍCIE (SERS)

A partir da caracterização dos filmes microporosos de triacetato de celulose por MO, MEV e MFA, selecionou-se os filmes preparados com o TAC MMR em diclorometano, com concentração de 3% (m/v) e com velocidade de rotação do *spin coater* de 1000 rpm, para a avaliar sua utilização como substrato SERS ativo para detecção de L-cisteína por espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS). Esses filmes foram selecionados por apresentarem uma alta densidade de poros em sua superfície.

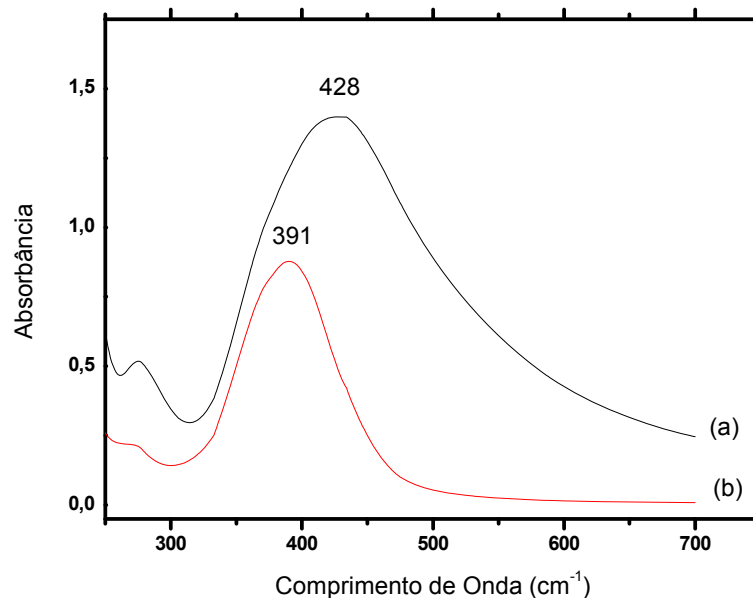
5.3.1 Coloides de Prata

A técnica SERS tem sido empregada com sucesso, para observar moléculas adsorvidas sobre coloides metálicos, tais como, prata, ouro e cobre. Os coloides mais comuns são os coloides de prata, devido ao baixo custo, fácil preparação e o grande aumento no sinal Raman observado (NASCIMENTO et al., 2011).

Neste trabalho, as nanopartículas de prata foram produzidas pela redução dos íons Ag^+ , pelos seguintes agentes redutores: borohidreto de sódio (NaBH_4) e citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$).

Na Figura 25 é apresentado o espectro de absorção UV-Vis das soluções de prata coloidal.

Figura 25- Espectro UV-Vis do (a) Coloide de prata preparado com citrato de sódio como agente redutor e (b) Coloide de prata preparado com borohidreto de sódio como agente redutor.



Observou-se que a absorção do plasmon superficial deu origem a uma banda larga com máximo de absorção em torno de 428 nm para o colóide de prata preparado com citrato de sódio e 391 nm para o colóide de prata preparado com borohidreto de sódio. O máximo de absorção, no espectro UV-Vis de soluções coloidais está relacionado ao tamanho médio das partículas, enquanto que a largura

da banda de absorção relaciona-se com a dispersão de tamanho das partículas (SANTANA et al., 2006). Sendo assim, o coloide de prata preparado com citrato de sódio provavelmente apresenta nanopartículas de prata com tamanho superior e também com maior dispersão de tamanho, já que a largura da banda de absorção do espectro UV-vis é maior.

Observando a coloração das soluções de prata coloidal, Figura 26, nota-se que o coloide de prata preparado com borohidreto de sódio apresenta coloração amarela e o coloide preparado com citrato de sódio possui coloração verde acinzentada. Segundo Melo e colaboradores (2012), para as nanopartículas de prata, a ressonância ocorre na região da luz visível, o que faz com que apresentem coloração característica. Para as nanopartículas de prata esféricas com diâmetro entre 10-20 nm a solução é amarelada e as nanopartículas com diâmetros maiores, entre 30 e 100 nm, podem ter coloração laranja, verde até violeta. Já no estado macro e microparticulado a prata apresenta coloração de cinza a preta.

Figura 26- (a) Coloide de prata utilizando borohidreto de sódio como agente redutor; (b) Coloide de prata utilizando citrato de sódio como agente redutor.



(a)



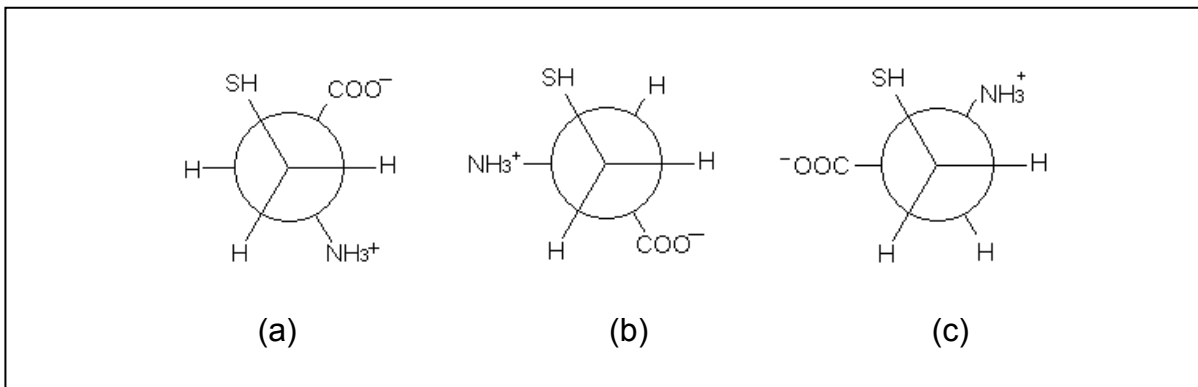
(b)

5.3.2 Detecção de L-cisteína por Espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS)

A descoberta da Espectroscopia Raman intensificada por superfície permitiu não só aumentar o limite de detecção da Espectroscopia Raman, mas também proporcionar um maior entendimento sobre a orientação e o mecanismo de interação das moléculas com a superfície dos substratos (CIALLA et al., 2012).

Jian e Fang (2007) estudaram o comportamento da adsorção de L-cisteína em solução coloidal de ouro e prata. A solução de L-cisteína foi preparada em água, e somente o grupo COO^- estava desprotonado na solução aquosa. Segundo os autores, em solução de coloide de ouro, as moléculas de L-cisteína são adsorvidas preferencialmente na conformação gauche (P_H), Figura 27. Esta conformação permite que todos os três grupos funcionais da L-cisteína contribuam para a adsorção no metal simultaneamente. Enquanto na conformação trans (P_N) e P_C somente dois grupos funcionais podem interagir simultaneamente com a superfície do metal.

Figura 27: Confôrmeros rotacionais da L-cisteína (a) P_N , (b) P_C e (c) P_H . (Adaptado de JIAN e FANG, 2007).



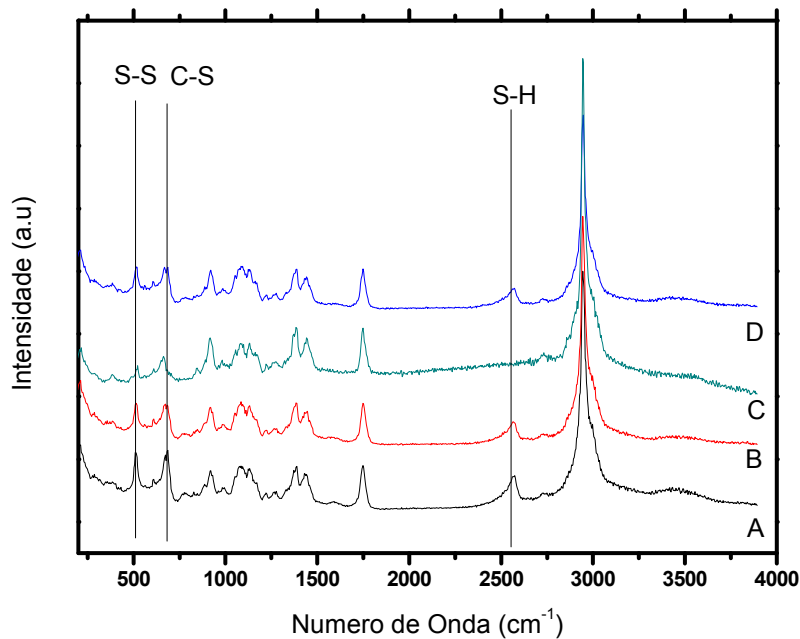
Em solução de coloide de prata, Jian e Fang (2007) não conseguiram obter o espectro SERS da L-cisteína. O espectro SERS apareceu somente após a adição de ânions cloreto na solução coloidal de prata. Nesse espectro SERS foi observado o aparecimento de uma banda em 513 cm^{-1} correspondente a ligação S-S, indicando a formação de moléculas de L-cistina (dipeptídeo da L-cisteína). Também foi observado o desaparecimento da banda em 2570 cm^{-1} , atribuído ao estiramento S-H. Portanto, provavelmente ambas as moléculas se ligam à superfície das nanopartículas de prata através dos grupos NH_3^+ e COO^- . Esta observação foi reforçada pela presença de uma intensa banda em 908 cm^{-1} e em 1395 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento de grupos C- COO^- e COO^- , respectivamente, o que indica que mais grupos COO^- estão situados próximos da superfície de prata. Uma evidência da interação entre o metal e o grupo amino foi a

intensificação da banda em 1033 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C-N, no espectro Raman está banda aparece em 1065 cm^{-1} e é muito fraca.

