

CAIO ZUCCOLAN CARVAS

**Modificação Superficial de Biomaterial
Carbonoso Sustentável**

São Paulo
2019

CAIO ZUCCOLAN CARVAS

Modificação Superficial de Biomaterial Carbonoso Sustentável

Trabalho de Formatura apresentado à
Escola Politécnica da Universidade de
São Paulo.

Área de concentração:
Engenharia de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Frederico
Bernardo Lenz e Silva
Coorientador: Dra. Gisele Aparecida
Amaral-Labat.

São Paulo
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catalogação-na-publicação

Carvas, Caio
Modificação Superficial de Biomaterial Carbonoso Sustentável / C.
Carvas -- São Paulo, 2019.
174 p.

Trabalho de Formatura - Escola Politécnica da Universidade de
São Paulo. Departamento de Engenharia Metalúrgica e de
Materiais.

1.Biomaterial 2.Espuma 3.Licor negro 4.Quitosana 5.Modificação
Superficial I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica.
Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais II.t.

Dedico o presente trabalho a minha família,
a qual proporcionou todos os meios
para que este fosse realizado.

Dedico esse estudo especialmente a meu falecido pai,
engenheiro mecânico, meu herói e inspiração.

AGRADECIMENTOS

Sou extensamente grato ao Prof. Dr. Guilherme Frederico Bernardo Lenz e Silva, meu orientador, pela disposição, conselhos e incentivo a prosseguir com convicção projetos e planos de vida.

Sou profundamente grato, também, Profa. Dra. Gisele Aparecida Amaral-Labat, minha co-orientadora, a qual sempre me incentivou a prosseguir na área de estudo em que este estudo se encontra, além de me dar conselhos valiosos.

Agradeço imensamente, também, a todos do LM²C², Patrícia de Almeida Mattos, Vitor Bindo e Danyela Cardoso, os quais me ampararam em diversos momentos para me auxiliarem em experimentos e com equipamentos de comportamento suspeito.

Sou intensamente grato a minha família, Américo Rosa Carvas, Rosely Olbera Zuccolan Carvas e Karine Zuccolan Carvas, que procuraram sempre me escorar e permitir que pudesse me aplicar o melhor que pudesse em feitos importantes à vida.

Agradeço intensamente a meus amigos muito queridos Luiza de Brito Fantin e Sandro Francisco Alves Junior, os quais sempre me incentivaram a dar o meu melhor de mim, além de me ampararem sempre quando necessário.

Sou sinceramente grato a meus colegas do Instituto de Pesquisas Tecnológicas, IPT, Kleber Lanigra Guimarães, Denivaldo Ribeiro Mota e Natanael da Rocha dos Santos, os quais me aconselharam e permitiram a realização de experimentos necessários para a realização do estudo em questão.

RESUMO

Em vista de se criar uma alternativa à duas problemáticas significativas em um futuro próximo, o excesso na geração de licor negro e um aumento na demanda por tratamentos vinculados a enfermidades ósseas, o estudo em questão objetivou desenvolver um novo biomaterial. Para tanto, lignina presente no resíduo industrial foi diretamente aplicada como matéria-prima para produção de resina fenol-formaldeído. Tal polímero foi usado como precursor de espuma carbonosa, a qual, após extração de sais provindos de indústria papeleira via soxhlet e tratamentos de oxidação por ácido nítrico e adesão de quitosana, foi avaliada. Os testes desenvolvidos objetivaram caracterizar o material de acordo com suas propriedades físico-químicas e biológicas, realizando-se, assim, avaliação por microscopia eletrônica, espectroscopia de raios X por dispersão em energia, ou EDS, calorimetria diferencial de varredura, ou DSC, para a primeira classe de características. A avaliação biológica, por sua vez, foi desenvolvida tendo-se em vista identificar-se a influência do biomaterial nas atividades metabólicas celulares – citotoxicidade – e na capacidade de reprodução dos espécimes testados. Assim, desenvolveram-se testes *in vitro* para tanto, procurando-se, ao final, estabelecer-se relações entre os comportamentos verificados e as características identificadas nos testes físico-químicos. A partir desses, verificaram-se níveis baixos de citotoxicidade, além de uma queda de desempenho em períodos prolongados, associados, provavelmente, a perda rápida de quitosana ao meio e a ineficácia no processo de extração dos sais. O último problema citado, respectivamente, seria, ainda, possível causa da baixa eficácia do tratamento de oxidação.

ABSTRACT

In order to create an alternative to two great problems related to a near future, the increasing black liquor production and an increase in demand for treatments related to bone issues, the present study searched for the development of a new biomaterial. Having that objective in mind, lignin present in black liquor was used directly as raw material in the production of a phenol-formaldehyde resin. That polymer was used as precursor agent of a carbon foam, which was evaluated after extraction of the residual salt content, which presence was due to the paper industry itself, surface oxidation and adhesion of chitosan. The developed assays aimed the characterization of the generated material in terms of some physicochemical and biological aspects, what was made by electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS and differential scanning calorimetry, DSC, for the first aspect class. The biological evaluation was developed in order to identify the biomaterial influence on the cell metabolism – cytotoxicity – and on the reproduction of the tested specimens. Therefore, *in vitro* assays were made, aiming the understanding of the relations between the observed cell behavior and the aspects verified by the physicochemical assays. The execution of those tests allowed the observation of the low cytotoxicity levels, besides a performance drop at prolonged testing periods. That last behavior was probably related to a fast chitosan loss to the medium and the salt extraction process ineffectiveness. That last quoted problem would be still associated to the oxidation procedure low effectiveness.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Estrutura básica observada em materiais carbonosos grafíticos. Fonte: (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006).....5
- Figura 2 - diferentes tipos de estruturas encontradas em materiais carbonosos grafíticos, vendo-se, a esquerda, uma organização típica de composto grafitizável, enquanto que, à direita, observa-se uma estrutura não grafitizável. Fonte: (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006).....6
- Figura 3 - diferentes tipos de estruturas de poros as quais são desenvolvidas em materiais carbonosos, em geral. (a) – porosidade fechada; (b) – poro aberto com saída superficial; (c) – poro aberto; (d) – poro aberto; (e) – poro de passagem; (f) – poro aberto com saída superficial; (g) – porosidade aberta. Fonte: (ZDRAVKOV et al., 2007).....7
- Figura 4 - Gráfico indicando a quantidade de papelão e papel de embrulho produzido no mundo (em milhões de toneladas). Fonte: (KINSELLA et al., 2018).....13
- Figura 5 - Gráfico apresentando o crescimento da produção de plástico no mundo a partir de 1950. Fonte: (“Global plastics production”, [s.d.]).....14
- Figura 6 - Gráfico indicando as principais fontes de resíduos plásticos atuais, sendo as embalagens as mais significativas. Fonte: (“Plastic waste generation by industrial sector, 2015”, [s.d.]).....15
- Figura 7 - Gráficos indicando diferentes previsões para o comportamento da população humana. Fonte: (“Comparison of world population projections”, [s.d.])....16
- Figura 8 - Gráfico indicando a quantidade de polpa produzida no Brasil, em milhões de toneladas. Fonte: (FAO, 2014).....17
- Figura 9 - Gráfico indicando a quantidade de papel consumido no mundo, em milhões de toneladas. Fonte: (FAO, 2014).....17
- Figura 10 - Representações dos três tipos moleculares distintos os quais compõe a estrutura da lignina, sendo, da esquerda para a direita: álcool cumarílico, coniferílico e sinafílico. Fonte: (AZADI et al., 2013).....19
- Figura 11 - Imagem representativa relacionada ao principal mecanismo que torna grupos fenólicos reativos em meios básicos. É importante ter-se em mente a grande

densidade de tais grupamentos em moléculas de lignina de licor negro. Fonte: (GARDZIELLA; PILATO; KNOP, 2000).....	26
Figura 12 - Representação de constituintes macromoleculares cuja estrutura é estipulada a partir de estudos quantitativos de análise química da estrutura da lignina de licor negro. Fonte: (CRESTINI et al., 2017).....	27
Figura 13 - Representação de diferentes mecanismos de reação entre formaldeído e grupamentos fenólicos, os quais ocorrem até serem exauridos os sítios reativos do ciclo aromático. Fonte: (GARDZIELLA; PILATO; KNOP, 2000).....	28
Figura 14 - Diferentes mecanismos e produtos de reação verificados em ambientes resóis. Os índices dos reagentes equivalem à numeração verificada na Figura 13. Fonte: (GARDZIELLA; PILATO; KNOP, 2000).....	29
Figura 15 - Representação do mecanismo sugerido para a formação de quinonametídeos. Fonte:(LI et al., 2017).....	30
Figura 16 - Diferentes reações verificadas na presença de resorcinol, durante a cura de resinas fenólicas. RA - ânion resorcionol; R - resorcinol neutro. Fonte: (LI et al., 2017).....	30
Figura 17 - Microscopia eletrônica de espuma carbonosa gerada a partir da carbonização de precursor de poliuretano expandido. Origem: (INAGAKI, 2015). ...	33
Figura 18 - Fotografias obtidas de espuma de fibras de carbono. (a) - como obtida; (b) - sofrendo deformação; (c) - microscopia eletrônica de varredura. Fonte: (STOJANOVSKA et al., 2019).....	36
Figura 19 - Esquema apresentando as diferentes vias de obtenção de espumas de nanotubos de carbono, sendo possível obter-se, por cada uma, dado tipo distinto de espuma resultante. Fonte: (STOJANOVSKA et al., 2019).	37
Figura 20 - Gráficos obtidos a partir da análise da variação de HTT para dois tipos de materiais distintos: cloreto de polivinilideno (PVDC), à esquerda, e poli(álcool furfurílico), à direita. Fonte: (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006).	41
Figura 21 - Representações de diferentes estruturas químicas as quais podem ser encontradas em superfícies de materiais carbonosos. (a)-carboxila; (b)-anidrido de ácido carboxílico; (c)-lactona; (d)-lacto; (e)-hidroxila; (f)-carbonila; (g)-quinona; (h)-éter. Fonte: (BOEHM, 1994).....	44

Figura 22 - Representação dos diferentes grupos funcionais de caráter básico os quais podem ser obtidos, principalmente, por tratamentos químicos com amônia. Fonte: (SHEN; LI; LIU, 2012).....	45
Figura 23 - Diferentes mecanismos de reação verificados para amostras carbonosas em tratamentos térmicos em atmosferas inertes. É possível observar-se o desenvolvimento de sítios ativos. Fonte: (MENÉNDEZ et al., 1996a).....	50
Figura 24 - Pirâmide a qual apresenta a divisão das riquezas no mundo. É clara a desigualdade existente. Fonte: (SHORROCKS; DAVIES; LLUBERAS, 2018).....	58
Figura 25 - Desenvolvimento da Expectativa de vida, por região. Fonte: ("Life expectancy", [s.d.]).....	59
Figura 26 - Índice de Desenvolvimento Humano no ano de 2018. Fonte: ("Human Development Index, 2017", [s.d.])	60
Figura 27 - Representações esquemáticas referentes aos diferentes níveis organizacionais presentes no tecido ósseo. Fonte: (WU et al., 2014).....	64
Figura 28 - Representação de uma membrana citoplasmática, sendo possível notar a presença de entidades de grande importância na comunicação do ambiente interno da célula ao externo: integrinas e filamentos do citoesqueleto. Fonte: ("The extracellular matrix and cell wall (article) Khan Academy", [s.d.]).....	70
Figura 29 - Representação dos diferentes estágios pelos quais dada célula ou conjunto de tais entidades passa para aderir de modo intenso à superfície de dado material exógeno, como, por exemplo, um biomaterial. Fonte: (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010).....	72
Figura 30 - Curvas típicas de ensaios de tração realizados com amostras de formas e constituição variados de tecidos ósseos corticais. Fonte: (WU et al., 2014).....	73
Figura 31 - Comportamento típico de tecido ósseo trabecular, sendo possível verificar-se a região de rompimento dos trabéculos, a qual é seguida de compactação dos fragmentos e posterior ascensão de resistência pela máxima compactação. Fonte: (WU et al., 2014).....	74
Figura 32 - Representação de estruturas as quais são repetidas nas macromoléculas de quitosana, quando parcialmente desacetilada. A estrutura de quitosana (f) é	

composta predominantemente por ciclos de caráter levemente básico. Fonte: (LI et al., 2018)	81
Figura 33 - Imagem representativa a qual diferencia as definições de topografia, à direita, e rugosidade, à esquerda. Fonte: (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010) ...	84
Figura 34 - Microscopias eletrônicas obtidas pela análise de substratos de crescimento celular, em que é possível notar o claro alongamento da célula a esquerda no sentido das ranhuras intencionalmente inseridas na superfície do material. Fonte: (TEIXEIRA et al., 2003)	87
Figura 35 - Fotografia obtida durante a separação do granulado da solução de quitosana. É possível notar a alta viscosidade da solução pelo ângulo formado na borda do líquido e a superfície de peneiramento. Fonte: próprio autor.	97
Figura 36 - Fotografia de amostra tratada secando em papel filtro. Fonte: próprio autor.	98
Figura 37 - Fluxograma apresentando todas as etapas executadas para a obtenção das amostras utilizadas no estudo em questão. Foi utilizada, para sua produção, a plataforma draw.io. Fonte: próprio autor.	99
Figura 38 - microscopias ópticas da amostra A0. (a) - aumento de 150x; (b) - aumento de 500x; (c) - observa-se a presença de cristais de sais, cuja constituição qualitativa foi obtida por EDS; (d) - detalhes da superfície do biomaterial. Fonte: próprio autor.	119
Figura 39 - Microscopias eletrônicas obtidas para a amostra AA1. (c) e (d) tornam a porosidade citada no texto mais visível. Fonte: próprio autor.....	121
Figura 40 - Microscopias eletrônicas obtidas para a amostra AA2. Em (d), nota-se a presença dos grânulos salinos de tamanho diminuto. Fonte: próprio autor.	122
Figura 41 - Microscopias eletrônicas da amostra AA3. Notou-se a presença de sais de tamanho superior ao aferido para a amostra AA2, o que indica a não linearidade da presença destes na estrutura do biomaterial. Fonte: próprio autor.	123
Figura 42 - Microscopias obtidas pela observação da amostra AA4. Nota-se, nesta, a presença de estruturas esféricas submicrométricas, como ocorre na amostra AA3. Fonte: próprio autor.....	124

Figura 43 - Gráfico indicando a variação da concentração de grupos ácidos de acordo com o tratamento desenvolvido. Fonte: próprio autor.	127
Figura 44 - Fotografia obtida do papel filtro utilizado para filtração de solução de tratamento aplicada na titulação de Boehm. Nota-se o caráter diminuto do material, muito inferior ao tamanho original do biomaterial inicialmente inserido no sistema. Fonte: próprio autor.	128
Figura 45 -Microscopias eletrônicas da nova amostra de biomaterial. É notável a melhor limpeza superficial pelo sistema soxhlet, além de aparentar estar mais atacada que as inicialmente produzidas, ou seja, A0 a AA4. Fonte: próprio autor.	130
Figura 46 - Fotografias obtidas a partir de microscopia eletrônica da amostra AQ0. Nota-se, em (b) e (c), a presença de estruturas distintas das anteriormente verificadas. Fonte: próprio autor.	133
Figura 47 - Microscopias eletrônicas obtidas a partir da avaliação da amostra AAQ1. Nota-se deformação no poro central em (c). Fonte: próprio autor.	134
Figura 48 - Microscopias eletrônicas obtidas pela avaliação da amostra AAQ2. As imagens (c) e (d) tornam visíveis o filme de material orgânico formado. Fonte: próprio autor.	135
Figura 49 - Imagem obtida por microscopia eletrônica de filme de quitosana, o qual foi gerado por secagem em placa de petri e estufa a 60°C. Fonte: próprio autor.	136
Figura 50 - Microscopias eletrônicas obtidas de amostra de sensor formado por negro de fumo e quitosana, a partir de liofilização após contato entre tais substâncias. Fonte: (LIU; ZHENG; LIU, 2018).	137
Figura 51 - Microscopias eletrônicas obtidas de: (a) - solução de quitosana liofilizada; (b) - compósito de quitosana e hidroxiapatita. Fonte: (PALLELA et al., 2012).	138
Figura 52 - Microscopia eletrônica obtida de substrato de hidroxiapatita e quitosana. Fonte: (CHIONO et al., 2008).	138
Figura 53 - Microscopias eletrônicas obtidas da Amostra AAQ3. Nota-se a grande presença do filme, especialmente em regiões geometricamente mais instáveis. Fonte: próprio autor.	139

Figura 54 - Microscopias eletrônicas vinculadas à amostra AAQ4. É possível notar a presença clara de filmes ao longo da superfície dos grânulos, bem como clara porosidade, a qual pode ser devida ao ataque ácido. Fonte: próprio autor.....	140
Figura 55 - Microscopia eletrônica apresentando a estrutura amorfa verificada em grande densidade na amostra AAQ4. Fonte: próprio autor.....	141
Figura 56 - Simples teste realizado com o biomaterial durante o processo de secagem após tratamento para fixação de quitosana. (a) - parcela sem conformação; (b) - parcela após conformação. Fonte: próprio autor.....	141
Figura 57 - Composição de curvas de DSC obtidas para quitosana pura e para amostras de AQ0 a AQ4. Para correta compreensão da imagem, o leitor deve associar as denominações A5, A6, A7, A8 e A9 a, respectivamente, AQ0, AAQ1, AAQ2, AAQ3 e AAQ4. Fonte: próprio autor.	143
Figura 58 - Gráfico indicando a viabilidade celular testada por MTT apresentada pelas diferentes amostras desenvolvidas. Fonte: próprio autor.....	146
Figura 59 - Gráfico apresentando a viabilidade celular gerada pela metodologia por Cristal Violeta. Fonte: próprio autor.....	146

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média em massa de constituintes orgânicos de certos tipos de matéria-prima de biomassa	18
Tabela 2 - Proporção mássica utilizada entre reagentes (g)	91
Tabela 3 - Proporção mássica utilizada entre reagentes (g)	92
Tabela 4 - Tratamento de oxidação por ácido nítrico	94
Tabela 5 - Soluções de quitosana (2% em massa)	96
Tabela 6 - Características físicas - licor negro	110
Tabela 7 - Relação de Rendimentos e Desvios de Acordo com a Etapa Desenvolvida	112
Tabela 8 - Avaliação geométrica do particulado.....	117
Tabela 9 - Resumo de Resultados - EDS	120
Tabela 10 - Avaliação da química de superfície: quantificação dos grupos ácidos (mol/g de biomaterial).....	127
Tabela 11 - avaliação das curvas de Análise Térmica - DSC.....	143

SUMÁRIO

1. Introdução	14
2. Revisão bibliográfica	3
2.1 Espumas a base de carbono – definições e estrutura.....	3
2.2. Matérias primas utilizadas.....	9
2.3. Licor negro e lignina	11
2.3.1. Razões de uso	12
2.3.2. Lignina e suas propriedades	18
2.3.3. Polpação Kraft – produção de Licor Negro	19
2.3.4. Licor Negro – Um revés ambiental.....	21
2.3.5. Lignina de Licor Negro – Material de grande potencial	23
2.3.5.1. Lignina como reagente de resinas fenólicas	25
2.4. Métodos de Produção	31
2.4.1. Produção por Molde	32
2.4.2. Produção por evolução gasosa.....	34
2.4.3. Metodologias alternativas ou derivadas.....	35
2.5. Carbonização – um passo em comum	40
2.5. Modificações superficiais	42
2.6. Aplicações gerais	51
2.6.1. Aplicação como biomaterial	56
2.6.2.1 Enfermidades vinculadas ao sistema ósseo – uma realidade alarmante.	60
2.6.2.2. O sistema ósseo - Constituição	61
2.6.2.3. Recuperação e Regeneração de tecidos danificados ou rompidos.	65
2.6.2.4. Implantes – Metodologias aplicadas para dinamização da recuperação de tecidos ósseos.....	68

2.6.2.5. Compreensão dos fenômenos envolvidos em tratamentos com implantes ósseos.....	69
2.6.2.6. Quitosana e suas propriedades biológicas.....	80
3. Objetivos	89
4. Materiais e Métodos	90
4.1. Produção das amostras de biomaterial	90
4.1.1. Síntese polimérica e carbonização	90
4.1.2. Desenvolvimento de tratamentos ácidos	93
4.1.3. Desenvolvimento de tratamentos em vista de adesão de quitosana à superfície	94
4.2. Testes e análises	100
4.2.1. Microscopia eletrônica	100
4.2.2. Análise térmica – avaliação por Calorimetria Exploratória Diferencial	
101	
4.2.3. Avaliação química – Titulação de Boehm	101
4.2.4. Avaliação biológica	105
5. Resultados e Discussões	108
5.1. Avaliação de Características Iniciais da Matéria-prima e Rendimentos de Processo.....	108
5.2. Avaliação de imagens de microscopia eletrônica, EDS, titulação de Boehm e Análise Térmica	116
5.2.1. Amostras não tratadas com solução de quitosana	118
5.2.2. Nova amostra de biomaterial.....	129
5.2.3. Amostras tratadas com solução de quitosana	131
5.3. Avaliação de desempenho como biomaterial.....	145
6. Conclusões	151
REFERÊNCIAS.....	153

1. Introdução

Consistindo em uma das principais ferramentas disponíveis ao ser humano, a capacidade de raciocínio lógico, desenvolvida ao longo da evolução da espécie em questão, foi e ainda é capaz de proporcionar melhorias vinculadas à qualidade de vida das diversas sociedades hoje existentes. Uma das principais metodologias verificadas para obtenção de tais aperfeiçoamentos consiste na adoção de novos materiais para a produção de ferramentas diversas, as quais possibilitam maior facilidade no desenvolvimento de determinadas atividades, especialmente quando vinculadas ao cotidiano humano. Exemplos disso podem ser verificados em quaisquer períodos históricos, se iniciando com o uso de madeira e pedras lascadas para a produção de ferramentas arcaicas utilizadas na caça, pesca e como arma em conflitos entre grupos rivais. A adoção de dadas misturas de argila e areia foram, posteriormente, fundamentais para a produção de potes utilizados para o armazenamento de alimentos e água, promovendo melhorias significativas na qualidade de vida humana. A aplicação posterior de fibras naturais, metais, polímeros, compósitos e entre outros, por sua vez, também consistem em eventos responsáveis por notável aumento na expectativa de vida humana ou redução na incidência de doenças potencialmente mortais. Em vista disso, o estudo em questão procurou, abordando duas questões atualmente problemáticas, desenvolver um novo material com função de biomaterial aplicado como substrato de crescimento de tecido ósseo.

A tendência de envelhecimento populacional, gerada a partir de um aumento na expectativa de vida unida à redução da taxa de natalidade, terá como consequência esperada um aumento significativo na incidência de problemas ósseos, vinculados especialmente ao rompimento por impacto ou por atuação de osteoporose. Tal realidade futura esperada poderá, no entanto, ser acompanhada de um fator agravante: alta desigualdade social e econômica. Tal condição, por sua vez, poderá promover grande perda de qualidade de vida à parcela da população idosa, uma vez que tratamentos utilizados para regeneração óssea, bem como próteses e implantes, possuem alto valor agregado, impossibilitando o acesso por parte das populações menos abastadas. Sendo assim, o desenvolvimento de tecnologias aplicadas à medicina em vista de se permitir a produção de tratamentos e implantes de menor

valor agregado consiste em uma necessidade de grande importância atual, a fim de evitar-se uma realidade futura problemática à população mais idosa.

Paralelamente a isso, tendências de consumo de papel apresentam-se como fator agravante a um cenário futuro no qual deseja-se cada vez mais a presença de um viés sustentável no cotidiano humano. O aumento do consumo de produtos gerados tendo-se como matéria-prima papel ou polpa de celulose consiste em um elemento real do cenário atual, e estudos desenvolvidos na área indicam certa constância no crescimento de tal demanda. Tal fato, apresentando como causas o aumento do consumo por populações de países menos desenvolvidos, bem como a substituição produtos de plástico por outros gerados com papel, especialmente no setor de embalagens, torna-se crítico visto o resíduo gerado durante a produção de tal matéria-prima: o licor negro. Consistindo em uma mistura líquida de alta toxicidade, visto seu alto pH e concentração de matéria orgânica, não podendo ser liberada no ambiente sem o desenvolvimento de tratamentos, é, em geral, eliminada por meio da queima em regeneradores de calor, solução a qual apresenta grandes revezes. A exemplo destes, pode-se citar a degradação dos equipamentos utilizados, liberação de fumos prejudiciais à saúde e destruição de composto químico de alto valor agregado: lignina.

Em vista dessas problemáticas, o estudo desenvolvido procurou criar uma alternativa a qual fosse capaz de lidar com ambas as problemáticas citadas. Assim, formulou-se uma metodologia para obtenção de uma espuma carbonosa a qual seria aplicada como substrato de crescimento de tecido ósseo. Para tanto, tal material seria desenvolvido a partir da lignina presente no licor negro, pela qual, a partir de sistema resol, consistiria na matéria-prima base para constituição de uma resina termorrígida do tipo fenol-formaldeído. Em vista de manter-se um baixo preço vinculado à produção de tal biomaterial, esta deveria ocorrer sem a realização de procedimentos de purificação da lignina, devendo a metodologia englobar o desenvolvimento de tratamentos superficiais em vista da melhoria do desempenho de tal biomaterial. A avaliação tanto da espuma carbonosa gerada foi realizada em vista da caracterização físico-química do material, enquanto que testes biológicos foram desenvolvidos em vista de se verificar as condições de tratamento mais vantajosas em termos de desempenho em aplicação.

2. Revisão bibliográfica

2.1 Espumas a base de carbono – definições e estrutura

Uma avaliação rápida da preferência humana durante sua história vinculada ao aspecto dos materiais utilizados demonstra grande evidência do uso de materiais com maior homogeneidade microestrutural possível, evitando-se a presença de impurezas, vazios ou bolhas. Tal inclinação deve-se, em grande parte, a melhora de propriedades, em especial, mecânicas, as quais eram, e ainda são, de suma importância para aplicações tradicionais de materiais, como estruturação na construção civil, indústria automotiva, aeroespacial, e entre outros. Contudo, a partir da segunda metade do século XX, incentivada pela Guerra Fria e o desenvolvimento de tecnologias cada vez mais complexas, a qual é aliado a tendência de redução no tamanho e peso de componentes, tal preferência humana começou, em determinados campos de aplicação, a mudar. A grande necessidade de redução do consumo energético de máquinas e processos, junto de uma forte requisição de materiais com propriedades mais diversas tornou, assim, a importância e aplicação de materiais compósitos e porosos cada vez mais intensos.

Desenvolvidos em prol de saciar uma demanda por materiais os quais apresentem características específicas, são utilizados em aplicações de alta tecnologia na indústria aeroespacial, naval, automobilística, eletrônica, médica e entre outros. Isso se deve a um desempenho significativamente superior aos apresentados por materiais de estrutura mais simples, reduzindo-se gastos e perdas geradas por defeitos ou falhas de classes variáveis conforme o tipo e uso do componente. Assim, peças produzidas com compósitos de matriz metálica, por exemplo, mostram-se significativamente mais resistentes em termos mecânicos que os próprios metais utilizados de forma pura. O mesmo pode ser verificado para materiais porosos, também denominados espumas, os quais apresentam aplicação vinculada a purificação de meios fluidos, suporte de catalisadores em reações variadas, base de eletrodos em componentes eletrônicos de alto desempenho, como supercapacitores, substrato de crescimento celular e entre outros. Tais aplicações, estando em desenvolvimento ou sendo já utilizadas no mercado, tem seu fundamento nas

características peculiares de espumas vinculadas às suas estruturas e área superficial.

Ao apresentarem dado nível de porosidade, espumas contém grande área superficial, ou seja, região de interface entre o material e o meio o qual o envolve, o que é essencial para os usos aos quais são destinados (LEE; KIM; HYEON, 2006). A separação de dadas substâncias, tanto gasosas como líquidas, bem como adsorção de íons em soluções ou até mesmo nano e microparticulados de meios fluidos são exemplos de práticas as quais exigem a utilização de materiais com grande área superficial. Isso decorre, em princípio, da necessidade do aumento da eficiência no processo de adsorção da espécie de interesse, devendo-se aumentar a densidade de sítios de ocorrência de tal fenômeno, e assim, a probabilidade de que este de fato ocorra. Sendo assim, uma área superficial maior permite a existência, em um dado volume de espuma, de uma maior densidade de sítios interativos, o que aumenta o desempenho do material. A estrutura de poros pode ser importante, ainda, em termos geométricos, permitindo, por exemplo, um fluxo mais facilitado de dado fluido pelo material, o que garante uma maior cinética em dadas reações as quais possam ocorrer na superfície de tais materiais. Assim, podem ser aplicados como substratos para catalizadores de determinadas reações, como aquelas recorrentes em células a combustível, por exemplo (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). É importante ter-se em mente, no entanto, que o aspecto poroso de tais materiais os torna pouco aplicáveis em funções as quais exijam alta resistência mecânica, visto que vazios, bolhas e canais atuam como concentradores de tensão em qualquer componente que os apresentem, além de reduzirem a seção resistente deste.

O uso de materiais porosos ocorre, em geral, em meios os quais podem apresentar propriedades variáveis com o tempo, ou mesmo muito críticas aos componentes utilizados. Desse modo, com o tempo, podem reagir com substâncias constituintes do fluido e, assim, perder propriedades importantes a suas aplicações ou até mesmo degradarem, o que evidencia a necessidade de uso de materiais inertes. Entram em evidência, assim, aqueles compostos majoritariamente de carbono. Espumas de tal elemento químico podem ser definidos como produtos carbonosos os quais contém estruturas côncavas vazias em seu interior, denominadas células, ou poros. Essas arranjam-se de modo a desenvolver uma estrutura tridimensional porosa em uma matriz de carbono o que ocorre

predominantemente de modo não ordenado (NAGEL; PUSZ; TRZEBICKA, 2014). Em tal material, os átomos apresentam-se em uma estrutura grafítica, a qual confere aos componentes utilizados grande resistência química, além de outras propriedades de grande interesse para uma variedade de aplicações distintas. Tais materiais, sendo produzidos a partir de diferentes vias, apresentam uma estrutura cristalina semelhante, como citado anteriormente, à observada no grafite: folhas com átomos de carbono ligados entre si formando hexágonos, em um ordenamento do tipo encontrado em folhas de grafeno, apresentando orbitais com estrutura sp^2 , sendo tal ordenamento típico de grafeno e óxidos de grafeno. Em tais folhas, os átomos de carbono são conectados por ligações do tipo σ , com um comprimento de 0,142 nm, além de interações químicas do tipo π delocalizadas (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). Tal característica faz com que os elétrons participantes de tais ligações químicas sejam capazes de movimentar-se de modo mais livre por sua estrutura, fato devido a um estado quântico de maior energia, o que traz aos materiais com estrutura grafítica a capacidade de transporte de energia elétrica.