Posteriormente, Fleming e colaboradores (2008) estudaram o espectro Raman e SERS da L-cisteína na forma zwitteriônica, no estado sólido e em solução com concentração de 1 M, preparada em pH- 7,0, para investigar as mudanças relevantes no espectro SERS da L-cisteína. Algumas das observações foram: desaparecimento da banda S-H em 2558 cm^{-1} no espectro SERS da cisteína no estado sólido, substituição da banda em 513 cm^{-1} presente no espectro Raman atribuída ao dipeptídeo da L-cisteína, por duas bandas largas no espectro SERS em 524 e 474 cm^{-1} e intensificação da banda em 1402 cm^{-1} , atribuída a vibração COO^- . Segundo Fleming e colaboradores (2008), a intensificação desta banda é uma evidência da interação do grupo COO^- com a superfície de prata, sendo que o adsorvato interage com o metal provavelmente através do sistema π do grupo carboxilato. Esta geometria de absorção é ainda suportada por uma banda forte em 903 cm^{-1} atribuído ao estiramento C- COO^- e pela banda em 2928 cm^{-1} atribuído ao estiramento C-H. A intensificação da banda em 3158 cm^{-1} no espectro SERS da solução 1M foi atribuído ao estiramento NH_3^+ e pode ser considerada uma evidência da interação do grupo NH_3^+ com a prata, assim como a banda larga em 1058 cm^{-1} atribuído ao estiramento C α -N, apoia a interação do grupo amino com a superfície metálica.

No presente trabalho, a detecção de L-cisteína foi realizada em diferentes substratos. Os espectros SERS de L-cisteína para os substratos investigados estão representados na Figura 28.

Figura 28- Espectro SERS da L-cisteína para (A) Filme microporoso de triacetato de celulose + coloide de prata obtido utilizando o borohidreto de sódio como agente redutor + L-cisteína; (B) Filme Microporoso de triacetato de celulose + coloide de prata obtido utilizando o citrato de sódio como agente redutor + L-cisteína; (C) Filme de triacetato de celulose compacto + coloide de prata obtido utilizando o borohidreto de sódio como agente redutor + L-cisteína + (D) Filme Microporoso de triacetato de celulose + L-cisteína.



A solução coloidal de prata foi preparada pela redução de íons prata utilizando borohidreto de sódio e citrato de sódio como agente redutor. Os coloides de prata foram depositados sobre os filmes microporosos de triacetato de celulose, seguida da deposição da solução de L-cisteína 1 % (m/v). Como a solução de L-cisteína foi preparada em pH 1,0 todos os grupos funcionais presentes na molécula de L-cisteína estão protonados em solução.

A partir dos espectros da Figura 28, identificou-se as seguintes bandas: 515 cm^{-1} , correspondente ao estiramento da ligação dissulfeto S-S de dímeros da L-cisteína, 668 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C-S, 920 cm^{-1} atribuído a ligação H-C-N e H-C-H, 2560 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação S-H, e em 2950 cm^{-1} observam-se bandas sobrepostas resultantes da vibração das ligações C-H (BROLO et al, 2008).

Comparando os espectros SERS A, B, C e D da L-cisteína (Figura 28) é possível observar que no espectro C as bandas em 515 e 668 cm^{-1} estão menos intensas. Este resultado indica que os substratos constituídos pelos filmes microporosos de triacetato de celulose foram superiores ao substrato formado pelo filme compacto, possivelmente devido a maior rugosidade apresentada pelos filmes microporosos.

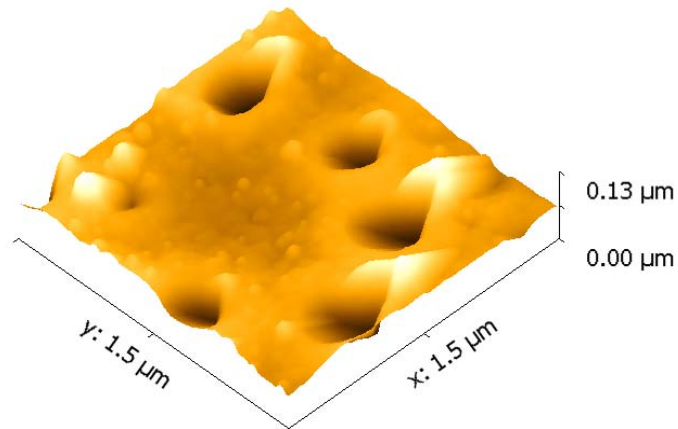
No entanto, comparando-se os espectros SERS da L-cisteína nos substratos A, B e D da Figura 28, não é possível identificar uma intensificação significativa das bandas características da L-cisteína. Além disso, os espectros não apresentaram as bandas descritas na literatura, que evidenciam a interação dos grupos carboxilato e amino com a prata. Isto indica que a metodologia empregada na preparação do coloide ou até mesmo na deposição de L-cisteína sobre os substratos não favoreceu a interação dos grupos SH, NH_3^+ e COO^- com a prata.

A interação entre as moléculas de interesse e as superfície metálicas depende de vários fatores, como o pH da solução e a disponibilidade de superfície do metal (CIALLA et al., 2014). Além disso, a agregação entre as partículas metálicas e a formação de estruturas na forma de bastonetes não apresenta atividade SERS significativa (SANTANA et al., 2006).

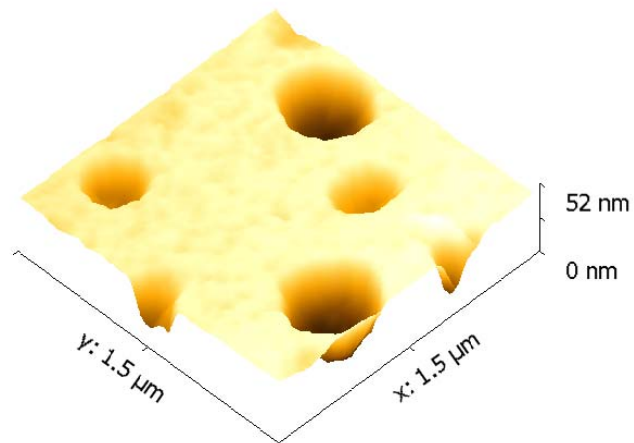
Observando as imagens de microscopia de força atômica dos filmes de triacetato de celulose, representados na Figura 24, e dos filmes de triacetato de celulose com coloide de prata preparado com borohidreto de sódio e citrato de sódio, Figura 29, é possível observar a existência de um material aglomerado sobre a superfície dos filmes microporosos, que não são observados nas imagens onde as nanopartículas de prata não foram depositadas (Figura 24). Estes aglomerados podem ser atribuídos ao coloide de prata. A aglomeração das nanopartículas de prata não é favorável para o efeito SERS, justificando a não intensificação do espectro da L-cisteína, como observado na Figura 28.

Figura 29- (a) Filme microporoso de triacetato de celulose + coloide de prata preparado com citrato de sódio como agente redutor. (b) Filme microporoso de triacetato de celulose + coloide de prata preparado com borohidreto de sódio como agente redutor.

(a)



(b)



Estes resultados sugerem que é necessário o estudo de outras metodologias de deposição da prata na superfície dos filmes, de modo que sua distribuição e dispersão possam ser controladas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Através das caracterizações realizadas para as amostras de madeira, celulose e acetatos de celulose, verificou-se que os processos de: deslignificação e branqueamento empregando o ácido peracético, a redução da massa molar por hidrólise ácida e a acetilação homogênea da celulose, para obtenção dos materiais acetilados foram efetivos.

Pela técnica de *spin coating* combinada ao *breath figure* foi possível produzir filmes microporosos de triacetato de celulose utilizando diclorometano e clorofórmio como solventes. Os poros apresentaram morfologia arredondada, com poros variando de 0,1 a 0,4 μm , dependendo das variáveis experimentais empregadas. Para a maioria dos filmes foi obtido uma alta densidade de poros em sua superfície, porém os poros apresentaram tamanhos e distribuição heterogênea. A ausência de regularidade se deve provavelmente a estrutura linear da cadeia polimérica do triacetato de celulose.