Folhas adjacentes apresentam, por sua vez, um distanciamento médio de 0,335 nm, sendo conectadas por forças de van der Waals, presentes devido ao desbalanceamento momentâneo de cargas elétricas ao longo dos conjuntos atômicos planos (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). Tais planos alocam-se entre si de modo a obter uma menor energia possível, o que ocorre no arranjo AB, o qual é indicado na Figura 1.

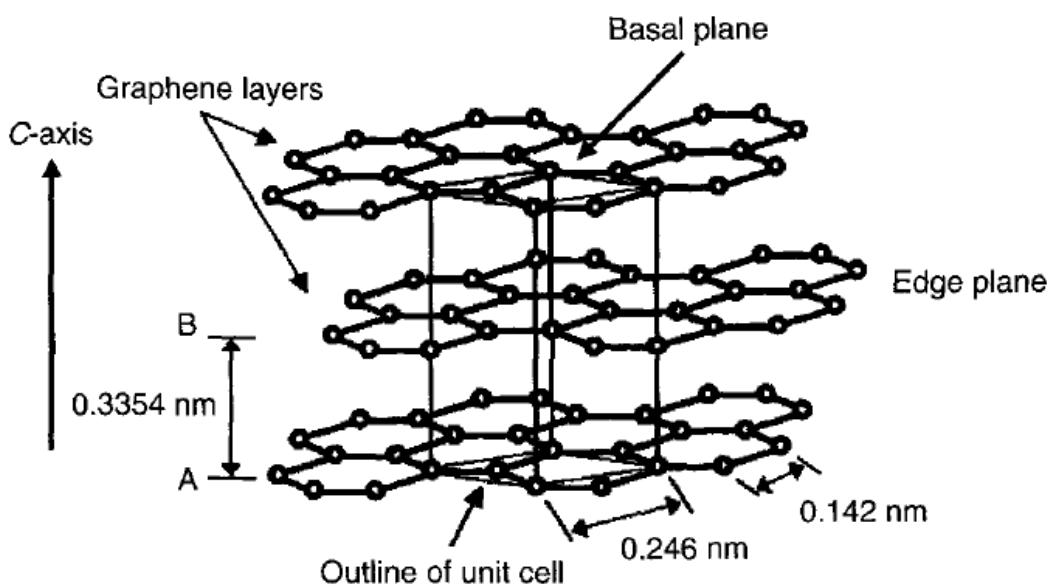


Figura 1 - Estrutura básica observada em materiais carbonosos grafíticos. Fonte: (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006).

Tal estrutura, de um modo geral, dá a materiais carbonosos uma baixa densidade, cerca de $2,25 \text{ g/cm}^3$, especialmente quando comparados ao diamante, alótropo menos estável cuja densidade atinge $3,52 \text{ g/cm}^3$. Sendo conectados por meio de forças de menor intensidade que as interações químicas, tais planos atômicos podem facilmente desenvolver um deslocamento relativo, o que traz baixa resistência mecânica a materiais carbonosos grafíticos. É importante relatar que as estruturas carbonosas como as obtidas no trabalho em questão em geral desobedecem tal ordenação em longas distâncias nanométricas devido ao processo de produção e o agente precursor do material carbonoso. Assim, as espumas de carbono obtidas apresentam, em sua estrutura, folhas semelhantes às encontradas no grafeno com dimensões da ordem de nanômetros, conectando-se por ligações entre átomos presentes nas extremidades desse arranjo, de modo a formar orbitais do tipo sp^2 ou sp^3 . Organizando-se de tal maneira pouco compactada, o material apresentará naturalmente espaços vazios entre as folhas de carbono, o que dá origem a uma porosidade natural. A Figura 2 amostra representações de estruturas típicas de carvões obtidas a partir de carbonização, nas quais é possível observar-se o arranjo desordenado anteriormente descrito. Tal imagem faz a diferenciação entre carvões grafitizáveis e não grafitizáveis, distintos entre si em termos de intensidade do desordenamento, o qual define a capacidade destes de transformarem-se ou não em cristais de grafite quando aquecidos a temperaturas superiores a $2000 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

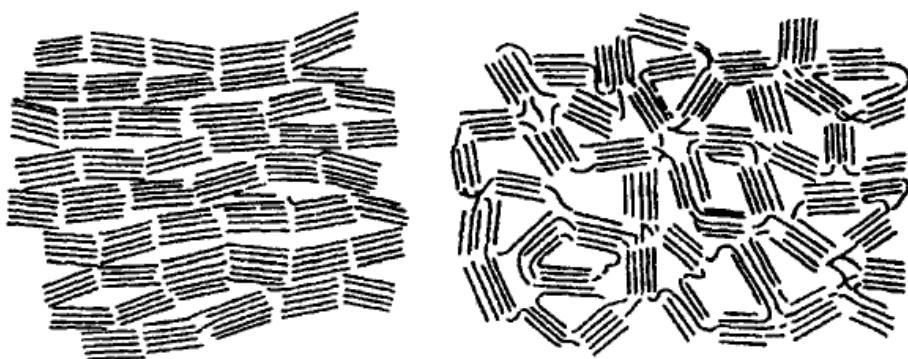


Figura 2 - diferentes tipos de estruturas encontradas em materiais carbonosos grafíticos, vendo-se, a esquerda, uma organização típica de composto grafitizável, enquanto que, à direita, observa-se uma estrutura não grafitizável. Fonte: (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006).

Tal desarranjo dá origem à porosidade do material, como descrito anteriormente, sendo variável de acordo com os parâmetros de processamento e componentes

químicos presentes nos materiais dos quais foram originados. Vinculado a tal desarranjo, podem ser encontrados, na estrutura, elétrons desemparelhados, os quais contribuem, para compostos com baixa atividade, para sua adsorção. Tais grupos radicais localizam-se, geralmente, nas bordas de folhas da estrutura, e dão origem, na formação das espumas, a ligações químicas entre tais camadas, desenvolvendo-se carbonos de orbitais sp^3 .

Tem-se, assim, materiais de baixa densidade e alta área superficial, tendo como representantes mais comuns carvões, carvões ativados e negros de fumo. A porosidade nestes apresentada pode ser classificada de acordo com seu tamanho médio, sendo que, segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada, ou IUPAC, em inglês, caso apresentem dimensões menores que 2 nm, são tidos como microporos. Segundo a mesma organização, estruturas as quais variem entre 2 e 50 nm são considerados mesoporos, enquanto que aquelas maiores que 50 nm são denominadas macroporos. Além disso, é, em muitos casos, fundamental classificar-se os poros presentes em tais materiais de acordo com sua morfologia, conforme observa-se na Figura 3.

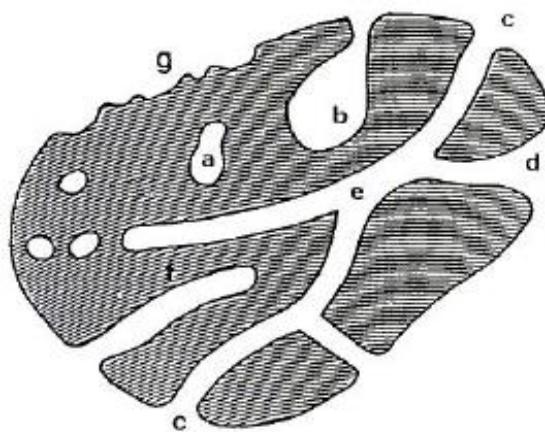


Figura 3 - diferentes tipos de estruturas de poros as quais são desenvolvidas em materiais carbonosos, em geral. (a) – porosidade fechada; (b) – poro aberto com saída superficial; (c) – poro aberto; (d) – poro aberto; (e) – poro de passagem; (f) – poro aberto com saída superficial; (g) – porosidade aberta. Fonte: (ZDRAVKOV et al., 2007).

Nesta, observa-se uma partícula de dado material, no qual verificam-se poros do tipo a, sendo caracterizados como fechados. Os do tipo b a e, por sua vez, consistem

na porosidade aberta do grão, podendo apresentar apenas uma saída para o exterior – b e f – sendo, então, chamados de poros cegos, ou mais de uma – c –, poros de passagem. Cada tipo de porosidade apresentado dá ao material determinada propriedade, sendo preferíveis ou não de acordo com a aplicação a qual este será dirigido. Assim, espumas desenvolvidas para extração de dados compostos de meios fluidos, como ocorre na filtração, devem apresentar uma grande quantidade de poros de passagem, os quais aumentam significativamente a área superficial do material, bem como a eficiência do material na filtração. É importante considerar que a área superficial de tais materiais tende a aumentar quanto menor o tamanho encontrado para os poros, de modo que, dependendo do uso intencionado, materiais com poros maiores ou menores são requisitados em vista do controle de determinados processos físicos e químicos.

A área superficial de tais materiais consiste em um dos fatores de maior importância, em geral, para aplicações industriais, o que se dá, como já citado, pelo uso de tais materiais na adsorção de substâncias em meios fluidos. Isso tem origem na necessidade crescente do desenvolvimento de tecnologias para a idealização de metodologias de limpeza de meios aquosos, extraíndo-se espécies metálicas, como de cromo, mercúrio e cádmio, além de compostos halogenados e orgânicos de soluções aquosas. Tal aspecto torna-se importante, também, na extração de determinados metais, como o ouro e a prata, a qual pode ocorrer pela adsorção de determinados íons ou complexos de soluções lixiviadas. É importante notar que tais processos adsorptivos apresentam como variáveis as diferentes etapas pelas quais podem ocorrer, bem como tamanho de poros disponível, as funções químicas presentes na superfície e a relação de área superficial com as dimensões da espécie a ser adsorvida (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). Novas aplicações para tais materiais como biomateriais, por sua vez, exigem, além do controle do tamanho de poros e da área superficial, uma estruturação mais definida da geometria porosa e da química de superfície, sendo tais fatores cruciais para a definição das interações desenvolvidas entre corpo hospedeiro e biomaterial.

2.2. Matérias primas utilizadas

Como foi dito anteriormente, uma grande quantidade de características vinculadas às espumas de carbono é relacionada à matéria-prima utilizada para sua produção a partir da carbonização, como será verificado posteriormente. Tais materiais, também denominadas compostos precursores, podem ser classificados de diversos modos, de acordo com a natureza de sua origem, biológica ou mineral, ou mesmo visto o comportamento destes perante a variação de temperatura: materiais termoplásticos ou termorrígidos (NAGEL; PUSZ; TRZEBICKA, 2014). Compostos precursores os quais são originados de fontes vivas, como cascas de sementes, quitosana e resíduos orgânicos diversos apresentam, em geral, estruturas e propriedades muito diversas daqueles de origem mineral, como piche e polímeros sintéticos, como poliuretanos, o que justifica a classificação. O mesmo ocorre com a classificação vinculada ao comportamento térmico das matérias-primas utilizadas, o que influencia nas metodologias possíveis a serem utilizadas na produção da espuma, bem como na qualidade e propriedades finais verificadas no material final. Sendo assim, é imprescindível reconhecer-se a larga gama de compostos precursores utilizados para tanto, bem como a influência da escolha do material adotado para a produção da espuma.

A classificação relacionada à resposta do material a variações térmicas define que matérias-primas plásticas perdem sua rigidez conforme ganham energia térmica, sendo os principais representantes destes piches, mesofases de piche, carvões coqueificáveis, os quais apresentam de 20 a 32 % de conteúdo betuminoso, e alcatrão gerado a partir de tratamentos de carvões minerais. Tais materiais, de origem mineral, apresentam a capacidade de grafitizarem-se, ou seja, de alterarem sua estrutura morfológica a partir de tratamentos térmicos em temperaturas acima de 2400°C, adquirindo um ordenamento maior (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). Tal efeito se dá pelo rearranjo das folhas típicas de grafeno, obtido com a existência de um estado de baixa viscosidade em altas temperaturas. Por tais fenômenos, reduz-se a densidade de radicais livres estruturais, de átomos de carbono com orbitais sp^3 e de poros, o que é interessante para uma larga gama de aplicações as quais necessitem de condutividades térmica e elétrica intensas. A produção de espumas de carbono a

partir de tais materiais, no entanto, exige o uso de metodologias as quais permitam o surgimento, quando líquidos, de bolhas, o que será abordado posteriormente, ao apresentarem-se os métodos de produção (LEE; KIM; HYEON, 2006). Materiais denominados termofixos, por sua vez, consistem naqueles os quais não apresentam perda de integridade estrutural severa pela ação de energia térmica, consistindo, geralmente, de resinas de poliésteres, de poliuretanos ou fenólicas. Tais materiais são inicialmente moldados por certo processamento específico, sendo estes abordados futuramente, obtendo-se espumas com alta aleatoriedade na orientação das folhas de carbono, o que não permite a grafitação de tais compostos a altas temperaturas após sua produção.

A variação das propriedades finais das espumas produzidas está intimamente vinculada às características dos materiais precursores iniciais, sendo um aspecto muito importante, em especial para compostos derivados do petróleo usados, a massa molar destes, bem como o índice de polidispersão, além da fração de moléculas com dado tamanho. Tais valores são preponderantes na definição na temperatura de amolecimento do material, bem como em sua viscosidade, parâmetros de processamento fundamentais para a correta produção da espuma. Esses valores são importantes, também, uma vez que, durante a etapa de formação de bolhas, a qual será discutida mais a fundo em seguida, uma maior viscosidade promove uma redução no processo de coalescimento dos gases, o que implica em tamanhos de poros menores, assim como em uma maior densidade. Tal efeito implica, também, em uma menor redução de valores de condutividade do material final, visto o menor ordenamento gerado em função de um maior número de bolhas (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). Outro fator de grande importância na produção de espumas de carbono consiste na tensão superficial do material precursor durante as diversas etapas do processamento. Esse parâmetro interfere tanto na forma como na textura dos poros desenvolvidos, o que pode ser intensamente significativo para diversas aplicações, sendo o uso como substrato de crescimento celular um exemplo disso, o que será abordado mais a frente.

Matérias-primas naturais, como caroços, cascas de árvores, sacarose, resíduos orgânicos líquidos, como licor negro e entre outros, por sua vez, são considerados compostos termofixos, visto que, durante seu processamento, não apresentam etapas em estado líquido ou viscoso. Seu uso, sendo ainda recente, exige muitas vezes

etapas de purificação do agente orgânico o qual produzirá o substrato carbonoso responsável pelo desenvolvimento da esponja. Tal substância sofre, então, reações para obtenção de conexões tridimensionais, as quais geram, além de estruturação ao material, seu caráter termofixo, obtendo-se um biopolímero. É comum, para tanto, o uso de agentes ligantes, como álcool furfurílico, ou 2-furilmetanol, e formaldeído, ou metanal, os quais atuam em grupos funcionais diversos das moléculas de matérias-primas, sendo capazes de conectá-las. O processamento de tais materiais, como mencionado anteriormente, desenvolve espumas do tipo vítreas, as quais apresentam alta aleatoriedade com relação às orientações das folhas de carbono. Isso faz com que possuam uma área superficial significativamente superior àquelas verificadas em espumas de origem mineral, o que ocorre em detrimento de uma redução nos valores de condutividades térmica e elétricas, bem como de resistência mecânica.

É importante ter-se em mente, no entanto, o fato de ser uma tendência científica crescente a tentativa de usos de matérias-primas naturais para a produção de espumas de carbono. A necessidade ascendente de se reduzir o uso de derivados do petróleo, unida ao crescente esforço para o desenvolvimento de processos produtivos mais sustentáveis em termos ambientais, sociais e econômicos a partir da reciclagem cada vez mais intensa de resíduos e da liberação em volumes cada vez menores de subprodutos de tais procedimentos consistem em duas das principais motivações para tanto. Sendo assim, uma grande quantidade de pesquisas é atualmente desenvolvida em vista de tal objetivo, sendo especialmente notório o esforço investido no desenvolvimento de práticas vinculadas ao uso de resíduos para a produção de espumas. Um exemplo claro disso consiste na aplicação de lignina como matéria-prima, sendo este um componente abundante de subprodutos da produção papeleira, usualmente nomeados de licor negro.

2.3. Licor negro e lignina

Como dito anteriormente, é crescente a necessidade de desenvolvimento de metodologias de produção mais sustentáveis em termos ambientais, sociais e econômicos. Tal objetivo demanda a adoção de práticas as quais permitam o uso de matérias-primas menos custosas, de processamento não muito complexo e que sejam

responsáveis por pegadas ecológicas pouco significativas. Essas exigências, apesar de seu caráter utópico, constantemente servem como ideais para a definição de estratégias em ambientes industriais e de estudo acadêmico, fato que pode ser claramente observado em uma grande quantidade de grupos de pesquisa vinculados à produção de espumas de carbono. Procura-se, nesse ramo, utilizar-se cada vez mais materiais naturais como fontes de espumas de carbono para aplicações tanto mais tradicionais como mais tecnológicas, faceta a ser explorada futuramente neste trabalho. O uso de lignina provinda de licor negro, um resíduo industrial de alta toxicidade originário da indústria papeleira, como matéria-prima alternativa tem sido alvo de uma grande variedade de pesquisas, visto sua larga produção, o que inclui o desenvolvimento de materiais precursores de espumas de carbono.

2.3.1. Razões de uso

A produção de papel tem crescido significativamente ao longo do tempo, visto a larga aplicabilidade de tal produto, bem como uma tendência do aumento da demanda por este em virtude da maior capacidade de compra de países em desenvolvimento. É recorrente, no mercado, uma intensa tendência vinculada ao uso de papel para as mais diversas aplicações, visto a larga gama morfológias e propriedades as quais pode apresentar. É aplicado, portanto, em larga quantidade no transporte de cargas a granel e mais pesadas como embalagens de médio e grande porte, ou as quais devem suportar tensões mecânicas significativas, sendo utilizado na forma de papelão e papéis de embrulho, sendo os valores produzidos a partir de 2013 apresentados na Figura 4.

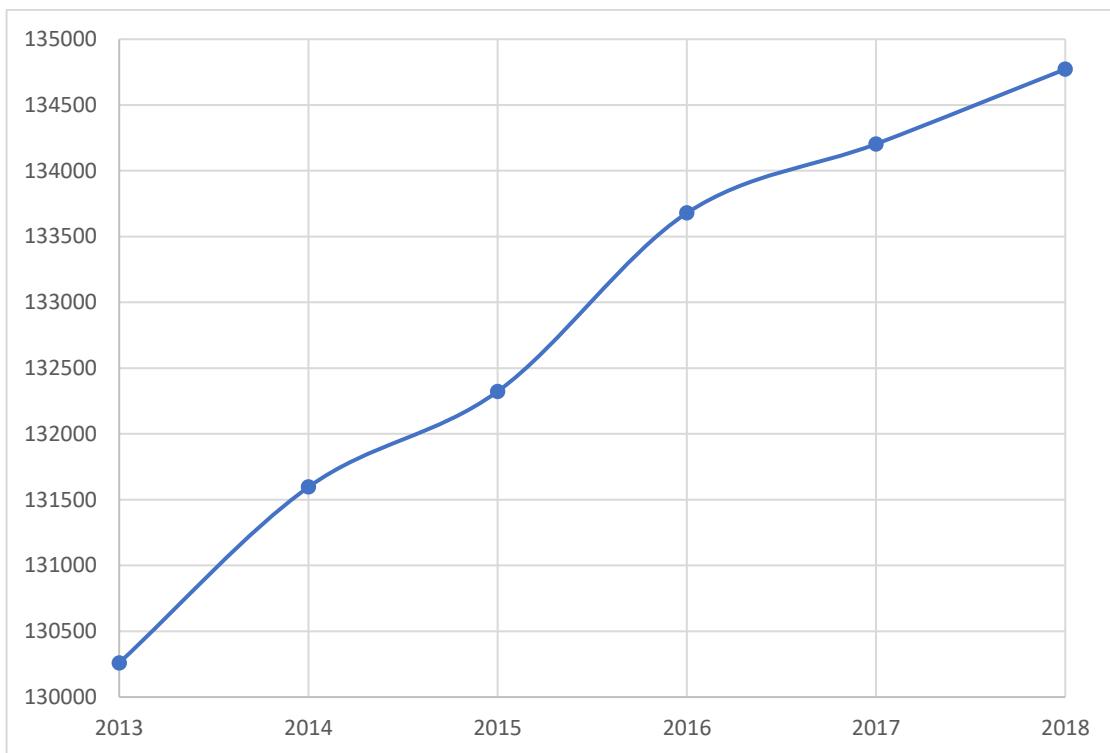


Figura 4 - Gráfico indicando a quantidade de papelão e papel de embrulho produzido no mundo (em milhões de toneladas). Fonte: (KINSELLA et al., 2018).

Outro uso muito intenso consiste no vinculado a produção de documentos utilizados no cotidiano humano, bem como livros, revistas e entre outros, além daqueles aplicados a higiene corporal, alcançando 22408 mil toneladas no ano de 2018.

Além disso, outra razão para um aumento significativo para o incremento do consumo de papel consiste nas exigências ambientais relacionadas a aplicação de dados materiais tradicionais. É de senso comum o fato de que o consumo de produtos plásticos se tornou altamente intensificado, especialmente pela grande aplicabilidade civil permitida pelas propriedades destes. A Figura 5 apresenta uma curva demonstrando a variação do consumo de plásticos pela humanidade, demonstrando tal tendência.

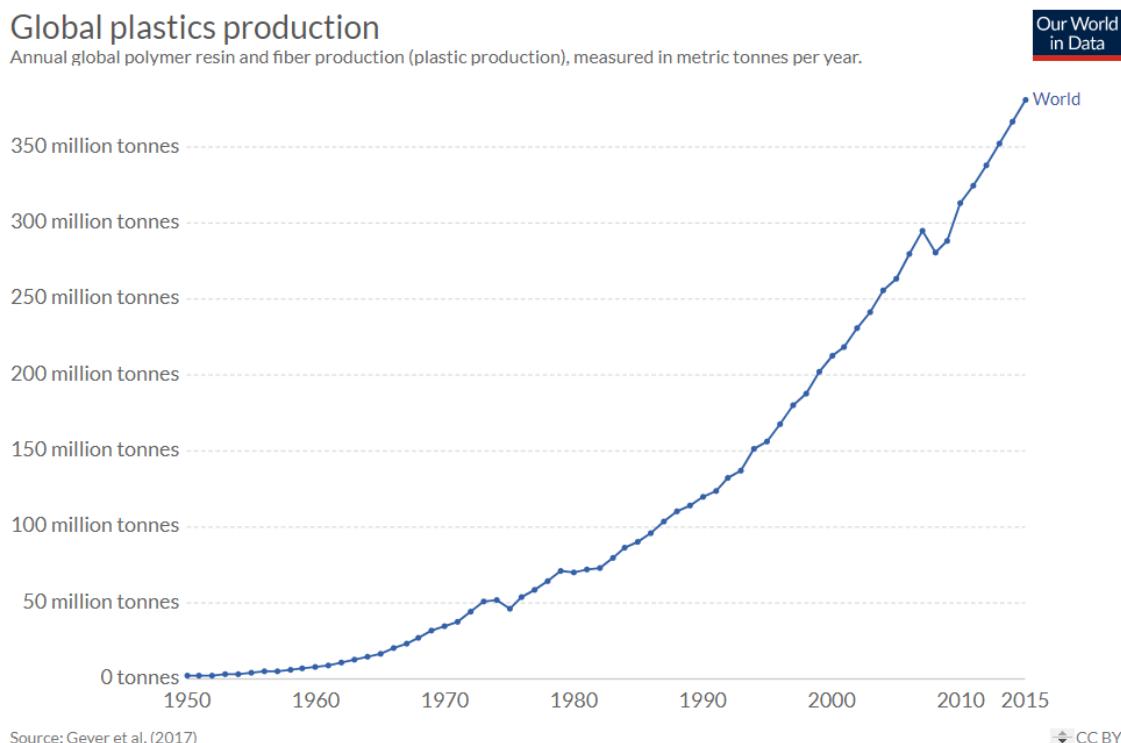


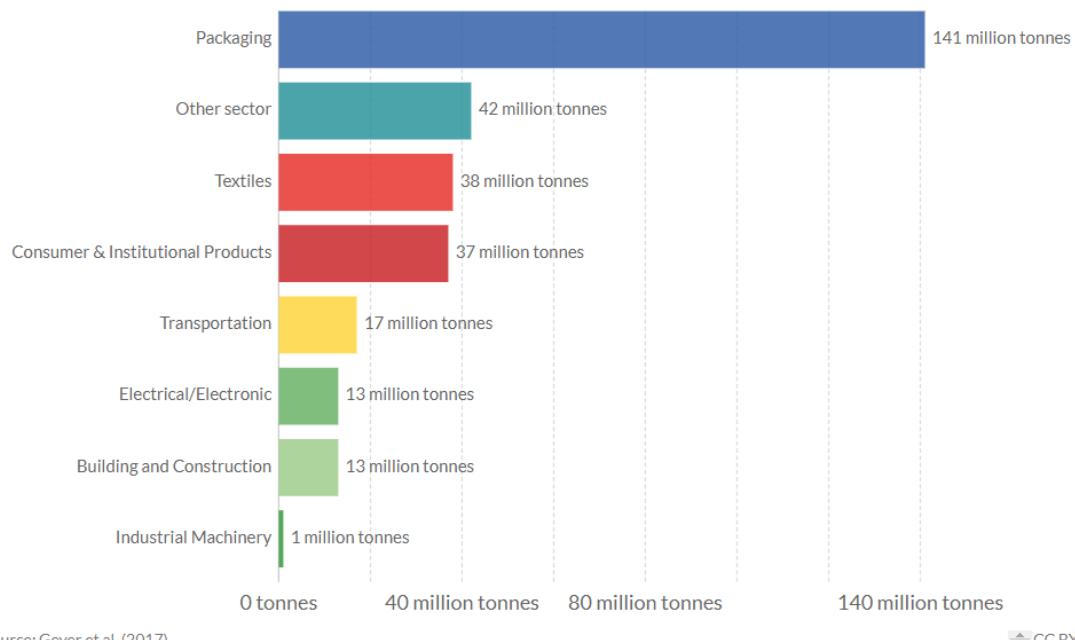
Figura 5 - Gráfico apresentando o crescimento da produção de plástico no mundo a partir de 1950.
Fonte: ("Global plastics production", [s.d.]).

É importante salientar-se que tal fenômeno foi obtido uma vez que plásticos se mostraram materiais muitas vezes adequados para a produção de embalagens de produtos diversos, as quais são rapidamente descartadas após um uso realizado em curto prazo. Assim, a quantidade de lixo produzido a partir do descarte de embalagens cresceu significativamente ao longo das últimas 7 décadas, o que pode ser evidenciado na Figura 6.

Plastic waste generation by industrial sector, 2015

Global plastic waste generation by industrial sector, measured in tonnes per year.

Our World
in Data



Source: Geyer et al. (2017)

CC BY

Figura 6 - Gráfico indicando as principais fontes de resíduos plásticos atuais, sendo as embalagens as mais significativas. Fonte: (“Plastic waste generation by industrial sector, 2015”, [s.d.]).

A adoção de medidas ambientais capazes de amenizar tal impacto são, portanto, fundamentais para a tentativa de se atingir um futuro mais sustentável, de modo surgirem alternativas ao uso dos materiais plásticos tradicionais. Como exemplo claro disso, pode-se notar o desenvolvimento de polímeros biodegradáveis, os quais, com a ação ou de agentes físicos ou químicos ambientais, ou mesmo por atuação biológica específica, são decompostos no meio, além de incorporados a este. Tal alternativa, no entanto, é ainda significativamente cara, inviabilizando a aplicação em larga escala, o que permite a adoção de uma solução mais barata: a substituição de embalagens plásticas por outras de papel.

Tal atitude, no entanto, tem sido, como averiguado anteriormente pelo Gráfico 1, significativamente impactante, especialmente quando unido a outros fatores os quais tendem a aumentar a produção mundial de papel, como o aumento populacional das sociedades atualmente existentes e o aumento do consumo de tal material por populações mais carentes. Estimativas indicam, por exemplo, que a população humana terá alcançado, ao final desse século, e considerando-se a não ocorrência de grandes desastres naturais e a atuação de enfermidades pandêmicas, a significativa

marca de 10 bilhões de indivíduos (AZADI et al., 2013), o que pode ser facilmente observado nas projeções de crescimento populacional apresentados na Figura 7. A curva laranja apresenta a projeção mais esperada.

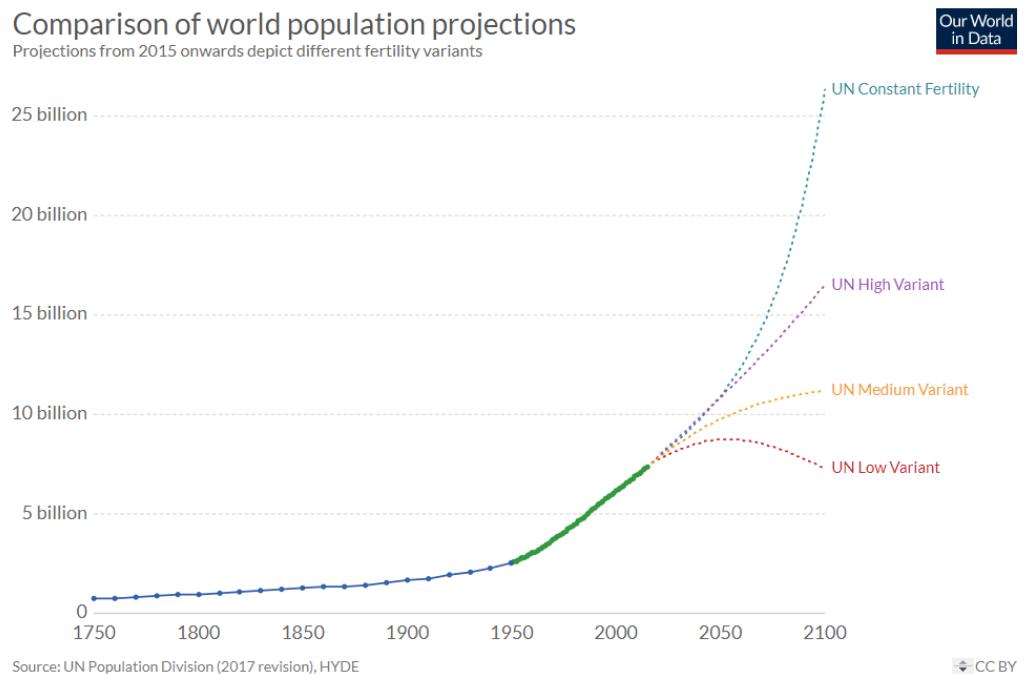


Figura 7 - Gráficos indicando diferentes previsões para o comportamento da população humana.
Fonte: ("Comparison of world population projections", [s.d.]).