O estudo também revelou que os filmes preparados em diclorometano, com velocidade de rotação do *spin coater* de 1000 rpm, apresentaram uma maior densidade de poros do que os filmes preparados em clorofórmio, sob as mesmas condições experimentais. No entanto, filmes preparados em clorofórmio apresentaram alta densidade de poros quando a velocidade de rotação do *spin coater* foi de 3000 rpm. A concentração da solução polimérica e a massa molar do polímero tiveram efeito no tamanho dos poros. A diminuição da concentração da solução polimérica e o aumento da massa molar do polímero resultaram no aumento do diâmetro médio dos poros.

Este estudo avaliou ainda a aplicação do filme de triacetato de celulose, preparado com o polímero de menor massa molar, TAC MMR, em diclorometano, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação do *spin coater* de 1000 rpm, como substrato SERS ativo para detecção de L-cisteína. Os resultados revelaram que não houve uma significativa intensificação do sinal Raman, provavelmente devido a aglomeração das nanopartículas de prata na superfície dos filmes.

Este trabalho teve como diferencial a produção de uma grande densidade de microporos empregando um polímero com estrutura polimérica relativamente simples, que não é tão favorável para a estabilização das gotículas de

água quanto os polímeros altamente ramificados normalmente empregados na técnica *breath figure*. Ainda mais, sem o emprego de aditivos, adição de grupos terminais hidrofílicos e sem realizar modificações químicas na cadeia polimérica dos acetatos de celulose para aumentar o número de ramificações. Além disso, os acetatos de celulose foram produzidos a partir da celulose, um polímero natural e oriundo de fontes renováveis, através de uma síntese simples e de baixo custo. A partir do estudo do efeito do solvente, concentração da solução polimérica, massa molar do polímero e velocidade de rotação do *spin coater* na formação e morfologia dos poros produzidos pela técnica de *spin coater* combinada ao *breath figure*, é possível prever o aumento, a diminuição ou a densidade de poros e, portanto, permite a manipulação do tamanho e profundidade dos poros dos filmes de triacetato de celulose para futuras aplicações desejadas.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Produzir filmes nano ou microporosos através de outras técnicas de preparação, como a técnica de fluxo de ar, o método estático e a técnica *dip coating*.

Estudar o efeito do ambiente úmido constituído por vapor aquoso e por vapor orgânico (metanol e metanol/água) para a formação das estruturas porosas;

Trabalhar com polímeros de alta massa molar e com baixa poli dispersão para a obtenção de poros mais ordenados;

Adicionar surfactantes nas soluções poliméricas;

Realizar um estudo com mistura de solventes na formação de estruturas pela técnica *breath figure*;

Estudar outros métodos de deposição de nanopartículas de prata visando sua melhor distribuição.

REFERENCIAS

- Abdel-Halim, E.; Al-Deyab, S. Low temperature bleaching of cotton cellulose using peracetic acid. **Carbohydrate Polymers**, 86, 988– 994, 2011.
- Adamson, A.; Gast, A. Surface Films on Liquid Substrates. **Physical Chemistry of Surfaces**. 6ª edição, 1997, 111- 112.
- Aitken, J. Breath Figures. **Nature**, 86, 516–517, 1911.
- Akerholm, M.; Hinterstoisser, B.; Salmén, L. Characterization of the crystalline structure of cellulose using static and dynamic FT-IR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, 339, 569- 578, 2004.
- Bai, H.; Du, C.; Zhang, A.; Li, L. Breath figure arrays: unconventional fabrications, functionalizations, and applications. **Angew. Chem. Int.**, 52, 12240 – 12255, 2013.
- Bian, J.; Peng, F.; Peng, X.; Peng, P.; Xu, F.; Sun, R. Acetic acid enhanced purification of crude cellulose from sugarcane bagasse: structural and morphological characterization. **BioResources**, 7, 4626- 4639, 2012.
- Billon, L.; Manguian, M.; Pellerin, V.; Joubert, M.; Eterradosi, O.; Garay, H. Tailoring highly ordered honeycomb films based on ionomer macromolecules by the bottom-up approach. **Macromolecules**, 42, 345– 356, 2009.
- Boker, A.; Lin, Y.; Chiapperini, K.; Horowitz, R.; Thompson, M.; Carreon, V.; Xu, T.; Abetz, C.; Skaff, H.; Dinsmore, A.; Emrick, T.; Russell, T. Hierarchical nanoparticle assemblies formed by decorating breath figures. **Nature Materials**, 3, 302-306, 2004.
- Brasileiro, L.; Colodette, J.; Piló-Veloso, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Quim. Nova**, 24, 819-829, 2001.
- Brolo, A.; Germain, P.; Hager, G. Investigation of the adsorption of L-Cysteine on a polycrystalline silver electrode by Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) and Surface-Enhanced Second Harmonic Generation (SESHG). **J. Phys. Chem.**, 106, 5982-5987, 2002.
- Brown, P.; Talbot, E.; Wood, J.; Bain, C.; Badyal, J. Superhydrophobic hierarchical honeycomb surfaces. **Langmuir**, 28, 13712–13719, 2012.
- Bunz, U. Breath Figures as a dynamic templating method for polymers and nanomaterials. **Adv. Mater.**, 18, 973–989, 2006.
- Canevarolo, Jr. S. **Ciência dos Polímeros**. 2ª edição. São Paulo: Artliber Editora, 2002.
- Carlmark, A.; Larsson, E.; Malmstrom, E. Grafting of cellulose by ring-opening polymerisation – A review. **European Polymer Journal**, 48, 1646–1659, 2012.

Cerqueira, D.; Filho Rodrigues, G.; Carvalho, R.; Valente, A. Caracterização de acetato de celulose obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar por ^1H -RMN. **Polímeros**, 20, 85-91, 2010.

Chiu, Y.; Kuo, C.; Lin, C.; Chen, W. Highly ordered luminescent microporous films prepared from crystalline conjugated rod-coil diblock copolymers of PF-b-PSA and their superhydrophobic characteristics. **Soft Matter**, 7, 9350–9358, 2011.

Chumanov, G.; Efremov, R.; Nabiev, I. Surface-enhanced Raman spectroscopy of biomolecules. Part I.—water-soluble proteins, dipeptides and amino acids. **Journal of Raman Spectroscopy**, 21, 43-48, 1990.

Cialla, D.; März, A.; Böhme, R.; Theil, F.; Weber, K.; Schmitt, M.; Popp, J. Surface-Enhanced Raman spectroscopy (SERS): progress and trends. **Anal Bioanal Chem.**, 403, 27-54, 2012.

Cialla, D.; Pollok, S.; Steinbrucker, C.; Weber, K.; Popp, J. SERS-based detection of biomolecules. **Nanophotonics** 3, 383–411, 2014.

Creighton, A.; Blatchford, G.; Albrecht, G. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. **J. Chem. Soc., Faraday Trans.**, 75, 790-798, 1979.

Cruz, A.; Meireles, C.; Ribeiro, S.; Filho, G.; Assunção, R.; Cerqueira, D.; Zeni, M.; Polleto, P. Utilização do acetato de celulose produzido a partir da celulose extraída do caroço de manga como matriz para produção de sistemas microparticulados **Quim. Nova**, 34, 385-389, 2011.

Ding, J.; Zhang, A.; Bai, H.; Li, L.; Lia, J.; Ma, Z. Breath figure in non-aqueous vapor. **Soft Matter**, 9, 506 - 514, 2013.

Dou, Y.; Jin, M.; Zhou, G.; Shui, L. Breath Figure Method for Construction of Honeycomb Films. **Membranes**, 5, 399 - 424, 2015.

Escalé, P.; Rubatat, L.; Billon, L.; Save M. Recent advances in honeycomb-structured porous polymer films prepared via breath figures. **European Polymer Journal**, 48, 1001- 1025, 2012.

Escalé, P.; Save, M.; Billon, L.; Ruokolainen, J.; Rubatat, L. When block copolymer self-assembly in hierarchically ordered honeycomb films depicts the breath figure process. **Soft Matter**, 12, 790-796, 2016.

Escalé, P.; Van Camp, W.; Du Prez, F.; Rubatat, L.; Billon, L.; Save, M. Highly structured pH-responsive honeycomb films by a combination of a breath figure process and in situ thermolysis of a polystyrene-block-poly(ethoxy ethyl acrylate) precursor. **Polym. Chem.**, 4, 4710–4717, 2013.

Fan, M.; Dai, D.; Huang, B. Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Natural Fibres, **Fourier Transform - Materials Analysis**, Dr Salih Salih (Ed.), 45- 68, 2012.

Faria, D.; Temperini, M.; Sala, O. Vinte anos de efeito SERS. **Quím. Nova**, 22, 541-552, 1999.