Sendo assim, tal massa populacional, sustentada a partir dos recursos terrestres, consumirão uma quantidade alarmante de recursos, além de produzir volumes titânicos de rejeitos, os quais deverão ser corretamente reaproveitados ou depositados, em vista da continuidade da vida humana no planeta, o que está, consequentemente, vinculado à produção e descarte de produtos de papel. Tal aumento do consumo pode ser observado tanto em escala nacional como global, conforme é averiguado nas Figuras 8 e 9.

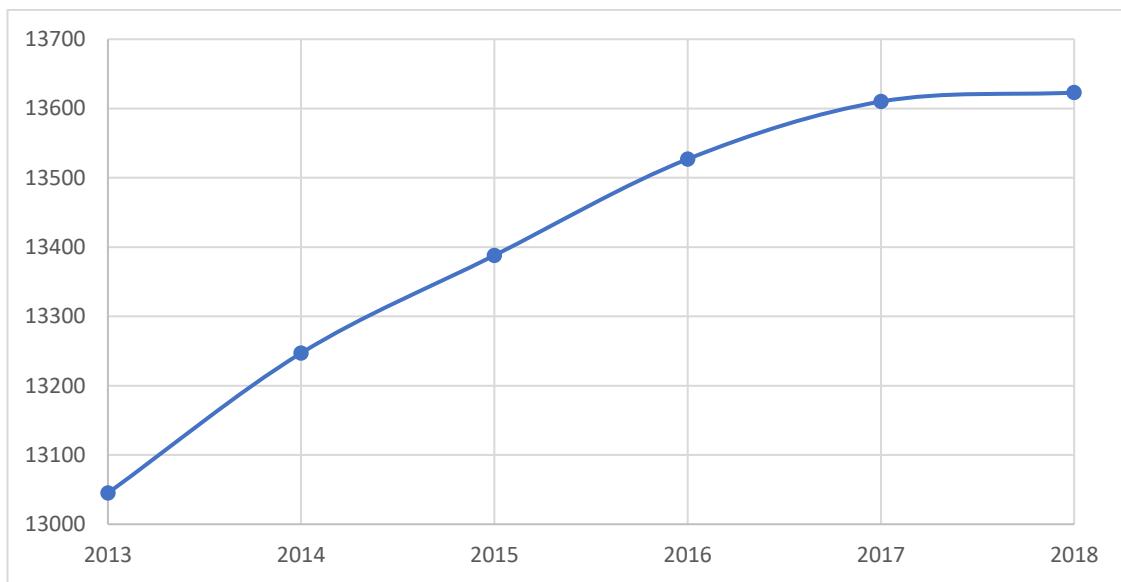


Figura 8 - Gráfico indicando a quantidade de polpa produzida no Brasil, em milhões de toneladas.
Fonte: (FAO, 2014).

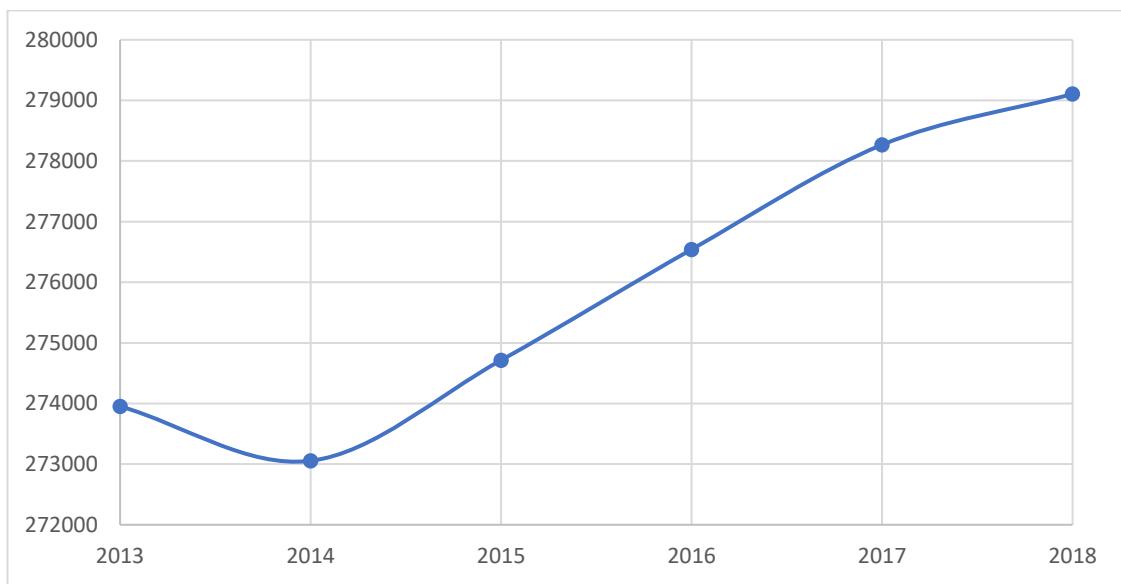


Figura 9 - Gráfico indicando a quantidade de papel consumido no mundo, em milhões de toneladas.
Fonte: (FAO, 2014).

O caráter crescente e monotônico dos dados apresentados acarretam, no entanto, em um efeito ainda pouco discutido pelo consumidor comum: o aumento dos resíduos gerados, não apenas pelo descarte, mas pelo processo produtivo desenvolvido para a geração de papel.

2.3.2. Lignina e suas propriedades

Ao longo das diferentes metodologias de produção de papel, é fundamental desenvolver-se etapas pelas quais é possível separar-se, da matéria vegetal, a parcela celulósica do restante da parte orgânica presente, o que se deve à constituição química da madeira. As paredes celulares de árvores apresentam, em geral, três constituintes básicos, os quais são responsáveis pelo caráter rígido de tal material, além de garantir integridade e permitir ocorrência de diversos processos metabólicos pelo organismo vegetal: celulose, hemicelulose e lignina. É importante ter-se em mente que os três compostos citados consistem em macromoléculas orgânicas geradas a partir da união de açucares simples, sendo que a primeira citada, respectivamente compreende-se como união de um grande número de meros de β -glicose, e desenvolve fibras de grande resistência mecânica e química. A hemicelulose, por sua vez, consiste em um conjunto de uma variedade de sacarídeos ligados, apresentando, além de glicose, xilose e manose, por exemplo. Consistem em moléculas significativamente menores que as de celulose, e garantem uma maior elasticidade ao material, impedindo um fácil rompimento das paredes celulares. A conexão entre ambas as espécies químicas, no entanto, é obtida com a lignina, a qual promove interação ótima das diferentes fases do compósito, além de conectar diferentes paredes celulares na estrutura da madeira. Tal substância garante, também, resistência a doenças, radiação UV e impermeabilização a água. A constituição comum de vegetais pode ser averiguada a seguir, na Tabela 1.

Tabela 1 - Média em massa de constituintes orgânicos de certos tipos de matéria-prima de biomassa

Matéria-prima	Celulose	Hemicelulose	Lignina
Madeira leve	40 - 44	20 - 32	25 - 35
Madeira pesada	40 - 44	15 - 35	18 - 25
Switchgrass	37	29	19
Trigo	38	29	15
Palha de milho	38	26	19
Miscanthus	43	24	19
Eucalipto	49	21	18
Agávia	78	6	13
Bagassos	49	31	19

A lignina consiste em uma molécula copolimérica amorfa e com ligações tridimensionais entre seus constituintes monoméricos, os quais são classificados como fenilpropanos, sendo exemplos destes os álcoois cumarílico, coniferílico e sinafílico. É possível averiguar-se, na Figura 10, tais compostos, bem como a proporção em que se encontram na fração total de lignina para cada tipo de matéria vegetal.

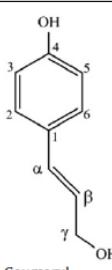
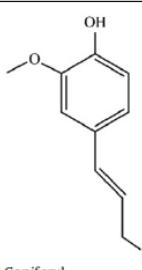
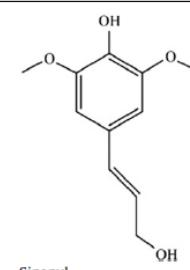
Structure	Lignin (wt%)	Phenylpropane unit (%)
		 <p>Coumaryl</p>
Softwood	27-33	—
Hardwood	18-25	90-95
Grasses	17-24	5
		 <p>Coniferyl</p>
		50
		75
		 <p>Sinapyl</p>
		5-10
		50
		25

Figura 10 - Representações dos três tipos moleculares distintos os quais compõe a estrutura da lignina, sendo, da esquerda para a direita: álcool cumarílico, coniferílico e sinafílico. Fonte: (AZADI et al., 2013).

Tais monômeros conectam-se unindo-se o grupo funcional de três carbonos de uma molécula ao ciclo aromático de outra cadeia, o que se dá, em geral, por oxigênios, produzindo-se, assim, éteres.

2.3.3. Polpação Kraft – produção de Licor Negro

A produção atual de papel, no entanto, procura desenvolver tal produto com o único uso majoritário de matéria celulósica. Sendo assim, é fundamental a aplicação de metodologias as quais permitam o isolamento de tal composto da hemicelulose e da lignina, o que é feito a partir de vias mecânicas ou químicas, sendo possível ainda o uso de metodologias híbridas. Assim, após extração de madeira a partir de florestas

em geral replantadas, os troncos são descascados e picados, sendo realizado o processo de polpação para a devida extração das fibras de celulose. Em tal etapa, as fibras são separadas, de modo a ser possível dispersá-las em soluções aquosas para posterior rearranjo em estruturas semelhantes a teias. Em geral, vias químicas são mais aplicadas, visto a melhor capacidade de separação da lignina e hemicelulose das fibras de celulose, uma vez que desenvolvem, desse modo, produtos mais resistentes, podendo ser aplicados em funções as quais exijam maior resistência mecânica. Apesar da importância tecnológica dos diversos processamentos os quais são aplicados para o desenvolvimento de polpação, apenas o processo kraft será descrito, visto seu intenso uso para produção de papéis de grande resistência mecânica, essenciais para a produção de embalagens em geral.

O processo de polpação kraft, consistindo em uma via completamente química para a obtenção de celulose, permite a ocorrência de tal processo a partir da dissolução da madeira por sulfato e hidróxido de sódio. Desenvolvido no final do século XIX, na Alemanha, e aplicado industrialmente apenas em 1915, nos Estados Unidos, tal método usa de um meio fortemente básico – pH equivalente a 12 –, temperaturas entre 160 e 180°C e pressões próximas de 800 kPa para a dissolução quase completa da lignina presente na massa vegetal em reatores de digestão (BAJPAI, 2018a). O processo kraft é capaz de desenvolver, assim, fibras de boa qualidade com alta cinética do processo, bem como a larga aplicabilidade, uma vez que qualquer tipo de madeira pode ser assim processado, e grande eficiência vinculada a reobtenção de compostos utilizados na polpação. Sendo assim, consiste em um dos principais métodos aplicados no mundo, sendo responsável, por exemplo, de 80 % da produção norte americana, apesar do alto investimento inicial a ser aplicado para sua implementação (TSVETKOV; SALGANSKII, 2018).

A madeira picada é, em geral, umidificada primeiramente e aquecida com vapor de água, o que ocorre paralelamente a natural expansão da matéria, gerada pelo aquecimento do ar presente na estrutura. Tal processo é seguido pela saturação do material com licores os quais contenham sulfato e hidróxidos, o que se dá em altas pressões e temperaturas para aumentar-se a velocidade do processo, o qual se dá principalmente por capilaridade. Permite-se, assim, que o processo de cozimento da madeira seja executado, consistindo este na dissolução progressiva da lignina e hemicelulose. A parcela não dissolvida, consistindo principalmente em celulose, é,

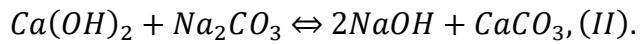
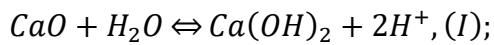
então filtrada e lavada, seguindo para etapas sucessivas vinculadas a obtenção do papel. A parte filtrada, por sua vez, consiste em uma suspensão aquosa de lignina, carboidratos, ácidos orgânicos, carbonato de sódio, sulfato de sódio e entre outros sais inorgânicos, sendo denominada licor negro. Teores de compostos de lignina nesse resíduo podem alcançar valores distintos, dependendo do tipo de papel a ser desenvolvido e da matéria-prima utilizada, variando de 29 a 45 % para produtos mais delicados e 8 a 16 % para papelões (TSVETKOV; SALGANSKII, 2018), enquanto que os teores de lignina no licor negro gerado a partir de madeiras mais duras é, em geral, mais baixo que o de madeiras mais elásticas. Além disso, a lignina presente nesse resíduo apresenta diferenças químicas significativas quando comparada à presente naturalmente na madeira, contendo uma quantidade de ligações cruzadas muito inferior (TRAN; VAKKILAINNEN, 2012).

2.3.4. Licor Negro – Um revés ambiental

A presença de sulfatos e hidróxidos em altas concentrações no licor negro desenvolve graves questões ambientais, as quais não foram totalmente sanadas, até o momento. Visto sua composição, tal material não pode ser deliberadamente descartado no ambiente, sendo necessárias diversas etapas de tratamento para tanto, o que encarece significativamente o processo. Além disso, cerca de sete toneladas de tal mistura são produzidas em vista de se obter uma tonelada de polpa de celulose, o que torna, portanto, o volume de saída obtido alarmante, visto a larga aplicabilidade do processo kraft e a demanda crescente por papel, a qual foi anteriormente descrita. Sendo assim, tal resíduo consiste em um grande impasse da indústria papeleira atual, a qual procura lidar por meio de técnicas de fim de tubo. São desenvolvidos, assim, metodologias de tratamento para reobtenção dos sais utilizados no processo de polpação, o que é denominado recuperação do licor. Nesse, o licor é concentrado por meio da aplicação de sistemas de evaporação, como de cascata, de filme em queda, e entre outros, elevando-se o teor de sólidos de 15 % – como é, em geral, encontrado – para 60 a 80 % (BAJPAI, 2018b). Assim, é possível queimá-lo em recuperadores de calor em vista do aquecimento de reatores, o que torna-se vantajoso, visto a presença em grandes concentrações de material orgânico, sendo possível, por exemplo,

alcançar-se temperaturas de chama próximas de 1300°C para licores com 65 % de teores de sólidos, sendo anualmente queimados cerca de 1,3 bilhões de toneladas de licor negro (TSVETKOV; SALGANSKII, 2018). Distintos produtos são formados ao realizar-se a queima do material devido a presença de sais distintos, como o sulfeto de sódio e carbonato de sódio.