Faria-Tischer, P.; Tischer, C.; Heux, L.; Le Denmat, S.; Picart, C.; Sierakowski, M.; Putaux, J. Preparation of cellulose II and III films by allomorphic conversion of bacterial cellulose I pellicles. **Materials Science & Engineering**, 51, 167-173, 2015.

Faria-Tischer, P.; Westfhal Jr, H.; Sierakowski, M.; Tischer, C. Nanostructural reorganization of bacterial cellulose by ultrasonic treatment. **Biomacromolecules**, 5, 1217- 1224, 2010.

Ferrari, E.; Fabbri, P.; Pilati, F. Solvent and substrate contributions to the formation of Breath Figure patterns in polystyrene films. **Langmuir**, 27, 1874–1881, 2011.

Ferreira, V.; Rocha, D.; Silva, F.; Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, 32, 623-638, 2009.

Fierro, S.; Comninellis, C. Kinetic study of formic acid oxidation on Ti/IrO₂ electrodes prepared using the spin coating deposition technique. **Electrochimica Acta**, 55, 7067–7073, 2010.

Filho, G.; Monteiro, D.; Meireles, C.; Assunção, R.; Cerqueira, D.; Barud, H.; Ribeiro, S.; Messadeq, Y. Synthesis and characterization of cellulose acetate produced from recycled newspaper. **Carbohydrate Polymers**, 73, 74-82, 2008.

Fleischmann, M.; Hendra, P.; McQuillan, A. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. **Chem. Phys. Lett.**, 26, 163- 166, 1974.

Fleming, G.; Finnerty, J.; Campos-Vallete, M.; Célis, F.; Aliaga, A.; Fredes, C.; Koch, R. Experimental and theoretical Raman and surface-enhanced Raman scattering study of cysteine. **J. Raman Spectrosc.**, 40, 632–638, 2009.

Fragal, V. **Desenvolvimento de filmes micro e nanoporosos de poliestireno utilizando o método “Breath Figure” aplicação como scaffolds em cultura celular**. Dissertação. Mestrado em Química. UEM, Maringá. 2013.

Gao, J.; Wu, W.; Rong, L.; Mao, G.; Ning, Y.; Zhao, Q.; Huang, J.; Ma, Z. Well-defined monocarboxyl-terminated polystyrene with low molecular weight: A candidate for the fabrication of highly ordered microporous films and microspheres via a static breath-figure process. **European Polymer Journal**, 59, 171–179, 2014.

Haraguchi, S.; Silva, A.; Tenório-Neto, E.; Carvalho, G.; Muniz, E.; Rubira, A. Glycerol-derived polyurethane nanocomposites containing cellulose nanowhiskers. **Acta Scientiarum. Technology**, 35, 747-755, 2013.

He, J.; Kunitake, T.; Nakao, A. Facile in situ synthesis of noble metal nanoparticles in porous cellulose films. **Chem Mater**. 15, 2201-4406, 2003.

Heng, L.; Wang, B.; Li, M.; Zhang, Y.; Jiang, L. Advances in Fabrication Materials of Honeycomb Structure Films by the Breath-Figure Method. **Materials**, 6, 461- 482, 2013.

Hernandez-Guerrero, M.; Stenzel, M. Honeycomb structured polymer films via breath figures. **Polym. Chem.**, 3, 563-577, 2012.

Jebrane, M.; Pichavant, F.; Sèbe, G. A comparative study on the acetylation of wood by reaction with vinyl acetate and acetic anhydride. **Carbohydrate Polymers**, 83, 339–345, 2011.

Jiang, X.; Zhou, X.; Zhang, Y.; Zhang, T.; Guo, Z.; Gu, N. Interfacial effects of in situ-synthesized Ag nanoparticles on Breath Figures. **Langmuir**, 26, 2477–2483, 2010.

Jing, C.; Fang, Y. Experimental (SERS) and theoretical (DFT) studies on the adsorption behaviors of L-cysteine on gold/silver nanoparticles. **Chemical Physics**, 332, 27-32, 2007.

Johar, N.; Ahmad, I.; Dufresne, A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. **Industrial Crops and Products**, 37, 93– 99, 2012.

Kasai, W., Kondo, T. Fabrication of Honeycomb-Patterned Cellulose Films. **Macromol. Biosci.**, 4, 17-21, 2004.

Kawano, T.; Nakamichi, Y.; Fujinami, S.; Nakajima, K.; Yabu, H.; Shimomura, M. Mechanical regulation of cellular adhesion onto Honeycomb-Patterned porous scaffolds by altering the elasticity of material surfaces. **Biomacromolecules**, 14, 1208–1213, 2013.

Kim, K.; Basavaraja, C.; Huh, D. Homogeneously dispersed silver nanoparticles on the Honeycomb-Patterned poly(N-vinylcarbazole)-cellulose triacetate composite thin films by the photoreduction of silver nitrate, **Bul. Korean Chem. Soc.**, 34, 5, 1391-1396, 2013.

Kim, S.; Kim, M.; Suh, S. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) of aromatic amino acids and their glycylyl dipeptides in silver sol. **Journal of Raman Spectroscopy**, 18, 171-175, 1987.

Klemm, D.; Kramer, F.; Moritz, S.; Lindstrom, T.; Ankerfors, M.; Gray, D.; Doris, A. (2011) Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. **Angewandte Chemie**, 50, 5438–5466, 2011.

Knaus, S.; Bauer-Heim, B. Synthesis and properties of anionic cellulose ethers: influence of functional groups and molecular weight on flowability of concrete. **Carbohydrate Polymers**, 53, 383–394, 2003.

Lawrence, W.; McKelvey, R.; Johnson, D. The peroxyacetic acid oxidation of a lignin-related b-aryl ether. **Svensk Papperstidn**, 83, 11–18, 1980.

Lee, P.; Meisel, D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. **J. Phys. Chem.**, 86, 3391–3395, 1982.

Li, J.; Zhao, L.; Chen, Z.; Li, L.; Huang, J.; Ma, Z.; Zhong, Y. Highly ordered microporous films containing a polyolefin segment fabricated by the breath-figure method using well-defined polymethylene-b-polystyrene copolymers. **Polym. Chem.**, 1, 164–167, 2010.

Li, X.; Zhao, Q.; Xu, T.; Huang, J.; Wei, L.; Ma, Z. Highly ordered microporous polystyrene-b-poly(acrylic acid) films: Study on the influencing factors in their fabrication via a static breath-figure method. **European Polymer Journal**, 50, 135–141, 2014.

Lide, D. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**, Internet Version, 2005.

Lim, B.; Suh, M. Simple fabrication of a three-dimensional porous polymer film as a diffuser for organic light emitting diodes. **Nanoscale**, 6, 14446–14452, 2014.

Lima, G.; Sierakowski, M.; Faria-Tischer, P.; Tischer, C. Characterisation of bacterial cellulose partly acetylated by dimethylacetamide/lithium chloride. **Materials Science & Engineering**, v. 31, p. 190–197, 2011.

Limaye, A.; Narhe, R.; Dhote, A.; Ogale, S. Evidence for convective effects in breath figure formation on volatile fluid surfaces. **Phys. Rev. Lett.**, 76, 3762–3765, 1996.

Liu, C.; Lang, W.; Shi, B.; Guo, Y. Fabrication of ordered honeycomb porous polyvinylchloride (PVC) films by breath figures method. **Materials Letters**, 107, 53–55, 2013.

Liu, Z.; Fan, X.; Wu, J.; Zhang, L.; Song, L.; Gao, Z.; Dong, W.; Xiong, H.; Peng, Y.; Tang, S. A green route to prepare cellulose acetate particle from ramie fiber. **Reactive & Functional Polymers**, 67, 104–112, 2007.

Ma, H.; Gao, P.; Zhang, Y.; Fan, D.; Li, G.; Du, B.; Wei, Q. Engineering microstructured porous films for multiple applications via mussel-inspired surface coating. **RSC Adv.**, 3, 25291–25295, 2013.

Mansouri, J.; Yapit, E.; Chen, V. Polysulfone filtration membranes with isoporous structures prepared by a combination of dip-coating and breath figure approach. **Journal of Membrane Science**, 44, 237–251, 2013.

Maruyama, N.; Koito, T.; Nishida, J.; Sawadaishi, T.; Cieren, X.; Kjiro, K.; Karthaus, O.; Shimomura, M. Mesoscopic patterns of molecular aggregates on solid substrates. **Thin Solid Films**, 327, 854, 1998.

Meiland, M.; Liebert, T.; Heinze, T. Tailoring the Degree of Polymerization of Low Molecular Weight Cellulose **Macromol. Mater. Eng.**, 296, 802–809, 2011.

Meireles, C.; Filho Rodrigues, G.; Jr. Ferreira, M.; Cerqueira, D.; Assunção, R.; Ribeiro, E.; Poletto, P.; Zeni, M. Characterization of asymmetric membranes of

cellulose acetate from biomass: Newspaper and mango seed. **Carbohydrate Polymers**, 80, 954-961, 2010.