A massa restante de cinzas é, então, solubilizada com água, sendo processados em vista da obtenção de hidróxido e sulfato de sódio, os quais são reaproveitados no processo de polpação. Aparentando uma coloração esverdeada, é denominado licor verde, e é unido a óxido de cálcio, sendo possível regenerar-se hidróxido de sódio. Tal conversão é possível visto que o óxido mencionado anteriormente reage com a água, desenvolvendo hidróxido de cálcio, o qual, por sua vez, é responsável por interagir com o carbonato de sódio, produzindo-se, assim, o hidróxido de interesse. As reações escritas são apresentadas a seguir (BAJPAI, 2018b):



O processamento de tal resíduo, no entanto, é significativamente perigoso, visto a alta reatividade dos sais, os quais são captados ainda líquidos dos fornos de recuperação, devendo entrar rapidamente em contato com água para evitar-se quaisquer reações possíveis. Além disso, diversos problemas operacionais são recorrentes em tal via de tratamento do rejeito, como corrosão de tubulações, rompimento de reatores, ineficiência de processos, produção em grande quantidade de fuligem e entre outros.

Contudo, as emissões obtidas a partir da recuperação do licor negro consistem, ainda, em um problema mais significativo, especialmente quando tem-se em mente um progressivo incremento nas exigências das legislações ambientais. Nestes pontos, a etapa de recuperação é grande responsável por emissões atmosféricas, em especial, de particulados, gerados durante a queima do licor, a captação dos sais líquidos e nos fornos de reobtenção de CaO a partir de Ca(OH)₂. Gases de enxofre reduzido, como H₂S, de dióxido de enxofre e de NO_x, por sua vez, são produzidos, em geral, na etapa de concentração do licor, sendo o último evoluído durante a queima do resíduo. A produção de HCl, amônia, monóxido de carbono, metanol e entre outros

representam outras preocupações ambientais, sendo gerados em etapas diversas do tratamento. Outra questão de grande importância consiste na produção em larga escala de diversos efluentes líquidos, os quais devem ser armazenados de modo correto e tratados de forma correta, evitando-se sua liberação deliberada no meio. Em vista da redução do volume destes, procura-se utilizar-se ao máximo a água obtida a partir da condensação de vapores, devendo-se, para tanto, realizar-se etapas de limpeza destes, em vista da eliminação de compostos os quais sejam carregados com as moléculas de água, e os quais apresentam grande potencial de degradar os aparelhos utilizados no processamento do licor (BAJPAI, 2018b).

Tal fato é ainda mais significativo quando as substâncias referidas, por características de processo e da planta em questão, acumulam-se com o tempo (BAJPAI, 2018b). Visto que os sais utilizados no processo kraft são, em grande parte, reciclados, determinados elementos provindos de variações da matéria-prima não são eliminados por quaisquer etapas de tratamento do licor negro, acumulando-se conforme os ciclos de reciclagem são executados, como ocorre com potássio e cloro. O metal alcalino desenvolve uma redução significativa na temperatura de fusão dos sais, influenciando no processamento dos fornos de recuperação. Além disso, tal elemento desenvolve forte redução no tempo de vida de equipamentos utilizados no processo, o que pode ser agravado pela presença de cloro. Outros elementos, como alumínio e silício acumulam-se no sistema, podendo entupir tubulações entre outros, ou até mesmo reduzir a qualidade dos sais reobtidos. Observa-se, assim, grande esforço por parte das indústrias papeleiras em reduzir-se a ocorrência de perdas produtivas ou econômicas vinculadas aos problemas apresentados, o que torna a realização de tais medidas altamente custosas.

2.3.5. Lignina de Licor Negro – Material de grande potencial

Paralelo a isso, uma observação mais crítica da composição do licor negro torna questionável o atual uso do resíduo: a lignina, grande responsável pelo alto poder calorífico, apresenta grande potencial de aplicação visto sua reatividade e estrutura. Conforme foi anteriormente verificado, a lignina pode ser considerada uma molécula de grande complexidade, visto seu caráter polimérico irregular (TSVETKOV;

SALGANSKII, 2018), de modo que sua extração do licor se torna complexa, e, em geral, acarreta em modificações de sua estrutura. Sendo assim, visto a variedade de metodologias desenvolvidas para a produção de tal composto, bem como para sua extração, tal substância pode ser encontrada com uma larga variedade de composições, sendo, em grande parte, aplicada para a produção de lignossulfonados, sendo produzidos anualmente cerca de 1325 mil toneladas mundialmente, em termos de material seco. Tal procedimento é desenvolvido, em geral, a partir da acidificação do licor, processo que permite precipitação de compostos derivados da lignina pela protonação de grupos fenólicos com o uso de gás carbônico e ácido sulfúrico (TSVETKOV; SALGANSKII, 2018). Esse processo permite a obtenção de um particulado marrom escuro, sendo solúvel em soluções aquosas alcalinas, bem como em solventes orgânicos, a exemplo de acetona, dioxanas, e entre outras. Cerca de 85 % de tal precipitado corresponde a material orgânico provindo das moléculas originais de lignina, cuja estrutura varia de acordo com o pH obtido no processo. Contudo, em geral, tais compostos apresentam alta toxicidade, o que pode ser notado pela presença de sais gerados a partir de ácidos lignossulfonados de amônia, sódio e cálcio. Tal processo apresenta, também, um custo médio de 110 a 160 reais por tonelada de material produzido (KUMAR et al., 2009).

Visto a metodologia atualmente utilizada para tratamento de tal material, é possível perceber-se a necessidade de desenvolvimento de processamento posterior objetivando-se a viabilização do uso de tal material para aplicações diversas, dada a grande presença de impurezas, sua heterogeneidade e toxicidade. Sendo assim, metodologias as quais permitam fermentação, filtração e precipitação a partir de tratamentos químicos são muito aplicados. Desse modo, os compostos de lignina obtidos podem passar por modificações químicas, como polimerizações, sulfonações, oxidações e entre outras em vista de aplicações diversas para a construção civil, mineração, área metalúrgica, extração de óleos, tratamento de águas e indústria agrícola. A exemplo disso, cerca de 50 % de lignossulfonados gerados é aplicado como na produção de cimentos e concreto (TSVETKOV; SALGANSKII, 2018). Parcela deste é aplicada, ainda, como agente ligante na produção de aglomerados na indústria metalúrgica, bem como componente de lama de perfuração, agente estabilizador de emulsões e agente de barreira para crescimento de cristais em baterias, efeito deletério nestas.

A lignina provinda de licor negro apresenta, ainda, potenciais aplicações mais tecnológicas, as quais torna possível, dentro de determinados limites, a valorização do resíduo e de seu pós-tratamento. Técnicas de encapsulação a partir de ultrassom foram utilizadas para uso de lignina como material de barreira, sendo necessário, para tanto, alto peso molecular e alta reatividade do composto aplicado. O polissacarídeo reobtido foi aplicado, também, para a adsorção de íons multivalentes em água, além de absorção, quando nanoparticulado, de radiação ultravioleta. Tentativas mais recentes foram realizadas, por sua vez, em vista da aplicação de lignina de licor negro como matéria-prima para produção de fibra de carbono, material altamente tecnológico e de alto valor de mercado. Foi possível, a partir de metodologias de wet e dryspinning de lignina quimicamente modificada, o desenvolvimento de fibras de alto teor carbonoso, evitando-se a liberação de produtos altamente tóxicos na etapa necessária de carbonização (NORGREN; EDLUND, 2014). Ainda no setor têxtil, mantas não-tecidas de nanofibras geradas a partir de tal material foram obtidas por eletrofiação.

2.3.5.1. Lignina como reagente de resinas fenólicas

Outra aplicação vinculada a alta tecnologia consiste no uso de tal lignina como matéria-prima para obtenção de resinas fenólicas, muito empregadas na produção de adesivos e compósitos. Tais polímeros termorrígidos, definidos como a primeira classe de materiais produzidos com matéria-prima sintética, sendo primeiramente apresentados comercialmente em 1902, têm como grande representante a baquelite, e ainda encontra grande aplicabilidade na atualidade (IBEH, 1939). São utilizados na produção de compósitos fibrosos, como aglomerados de madeira, e utilizados em aplicações de fricção, como rebolos, lixas e entre outras ferramentas abrasivas. São encontradas, também, como partes refratárias de utensílios – cabos de panelas, por exemplo – isolamentos acústicos, componentes resistentes a ambientes ácidos, e até mesmo para a fabricação de espumas poliméricas e carbonosas (IBEH, 1939). Essa última aplicação é de grande interesse ao trabalho em questão, e será novamente mencionada, em mais detalhes, futuramente.

Visto a grande semelhança entre moléculas de fenol e de monômeros da lignina, estes últimos, respectivamente, podem ser utilizados no desenvolvimento de reações semelhantes para a produção da resina mencionada acima. Para tanto, é comum o uso paralelo de resorcina, agente que reduz a energia de ativação das reações de condensação desenvolvidas, não sendo necessária a aplicação de altas temperaturas ou altas pressões (LI et al., 2017). Em meios básicos, semelhantes ao do licor negro, moléculas de fenol são ionizadas, sendo capazes de reagir, ao formar um intermediário estável, com formaldeído, a partir do mecanismo indicado na Figura 11.

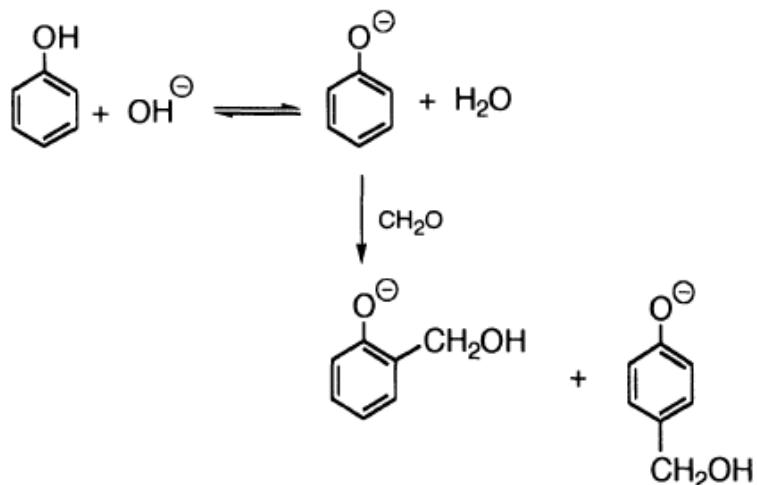


Figura 11 - Imagem representativa relacionada ao principal mecanismo que torna grupos fenólicos reativos em meios básicos. É importante ter-se em mente a grande densidade de tais grupamentos em moléculas de lignina de licor negro. Fonte: (GARDZIELLA; PILATO; KNOP, 2000).

A partir de tais reações, formam-se ânions de caráter químico semelhantes ao orto e ao para-hidroximetil-fenol, íons estáveis, sendo este último o mais comum. É importante notar, no entanto, que, devido a grande variedade química existente com relação às moléculas de lignina presentes no licor negro, um menor número de posições favoráveis à ocorrência do mecanismo em questão estão disponíveis para ocorrência deste. A Figura 12 apresenta modelos teóricos os quais indicam o tipo de molécula orgânica a qual se denomina lignina kraft e que são verificadas no resíduo em questão. A partir desta, é possível notar o alto peso molecular de seus componentes, entre 1000 e 3000 g/mol (CRESTINI et al., 2017), vinculado a presença de grandes quantidades e variedades de grupos funcionais, os quais geram repulsão

estérica associada, também, a uma baixa reatividade do composto. Isso justifica o desenvolvimento de reações de despolimerização em tais componentes antes de seu uso por alguns grupos de pesquisa, apesar do alto custo do processo.

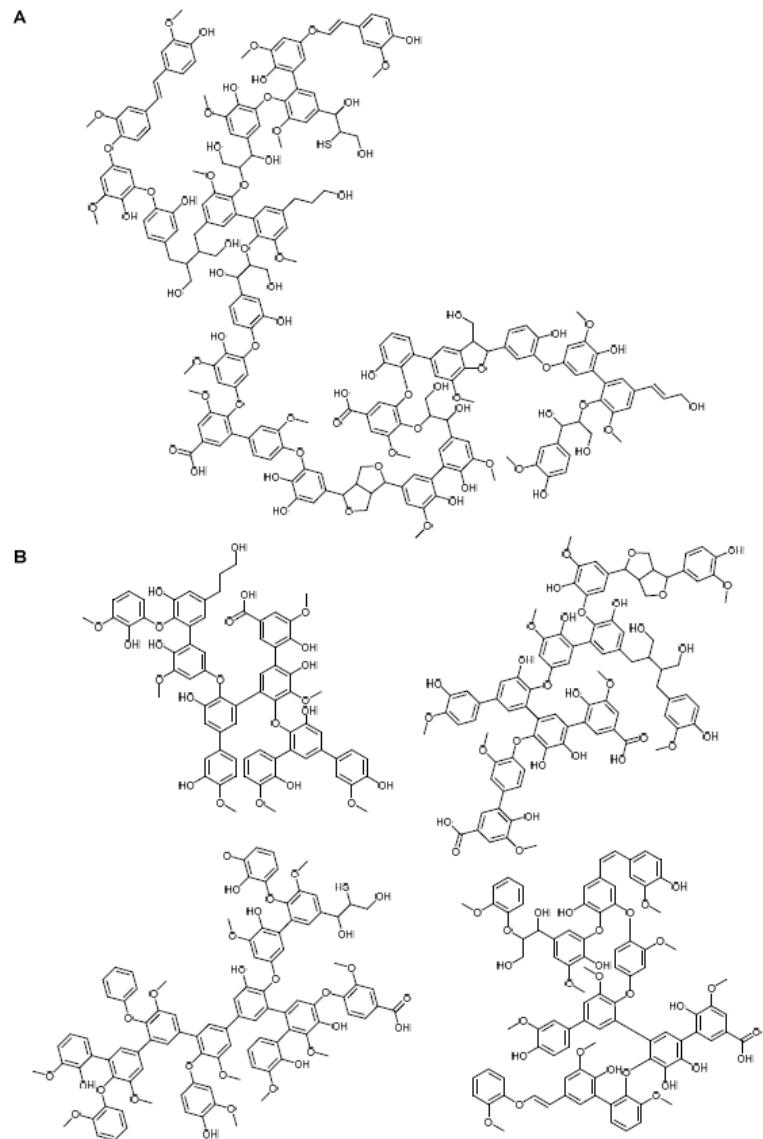


Figura 12 - Representação de constituintes macromoleculares cuja estrutura é estipulada a partir de estudos quantitativos de análise química da estrutura da lignina de licor negro. Fonte: (CRESTINI et al., 2017).

A presença, no meio, de grande quantidade de formaldeído, desenvolve, mais reações em posições orto e para das moléculas de hidroximetil-fenol, bem como a formação de dímeros, o que também se dá para os compostos de grande porte verificados na lignina kraft, quando as posições estão disponíveis. A Figura 13 indica a formação dos diversos monômeros presentes para a geração da resina em questão.