Melo, M.; Santos, L.; Gonçalves, M.; Nogueira, A. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: Um método simples para introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Quim. Nova**, 35, 1872-1878, 2012.

Merci, A.; Urbano, A.; Grossmann, M.; Tischer, C.; Mali, Suzana. Properties of microcrystalline cellulose extracted from soybean hulls by reactive extrusion. **Food Research International**, 1, 38-43, 2015.

Naboka, O.; Velasco, A.; Lundgren, P.; Enoksson, P.; Gatenholm, P. Cobalt (II) chloride promoted formation of honeycomb patterned cellulose acetate films. **Journal of Colloid and Interface Science**, 367, 485, 2012.

Nascimento, F.; Carneiro, C.; Santana, H.; Zaia, D. The effect of artificial seawater on SERS spectra of amino acids-Ag colloids: An experiment of prebiotic chemistry. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 118, 251-259, 2014.

Nepomnyashchy, A.; Golovin, A.; Tikhomirova, A.; Volpert, V. Nucleation and growth of droplets at a liquid-gas interface. **Phys. Rev. E**, 74, 021605, 2006.

Novo, L. **Determinação da relação dos parâmetros de solubilidade de Hansen de solventes orgânicos com a deslignificação organossolve de bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação. Mestrado em Química. Universidade de São Paulo, São Carlos. 2012.

Ou, Y.; Wang, L.; Zhu, L.; Wan, L.; Xu, Z. In-Situ immobilization of silver nanoparticles on self-Assembled honeycomb-patterned films enables Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) substrates. **J. Phys. Chem.**, 118, 11478-11484, 2014.

Paudel, A.; Rajjada, D.; Rantanen, J. Raman spectroscopy in pharmaceutical product design. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 89, 3-20, 2015.

Pinto, B.; Calloni, G.; Silva, S. Obtenção de acetato de celulose a partir da casca de arroz **Revista Liberato**, 14, 01-112, 2013.

Pitois, O.; François, B. Formation of ordered micro-porous membranes. **Eur. Phys. J. B.**, 8, 225-231, 1999.

Pokki, J.; Ergeneman, O.; Sivaraman, K.; Ozkale, B.; Zeeshan, M.; Luhmann, T.; Nelson, B.; Pané, S. Electroplated porous polypyrrole nanostructures patterned by colloidal lithography for drug-delivery applications. **Nanoscale**, 4, 3083- 3088, 2012.

Ponnusamy, T.; Lawson, L.; Freytag, L.; Blake, D.; Ayyala, R.; John, V. In vitro degradation and release characteristics of spin coated thin films of PLGA with a "breath figure" morphology. **Biomatter**, 2, 77-86, 2012.

Rayleigh, L. Breath figures. **Nature**, 86, 416–417, 1911.

Ribeiro, D. **Desenvolvimento de metodologias analíticas multivariadas empregando espectroscopia Raman de baixa resolução amplificada por superfície**. Tese. Doutorado em Ciências. Unicamp, Campinas, 2009.

Ribeiro, E.; Filho, G.; Vieira, J.; Sousa, R.; Assunção, R.; Meireles, C.; Duarte, J.; Zeni, M. Caracterização de membranas assimétricas de acetato de celulose produzidas a partir do aproveitamento do resíduo da palha de milho para uso em ultrafiltração. **Quím. Nova**, 37,385-391, 2014.

Santana, H.; Zaia, D.; Corio, P.; Haber, F.; Louarn, G. Preparação e caracterização de substratos SERS ativos: um estudo da adsorção do cristal violeta sobre nanopartículas de prata. **Quim. Nova**, 2, 194-199, 2006.

Sassi, J.; Chanzy, H. Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose. **Cellulose**, 2, 111-127, 1995.

Saunders, A.; Shah, P.; Sigman, M.; Hanrath, T.; Hwang, H.; Lim, K.; Johnston, K.; Korgel, B. Inverse opal nanocrystal superlattice films. **Nano Lett.**, 4, 1943–1948, 2004.

Servoli, E.; Ruffo, G.; Migliaresi, C. Interplay of kinetics and interfacial interactions in breath figure templating – a phenomenological interpretation. **Polymer**, 51, 2337–2344, 2010.

Shaikh, H.; Pandare, K.; Greeshma, N.; Varma, A. Utilization of sugarcane bagasse cellulose for producing cellulose acetates: Novel use of residual hemicellulose as plasticizer. **Carbohydrate Polymers**, 76, 23-29, 2009.

Sharma V.; Song, L.; Jones, R.; Barrow, M.; Williams, R.; Srinivasarao, M. Effect of solvent choice on breath-figure-templated assembly of “holey” polymer films. **EPL**, 91, 38001-1 – 38001-6, 2010.

Solomon, O.; Ciutã, Z. Anomalie de la viscosite des solutions de polyisoprene cis-1,4 a de faibles concentrations. **Journal of Applied Polymer Science**, 6, S59–S61, 1962.

Srinivasarao, M.; Collings, D.; Philips, A.; Patel, S. Three-Dimensionally Ordered Array of Air Bubbles in a Polymer Film. **Science**, 292, 79-83, 2001.

Steinmeir, H. Chemistry of cellulose acetylation. **Macromolecular**, 208, 49-60, 2004.

Stenzel, M.; Kowolik, B.; Davis, T. Formation of honeycomb-structured, porous films via Breath Figures with different polymer architectures. **Polymer Chemistry**, 44, 2363-2375, 2006.

Steyer, A.; Guenoun, P.; Beysens, D.; Knobler, C. Two-dimensional ordering during droplet growth on a liquid surface. **Physical Review B**, 1, 1086-1089, 1990.

Tian, J.; Wang, J.; Zhao, S.; Jiang, C.; Zhang, X.; Wang, X. Hydrolysis of cellulose by heteropoly acid $H_3PW_{12}O_{40}$. **Cellulose**, 17, 587-594, 2010.

Tian, Y.; Jiao, Q.; Ding, H.; Shi, Y.; Liu, B. The formation of honeycomb structure in polyphenylene oxide films. **Polymer**, 47, 3866–3873, 2006.

Tripathi, B.; Pandey, P. Breath figure templating for fabrication of polysulfone microporous membranes with highly ordered mono dispersed porosity. **Journal of Membrane Science**, 471, 201–210, 2014.

Vieira, R.; Filho, G.; Assunção, R.; Meireles, C.; Vieira, J.; Oliveira, G. Synthesis and characterization of methylcellulose from sugar cane bagasse cellulose. **Carbohydrate Polymers**, 67, 182-189, 2007.

Wan, L.; Zhu, L.; Ou, Y.; Xu, Z. Multiple interfaces in self-assembled breath figures. **Chem. Commun**, 50, 4024–4039, 2014.

Wan, L.; Li, J.; Ke, B.; Xu, Z. Ordered microporous membranes templated by breath figures for size-selective separation. **J. Am. Chem.Soc**, 134, 95 – 98, 2012.

Widawski, G.; Rawiso, M.; Francois, B. Self-organized honeycomb morphology of star-polymer polystyrene films. **Nature**, 369, 387–389, 1994.

Xiang, Q.; Lee, Y.; Pettersson, P.; Torget, R. Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of alpha-cellulose. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, 107, 505-514, 2003.

Xiao, Z.; Na, Q.; Zhai, S.; Kim, D. Novel 2D periodic arrays of carbon microholes by nanosphere lithography. **Materials Letters**, 111, 71–74, 2013.

Xiaojuan, Y.; Huaimin, G.; Jiwei, W. Surface-enhanced Raman spectrum of Gly-Gly adsorbed on the silver colloidal surface. **J. Mol. Struct.**, 977, 56–61, 2010.

Xiong, X.; Lim, M.; Zou, W. Honeycomb structured porous films prepared by the method of Breath Figure: history and development. **Current Organic Chemistry**, 15, 3706-3718, 2011.

Xu, W.; Zhang, X.; Kadla, J. Design of functionalized cellulosic honeycomb films: Site-specific biomolecule modification via “Click Chemistry”. **Biomacromolecules**, 13, 350–357, 2012.

Yao, B.; Zhu, Q.; Yao, L.; Hao, J. Fabrication of honeycombstructured poly(ethylene glycol)-block-poly(lactic acid) porous films and biomedical applications for cell growth. **Appl. Surf. Sci.**, 332, 287–294, 2015.

Zhai, S.; Hu, E.; Zhi, Y.; Shen, Q. Fabrication of highly ordered porous superhydrophobic polystyrene films by electric breath figure and surface chemical modification. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, 469, 294–299, 2015.

Zhang, A.; Bai, H.; Li, L. Breath figure: A nature-inspired preparation method for ordered porous films. **Chemical Reviews**, 115, 9801-9868, 2015.

Zhang, A.; Du, C.; Bai, H.; Wang, Y.; Wang, J.; Li, L. Formation of breath figure arrays in methanol vapor assisted by surface active agents. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, 6, 8921-8927, 2014.