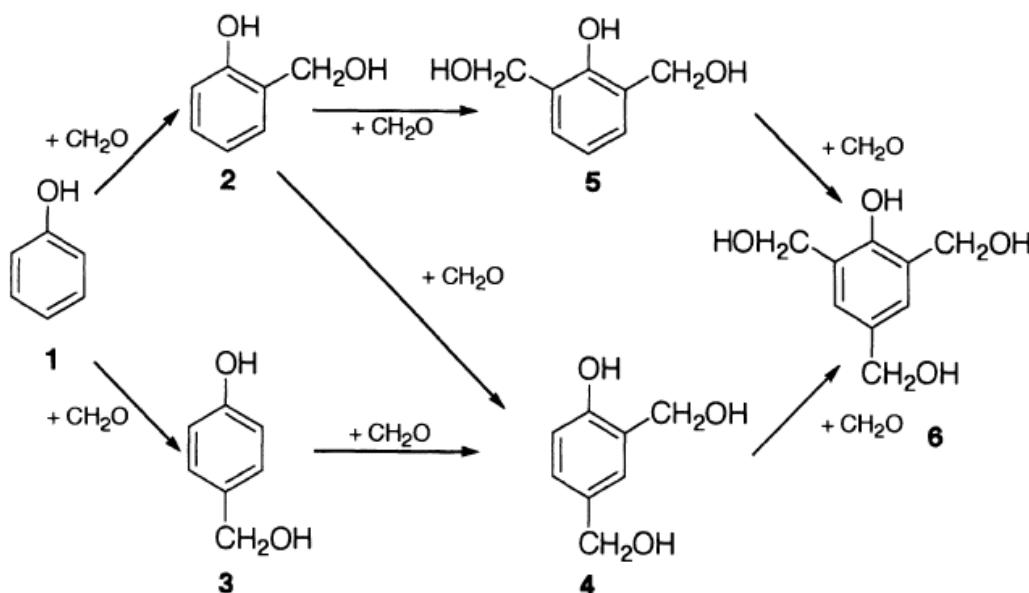


Figura 13 - Representação de diferentes mecanismos de reação entre formaldeído e grupamentos fenólicos, os quais ocorrem até serem exauridos os sítios reativos do ciclo aromático. Fonte: (GARDZIELLA; PILATO; KNOP, 2000).

Sendo assim, nota-se, neste ponto, que a quantidade de formaldeído presente no meio e, em especial, a razão molar entre este e os grupos moleculares capazes de reagir consiste em um fator determinante tanto na cinética de reação como nas características físicas e químicas do polímero obtido. Tanto para resinas fenólicas usuais como as geradas a partir de lignina kraft, utiliza-se uma razão superior a 1, o que dá a origem a sistemas reativos denominados resóis. As reações de união dos monômeros ocorrem liberando moléculas de água e de formaldeído, em alguns casos, formando pontes de éter – para ambientes mais ácidos – ou de metil (SIDDIQUI; CHARLES XU; SUPERVISOR AJAY RAY, 2013). A união de monômeros de hidróximetil fenóis variados é indicada na Figura 14, e demonstra alguns dos diversos mecanismos de reação vinculados à formação da resina fenólica.

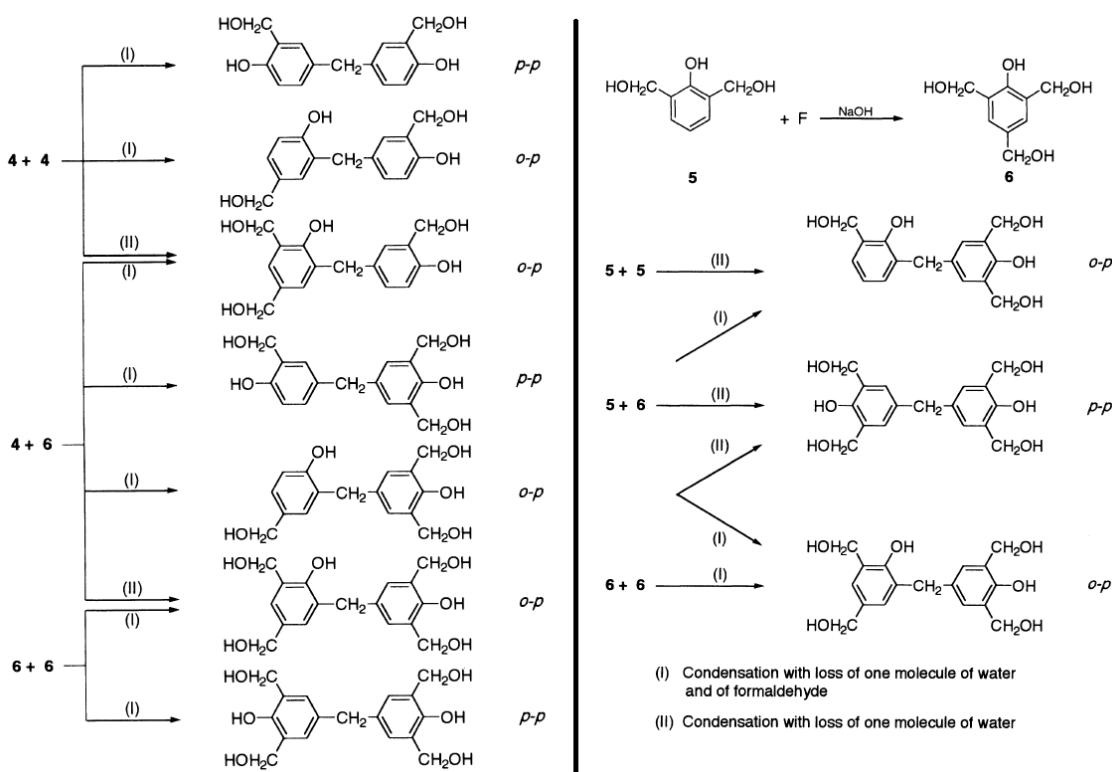


Figura 14 - Diferentes mecanismos e produtos de reação verificados em ambientes resóis. Os índices dos reagentes equivalem à numeração verificada na Figura 13. Fonte: (GARDZIELLA; PILATO; KNOP, 2000).

A baixa reatividade citada anteriormente e a qual é característica da lignina kraft pode ser contornada por meio de, além do uso custoso de tratamentos de despolimerização, da substituição parcial do reagente natural por um sintético de alta reatividade, como o resorcinol, ou 1,3-dihidroxi-benzeno. A alta reatividade da substância em questão é geralmente associada a sua alta nucleofílidade (LI et al., 2017) desenvolvida a partir dos grupos álcoois existentes, os quais promovem uma maior densidade eletrônica no anel aromático. Sua atuação em um sistema em que se encontra presente compostos fenólicos, como a lignina kraft, é verificada como mero da resina. Tal processo se dá por meio de dois passos distintos, consistindo o primeiro na formação de intermediários do tipo quinonametídeos, o que ocorre por meio de eliminação de base conjugada ou por eliminação auxiliada por água. A Figura 15 apresenta os diferentes mecanismos envolvidos em tal etapa, bem como os produtos variados obtidos a partir destes.

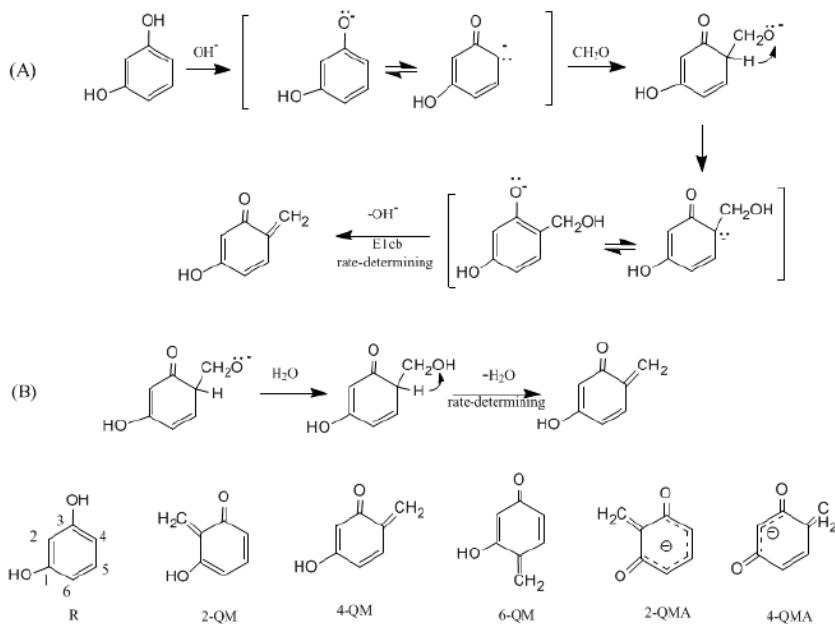


Figura 15 - Representação do mecanismo sugerido para a formação de quinonametídeos. Fonte:(LI et al., 2017).

A formação de tais intermediários estáveis tende para o aparecimento dos compostos 4-quinonametídio e 6-quinonametídio, os quais apresentam, também, maior reatividade, o que facilita a reação de policondensação. Esta, por sua vez, apresenta mecanismos variados, dependendo dos reagentes verificados no meio. A Figura 16 apresenta diferentes reações as quais são comumente verificadas na cura de resinas fenólicas com a presença de resorcíol.

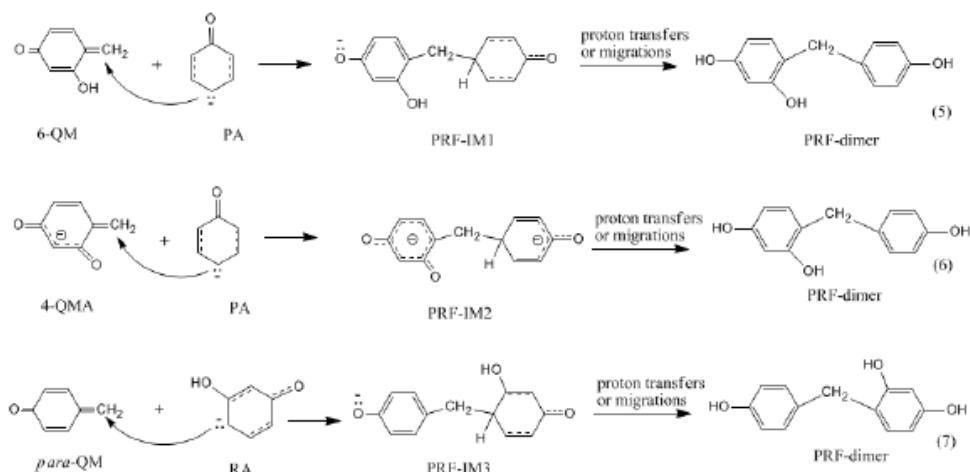


Figura 16 - Diferentes reações verificadas na presença de resorcíol, durante a cura de resinas fenólicas. RA - ânion resorcíol; R - resorcíol neutro. Fonte: (LI et al., 2017).

Assim, o uso de resorcinol unido a lignina kraft representa uma grande alternativa para viabilização da produção de resinas fenólicas a partir do licor negro. Para tanto, não seria necessária a realização de qualquer tratamento químico prévio da matéria-prima disponível, sendo dispensável, do mesmo modo, a aplicação de calor e pressão para a ocorrência da cura da resina. Sendo assim, torna-se possível o desenvolvimento de resinas fenólicas a partir de lignina kraft com um custo baixo e a partir de um processamento simples e eficaz. Isso torna a aplicação em questão muito adequada às atuais necessidades de desenvolvimento de melhor finalidade a um resíduo industrial de alta toxicidade e com significativo potencial de uso. Assim, metodologias de produção de materiais baseados no licor negro os quais utilizam tal via podem, da mesma forma, ser considerados mais sustentáveis, sendo possível substituição parcial ou total das antigas soluções adotadas até a realidade atual.

2.4. Métodos de Produção

Estudos iniciais relacionados a espumas de carbono datam da metade do século XX, e, desde então, diversas metodologias foram desenvolvidas para a obtenção de tais materiais, sendo cada uma vinculada a dado tipo de matéria-prima e aplicação. No entanto, tais métodos, em sua grande maioria, baseiam-se no princípio de aquecimento de compostos orgânicos precursores a altas temperaturas em atmosferas controladas. Desse modo, distintos processos, tanto físicos quanto químicos, desenvolvem-se no material precursor, eliminando-se grande maioria dos heteroátomos constituintes de tais compostos, permitindo-se, também, a reestruturação das cadeias orgânicas presentes restando, ao final do processo, um composto com estrutura semelhante à descrita anteriormente. Sendo assim, é possível obter-se espumas de carbono por meio do uso de precursores poliméricos, bem como por materiais carbonosos nanoestruturados, sendo possível a realização de procedimentos para obtenção de espumas compósitas ou dopadas. Tal processo pelo qual se obtém espumas de carbono denomina-se carbonização, e será melhor explanado em seguida. É possível, ainda, o desenvolvimento de outros procedimentos

para a obtenção de modificações superficiais ou de alterações estruturais, os quais sucedem a carbonização.

2.4.1. Produção por Molde

Metodologias utilizadas para a obtenção de espumas a partir de precursores poliméricos, tanto naturais como sintéticos, exigem a realização de etapas específicas para a produção de poros, possibilitando-se ajustar o tamanho médio destes conforme as necessidades vinculadas a aplicação. Para tanto, são utilizadas duas estratégias distintas: uso de moldes – ou modelos – ou por formação de bolhas, os quais se distinguem tanto pela simplicidade vinculada ao controle do tamanho final de poros como pelos fundamentos físicos e químicos aplicados. O primeiro citado, respectivamente, permite um grande controle da porosidade obtida e de sua morfologia, sendo que o tipo de molde utilizado está intimamente relacionado a tais parâmetros. Tal metodologia pode ser desenvolvida, então, a partir o uso de precursores já na forma de espumas, como é o caso de poliuretano, melamina e entre outros, na forma expandida (STOJANOVSKA et al., 2019). Do mesmo modo, determinados ordenamentos, como hidrogéis, de compostos orgânicos, a exemplo de proteínas específicas, podem ser empregados de modo a produzirem, quando aquecidos a altas temperaturas, espumas de carbono. Na Figura 17, pode-se observar a estrutura carbonosa de uma espuma desenvolvida pela pirólise de poliuretano expandido.

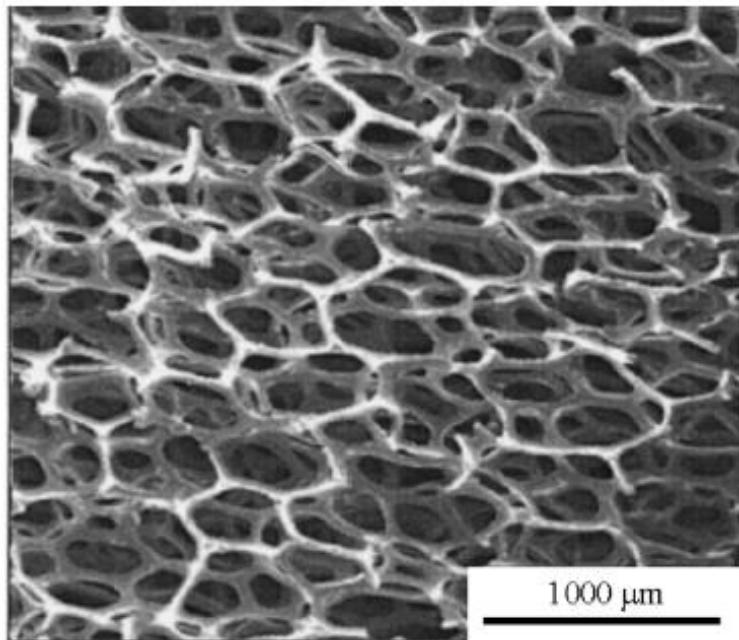


Figura 17 - Microscopia eletrônica de espuma carbonosa gerada a partir da carbonização de precursor de poliuretano expandido. Origem: (INAGAKI, 2015).