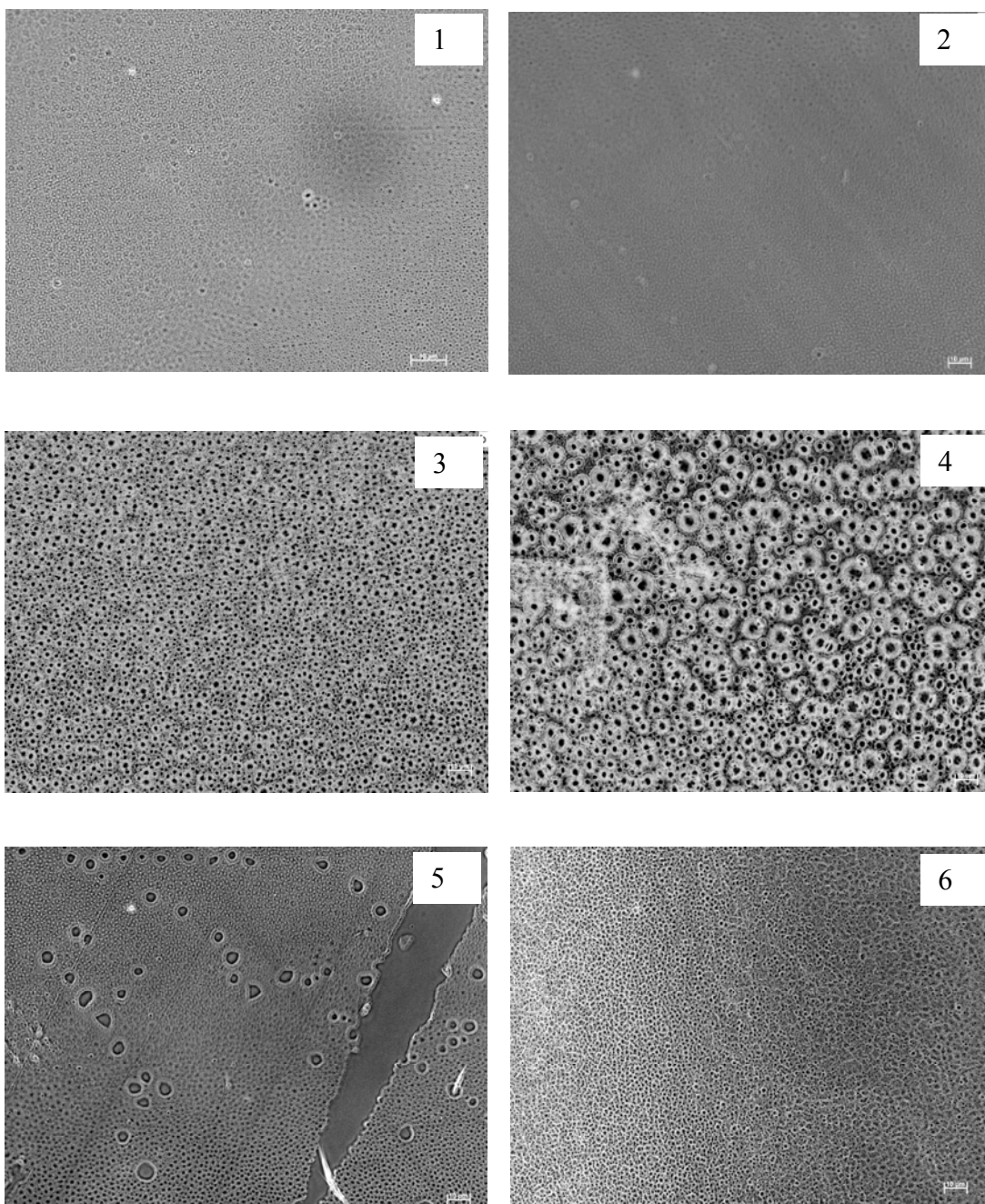
Zhang, Z.; Hughes, T.; Gurr, P.; Blencowe, A.; Uddin, H.; Hao, X.; Qiao, G. The behaviour of honeycomb film formation from star polymers with various fluorine content. **Polymer**, 54, 4446-4454, 2013.

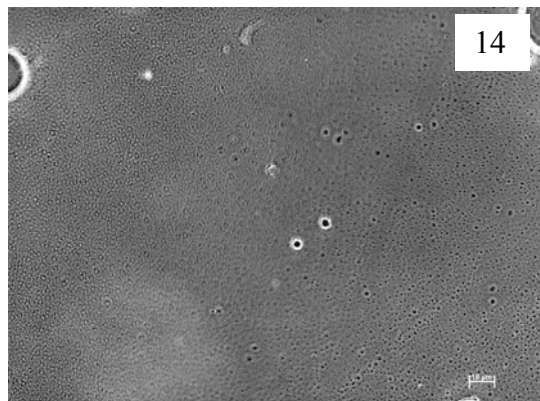
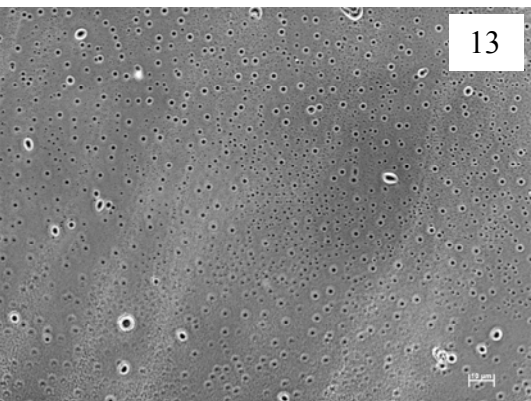
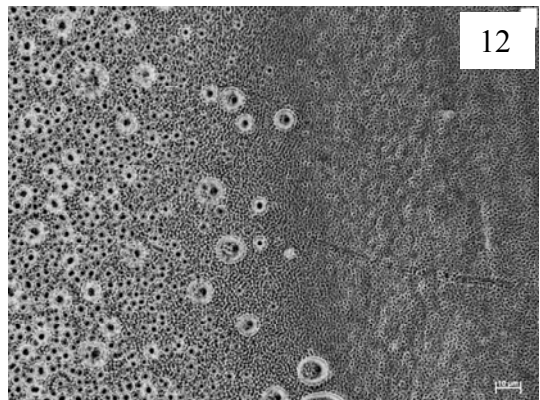
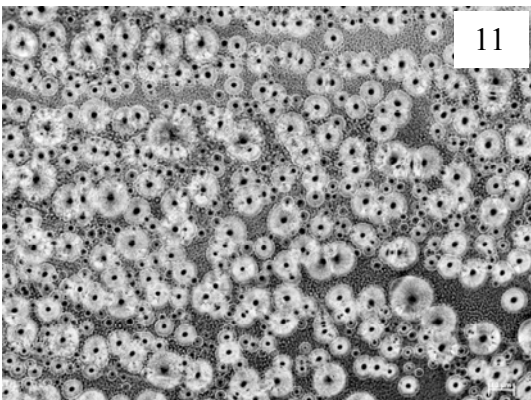
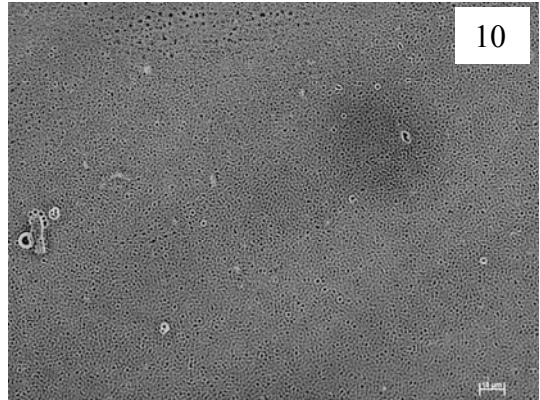
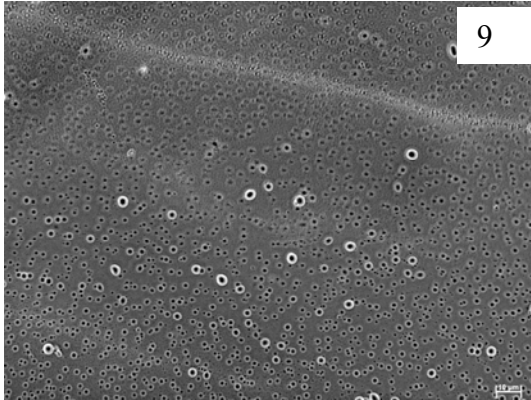
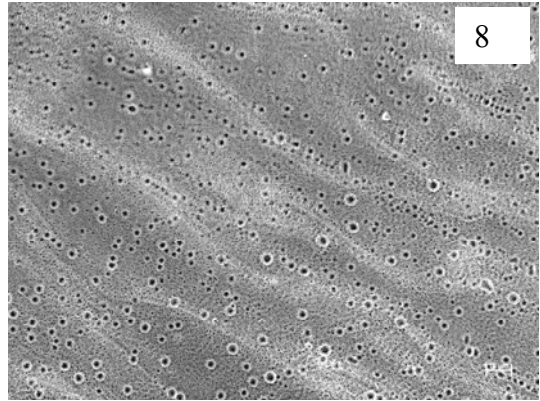
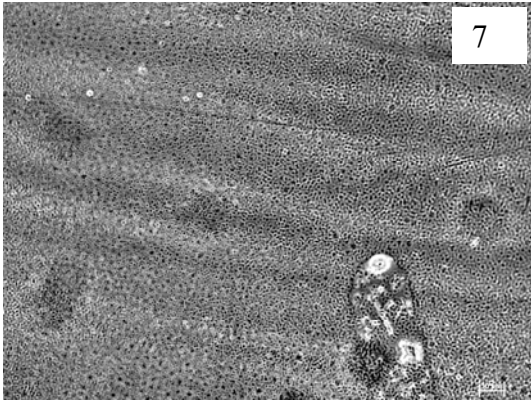
Zheng, Y.; Kubowaki, Y.; Kashiwagi, M.; Miyazaki, K. Process optimization of preparing honeycomb-patterned polystyrene films by breath figure method. **Journal of Mechanical Science and Technology**, 25, 33-36, 2011.

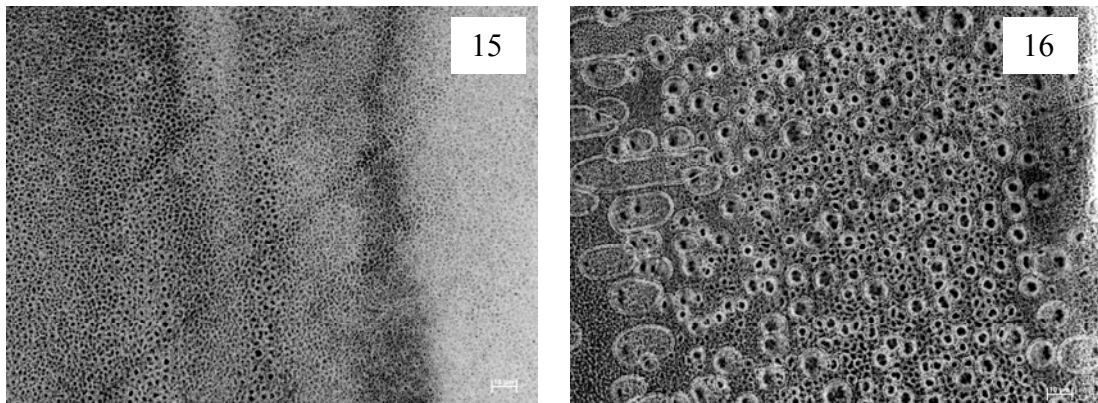
Zhu, L.; Yang, W.; Wan, L.; Xu, Z. Synthesis of core cross-linked star polystyrene with functional end groups and self-assemblies templated by breath figures. **Polym. Chem.**, 5, 5175-5182, 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A

IMAGENS DE MICROSCOPIA ÓTICA DOS FILMES MICROPOROSOS DE
TRIA CETATO DE CELULOSE





Amostra 1- Triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparado em clorofórmio, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 2- Triacetato de celulose (TAC) preparado em clorofórmio, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 3- Triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparado em diclorometano, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 4- Triacetato de celulose (TAC) preparado em diclorometano, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 5- Triacetato de celulose de massa molar rededuzida (TAC MMR) preparado em clorofórmio, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

Amostra 6- Triacetato de celulose (TAC) preparado em clorofórmio, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

Amostra 7- Triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparado em diclorometano, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

Amostra 8- Triacetato de celulose (TAC) preparado em diclorometano, com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

Amostra 9 - Triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparado

em clorofórmio, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 10 - Triacetato de celulose (TAC) preparado em clorofórmio, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 11 - Triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparado em diclorometano, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 12 - Triacetato de celulose (TAC) preparado em diclorometano, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

Amostra 13 - Triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparado em clorofórmio, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

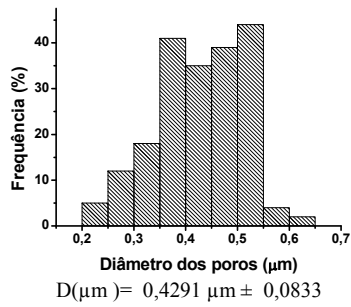
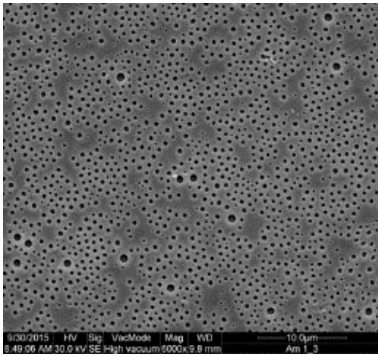
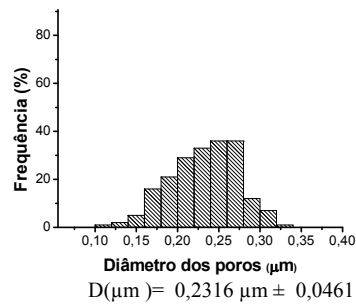
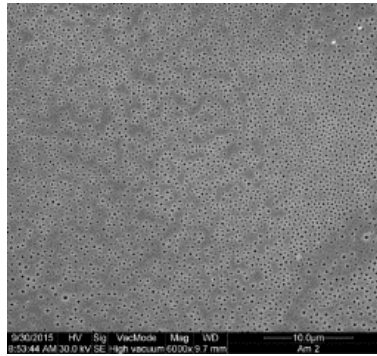
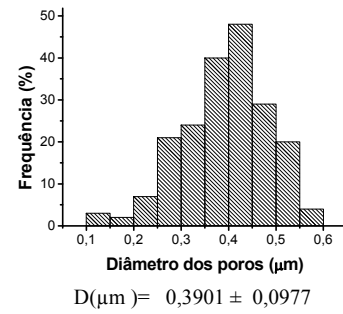
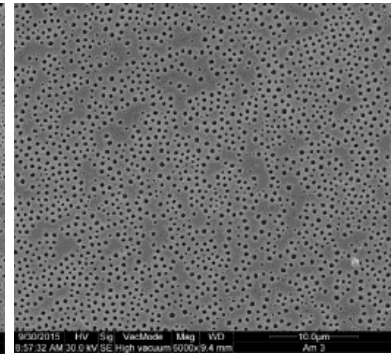
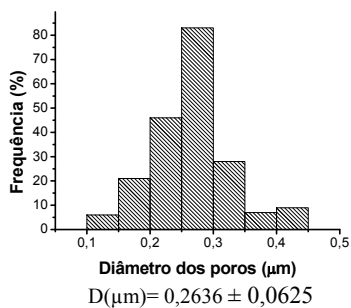
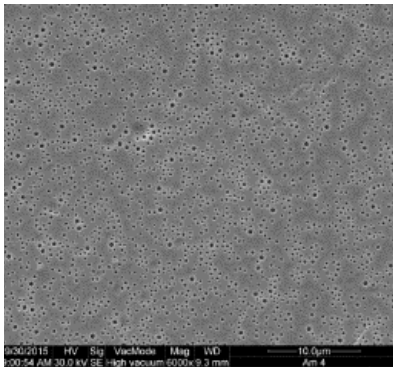
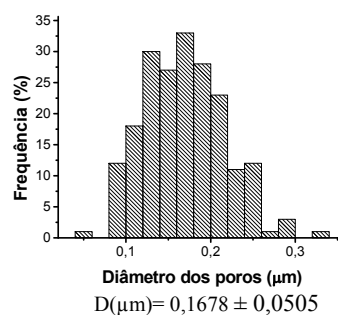
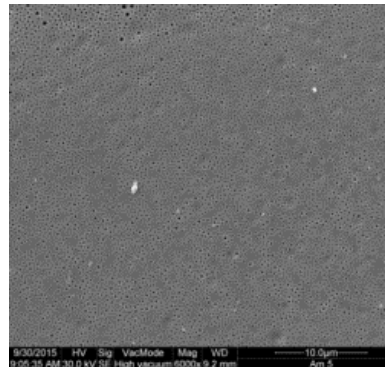
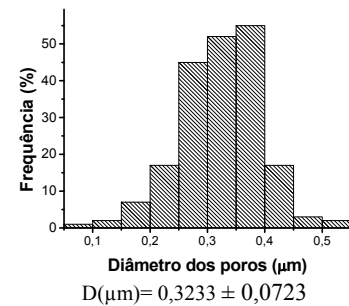
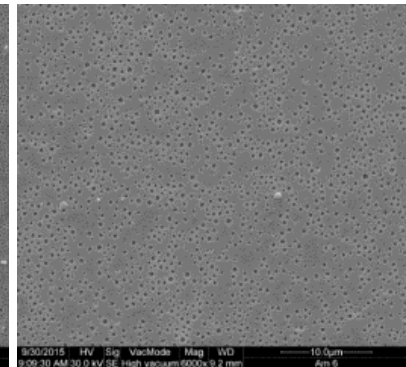
Amostra 14 - Triacetato de celulose (TAC) preparado em clorofórmio, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

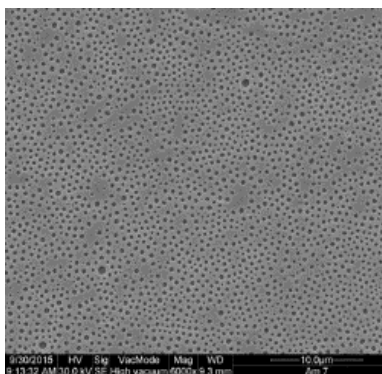
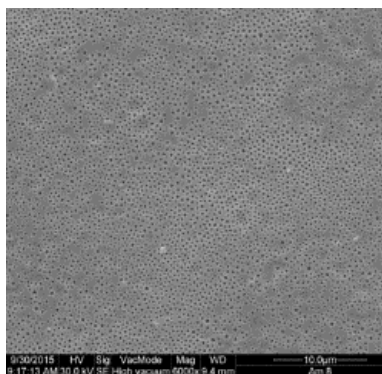
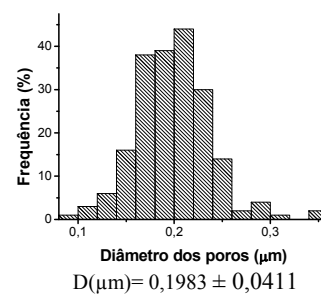
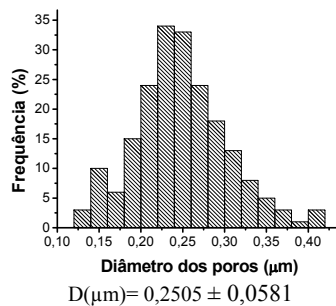
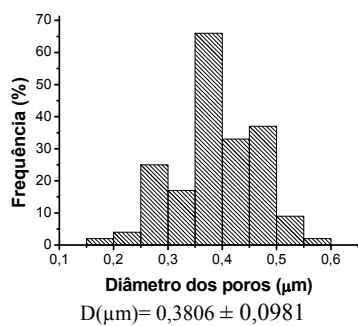
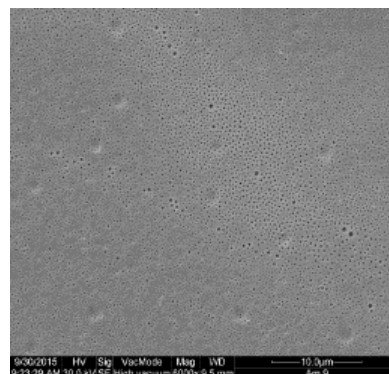
Amostra 15 - Triacetato de celulose massa molar reduzida (TAC MMR) preparado em diclorometano, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

Amostra 16 - Triacetato de celulose (TAC) preparado em diclorometano, com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 3000 rpm.

APÊNDICE B

IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS FILMES MICROPOROSOS DE TRIACETATO DE CELULOSE

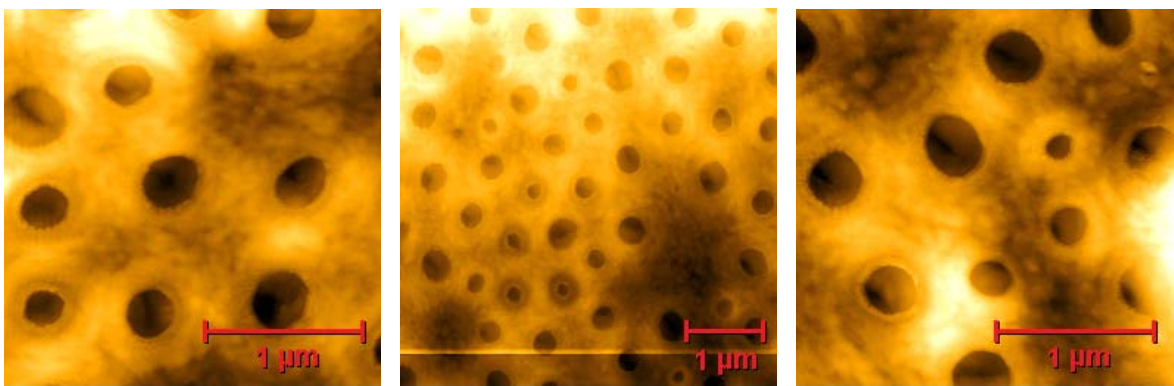
(a) 3% TAC MMR- CH₂Cl₂- 1000rpm(b) 5% TAC MMR- CH₂Cl₂- 1000rpm(c) 5% TAC CH₂Cl₂- 1000rpm(d) 3% TACMMR CHCl₃ 1000rpm(e) 5% TACMMR CHCl₃ 1000rpm(f) 5% TAC CHCl₃ 1000rpm

(g) 3% TACMMR CHCl_3 3000rpm(h) 3% TAC CHCl_3 3000rpm(i) 5% TAC MMR CHCl_3 3000rpm

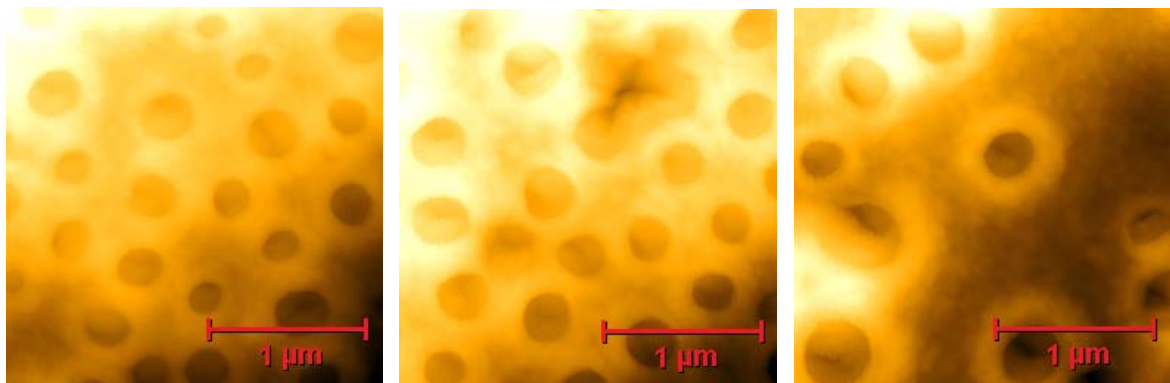
APÊNDICE C

IMAGENS DE MICROSCOPIA FORÇA ATÔMICA DOS FILMES MICROPOROSOS DE TRIACETATO DE CELULOSE

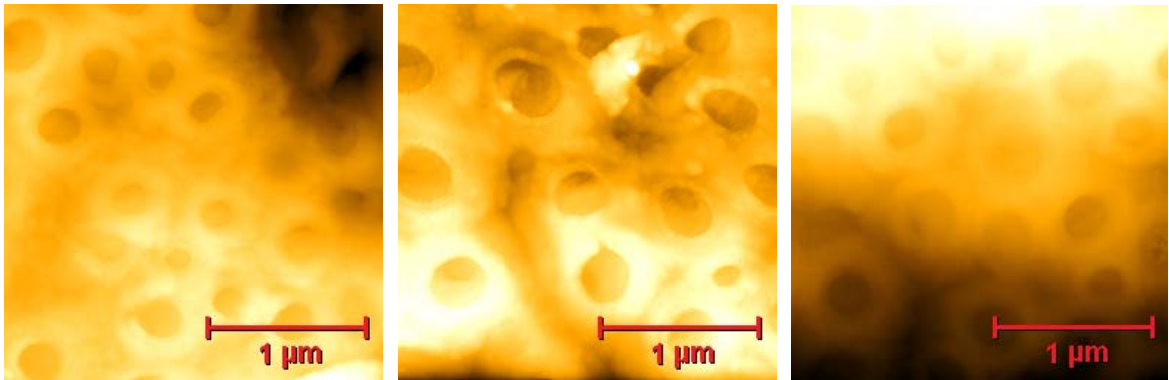
- a) Filmes de triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparados em CH_2Cl_2 com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.



- b) Filmes de triacetato de celulose de massa molar reduzida (TAC MMR) preparados em CH_2Cl_2 com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.



- c) Filmes de triacetato de celulose (TAC) preparados em CH_2Cl_2 com concentração de 5% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.



- d) Filmes de triacetato de celulose (TAC MMR) preparados em CHCl_3 com concentração de 3% (m/v) e velocidade de rotação de 1000 rpm.