Uma forma alternativa de obter-se espumas por meio de modelos consiste em inserir-se na matriz polimérica dados compostos, denominados particulados de sacrifício (STOJANOVSKA et al., 2019). Caso o material utilizado para a produção da matriz polimérica seja um termorrígido, há a necessidade de aplicação destes durante o período de cura, realizando-se agitação do meio, quando necessário, de modo a permitir homogeneidade na distribuição de tais partículas, fator definitivo na definição das propriedades da espuma resultante. O particulado de sacrifício apresenta formas e tamanhos específicos, vinculados à sua aplicação e modo de produção, podendo ser estes tanto orgânicos como inorgânicos. A primeira classe de particulado, respectivamente, apresenta como exemplos muito utilizados pellets de polímeros, como poli(metil metacrilato), ou PMMA, poliestireno, ou PS, e blendas, como as de poliacrilonitrila e polivinil álcool. Tais componentes são, ao longo do aquecimento do material, eliminados por volatilização ou degradação das cadeias presentes. O particulado inorgânico utilizado, por sua vez, pode ser representado por zeólitas, sílica mesoporosa e espumas de material aluminossilicato, e até mesmo níquel metálico, sendo este último um dos mais aplicados. Sua extração, no entanto, exige o uso de solventes apropriados, o que pode encarecer o processo ou até limitar a aplicação do material restante, visto a possível toxicidade destes.

Tal metodologia permite controlar, de certo modo, o diâmetro dos poros obtidos, visto que apresentarão valores relativamente próximos àqueles das partículas utilizadas como moldes (STOJANOVSKA et al., 2019). Isso facilita o controle do processo produtivo, tornando-o mais aplicável à produção em larga escala de espumas de carbono. Além disso, o uso desse método de produção exige o uso de matérias-primas termofixas, de modo a manter-se uma distribuição homogênea do particulado ao longo da matriz sem necessidade de uso de metodologias ou ferramentas mais complexas. Desse modo, a aplicação de compostos fenólicos, em especial, lignina de licor negro, para a produção de resinas do tipo fenol-formaldeído, é possível, de forma a permitir o desenvolvimento de processos produtivos em escala industrial os quais atendam, em grande parte, as crescentes exigências ambientais em vista de uma maior sustentabilidade.

2.4.2. Produção por evolução gasosa

Vias de produção de espumas a partir da formação de bolhas, por sua vez, procuram desenvolver uma estrutura porosa enquanto a matriz encontra-se em estado de baixa viscosidade a partir da liberação de gases. Para tanto, utilizam-se compostos precursores os quais são responsáveis por, além de formar a matriz carbonosa, de produzir gases em sua estrutura, os quais coalescem e desenvolvem bolhas, também denominadas células (LEE; KIM; HYEON, 2006; NAGEL; PUSZ; TRZEBICKA, 2014). Para tanto, é necessária aplicação de condições específicas do meio, as quais exigem muitas vezes temperaturas e pressões relativamente altas. Tais metodologias exigem, assim, intenso controle das condições de contorno, além da pressão, temperatura e queda de ambas após o término do processo, bem como a quantidade de solvente existente. Outro meio de desenvolver-se espumas a partir da liberação de gases consiste no uso de agentes distintos dos precursores, para tanto. Estes são misturados à matriz polimérica, e, por meio de ação térmica ou reação natural, desenvolvem gases na estrutura, os quais novamente coalescem para a formação de células. Nesse caso, é comum o uso de soluções poliméricas, de modo a ebulir-se o solvente ou algum dos aditivos presente em vista da produção de uma espuma (INAGAKI, 2015).

É necessário, no entanto, um intenso controle na quantidade de aditivo utilizado, além na tensão superficial entre gás e matriz, o que pode ser obtido pela aplicação de modificadores na rede. São comumente usados como agentes produtores de gases piche, resinas fenólicas, tanino e sacarose, sendo pré-aquecidos a temperaturas suficientemente altas para a ocorrência da liberação da fase gasosa, obtendo-se, de início, uma espuma de material ainda não carbonizado, adquirindo tal caráter em um segundo processo de queima (INAGAKI, 2015). É necessário relatar, também, que, para a produção de espumas por formação de bolhas por pirólise do material precursor, deve haver uma pressão devidamente controlada, visto que consiste em um fator determinante na densidade final do material – quanto maior a pressão aplicada na etapa de desenvolvimento dos poros, maior a densidade obtida. Tal método permite desenvolver, especialmente quando aplicados precursores termoplásticos, o desenvolvimento de uma estrutura significativamente mais ordenada, em especial próximo a paredes de poros, visto o arraste mecânico gerado pela formação das bolhas durante o processo (NAGEL; PUSZ; TRZEBICKA, 2014).

2.4.3. Metodologias alternativas ou derivadas

Espumas de carbono obtidas a partir de materiais carbonosos estruturados são consequência do intenso desenvolvimento da nanotecnologia, e apresentam características de condutividade térmica e elétrica, bem como propriedades mecânicas controladas de modo significativo. Desse modo, tais materiais, sendo fruto de alta tecnologia, podem ser utilizados em funções altamente específicas, o que amplia ainda mais o uso de espumas de carbono, apesar de possuírem um valor agregado relativamente alto (STOJANOVSKA et al., 2019). São desenvolvidos a partir do uso direto de fibras ou nanofibras de carbono, bem como nanotubos de tal elemento e até mesmo grafeno. Utilizando-se a primeira forma de material citada, respectivamente, é possível obter-se espumas com formas e morfologias específicas, não sendo necessário o uso temperaturas muito significativas. É geralmente aplicado, para tanto, o método de formação restrita de nanoestrutura fibrosa, pela qual um precursor carbonoso gasoso é injetado em um molde de fibra, sendo transformado, com o auxílio de agentes catalíticos, em fibra de carbono, a qual cresce no molde. As espumas obtidas com esse processo podem apresentar estrutura variada, sendo esta

intensamente vinculada com propriedades mecânicas, térmicas e elétricas. A Figura 18 apresenta uma espuma obtida pelo método anteriormente descrito, sendo possível verificar-se o caráter maleável que tal material apresenta.

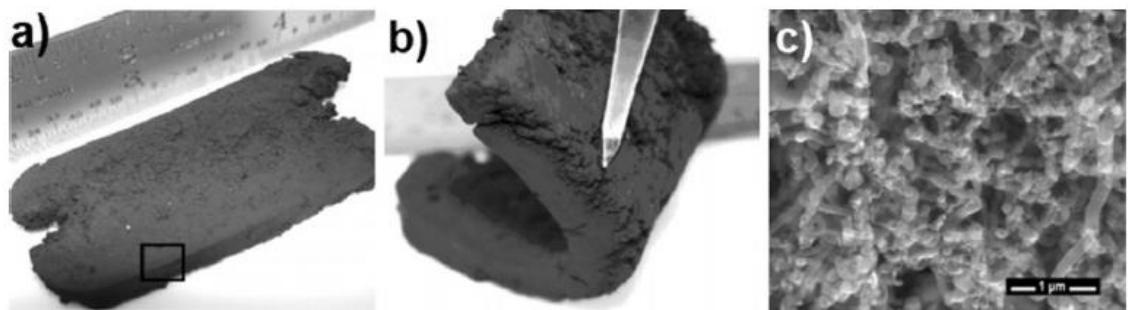


Figura 18 - Fotografias obtidas de espuma de fibras de carbono. (a) - como obtida; (b) - sofrendo deformação; (c) - microscopia eletrônica de varredura. Fonte: (STOJANOVSKA et al., 2019).

A produção de espumas baseadas em nanotubos de carbono, por sua vez, pode ser desenvolvida a partir de duas metodologias distintas, consistindo em separação de fases, por borbulhamento ou congelamento, e deposição em substrato (STOJANOVSKA et al., 2019). O primeiro método citado, obtenção por borbulhamento, ou separação gás-líquido, é realizado passando-se um gás por meio de suspensão polimérica com nanotubos previamente formados, sendo estes carregados, de modo a produzir uma espuma, consolidada após secagem do solvente. A produção por congelamento, ou separação sólido-líquido, por sua vez, é desenvolvida pelo resfriamento abaixo da temperatura de fusão de uma suspensão de nanotubos de carbono e polímero, sendo necessária a ocorrência de super resfriamento em vista de ocorrência da segregação do particulado carbonoso, o qual desenvolve uma estrutura porosa como fase sólida. A espuma é formada, então, por secagem e extração do solvente e do polímero, apresentando uma morfologia variável, a qual é influenciada por uma grande quantidade de parâmetros. A velocidade da frente de congelamento, bem como a taxa de resfriamento, e, consequentemente, os métodos de resfriamento alteram de modo significativo o tamanho dos poros, sendo menores quanto mais rápida a taxa de resfriamento. Temperaturas de processo e tipos de nanotubos utilizados também são relevantes quanto a estrutura final da espuma.

O uso de substratos para obtenção de espumas produzidas a partir de nanotubos pode ser realizado de dois modos distintos, sendo que um utiliza tal forma carbonosa já formada, enquanto que outro obtém a espuma com tais nanoestruturas a partir do crescimento destas no próprio substrato. A primeira via citada utiliza nanotubos de carbono em suspensão, realizando-se o resfriamento desta, de modo a promover-se o crescimento de estruturas de tal forma carbonosa a partir da superfície do substrato, o qual apresenta uma forma específica, requerida pela aplicação desejada. A produção de nanotubos a partir do substrato, por sua vez, apresentando este, como no caso anterior, a mesma estrutura necessitada no uso em questão, é realizada pela deposição por precursor gasoso em altas temperaturas e com auxílio de catalisadores. É necessário, em ambos os casos, desenvolver-se tratamentos posteriores para extração do substrato, ou devido aproveitamento deste para produção de material compósito, obtendo-se, após tal etapa, espumas com excelentes propriedades mecânicas e alta capacidade de adsorção, visto a grande área superficial presente. Representações dos três métodos descritos podem ser visualizadas na Figura 19.

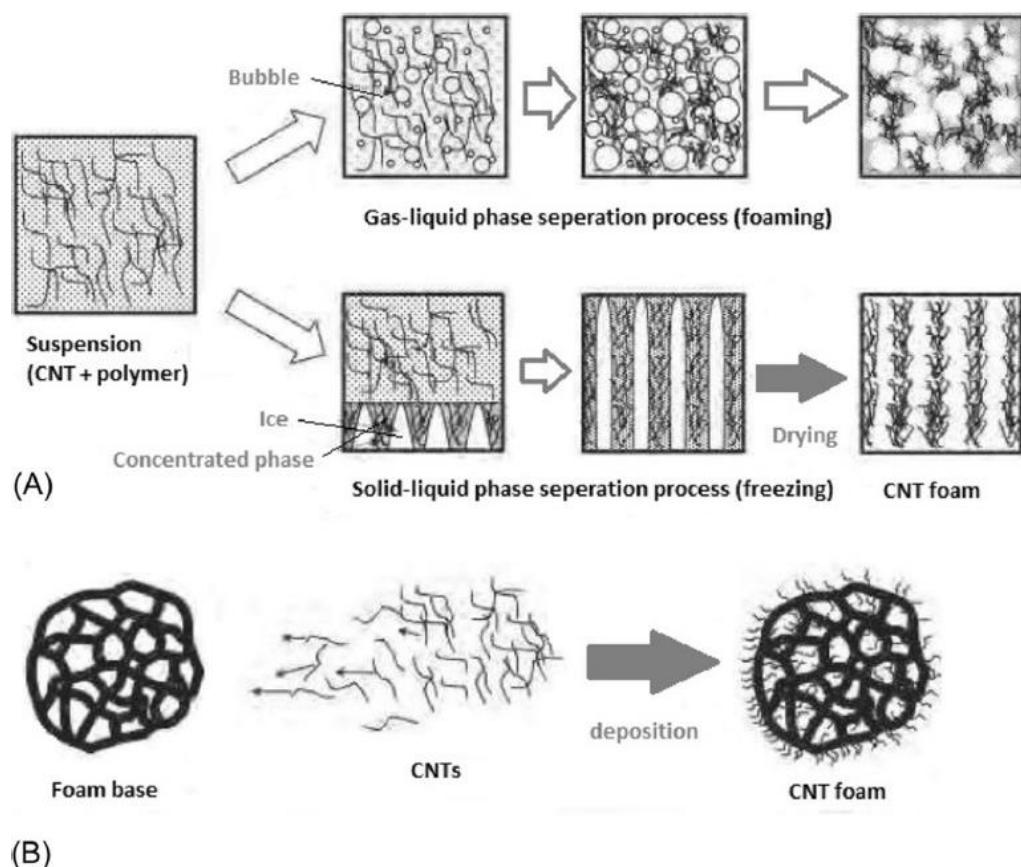


Figura 19 - Esquema apresentando as diferentes vias de obtenção de espumas de nanotubos de carbono, sendo possível obter-se, por cada uma, dado tipo distinto de espuma resultante. Fonte: (STOJANOVSKA et al., 2019).

O grafeno consiste em uma alternativa para a produção de espumas com qualidades altamente específicas, como baixo peso, alta porosidade e alta condutividade, tanto térmica quanto elétrica. Para a obtenção destas, pode-se utilizar metodologias de deposição química em fase vapor, ou CVD, além de vias como síntese solvotérmica na presença de nanoparticulado, síntese por auto-construção a temperatura ambiente, moldes de espumas e até mesmo impressão 3D (INAGAKI, 2015; STOJANOVSKA et al., 2019). O uso de processos do tipo CVD caracterizam-se pelo crescimento da espuma a partir de um substrato metálico, sendo este, em geral de níquel ou cobre, aquecidos a temperaturas próximas de 1000°C, em atmosfera inerte. Atingida a temperatura ideal de processamento, passa-se gás carbonoso pelo sistema – em geral, metano –, a certa taxa e por certo tempo, de modo a obter-se dado número de camadas de folhas de grafeno, com estrutura semelhante à descrita anteriormente. Terminado o processo, o substrato é dissolvido após aplicação de camada protetora na estrutura carbonosa obtida, a qual é também extraída, posteriormente. A vazão do gás, bem como sua concentração, consistem em variáveis preponderantes na determinação do número de camadas obtidas, sendo que diversas propriedades são afetadas pela fonte carbonosa, temperatura de processo e velocidade de resfriamento (STOJANOVSKA et al., 2019).

Como citado anteriormente, outras metodologias são, também, utilizadas para obtenção de espumas desenvolvidas a partir de grafeno, como é o caso do uso de substratos de sílica modificada (STOJANOVSKA et al., 2019). Tal material apresenta, ligado em sua superfície, grupos funcionais orgânicos, os quais atraem folhas de grafeno, altamente hidrofóbicas, em uma suspensão aquosa, desenvolvendo-se uma estrutura a qual é calcinada e tratada com ácido fluorídrico. Desse modo, regiões onde antes estavam presentes esferas de sílica consistem em células vazias, tendo-se, a produção de uma espuma. Um resultado análogo pode ser obtido a partir do uso de uma solução de grafeno e nanotubos de carbono, a qual é tratada em alta temperatura – próximo de 250°C – e por período relativamente longo – de 36 horas. Tais materiais carbonosos desenvolvem, então, uma estrutura complexa, a qual, após secagem por liofilização, compõe a espuma. Outra metodologia de interesse consiste no uso de uma técnica análoga a impressão 3D, utilizando-se um molde para os poros, assim, como a via por uso de substrato de sílica (STOJANOVSKA et al., 2019). Tal molde,

de caráter em geral metálico, é tratado de modo a ter conectado, em sua superfície, grupamentos orgânicos, sendo alocados em um anteparo e tratados por feixe de laser de CO₂, o qual carboniza tais grupos, sendo rearranjados em estrutura equivalente da apresentada por folhas de grafeno a partir de resfriamento rápido. O substrato é, então, extraído por meio de solubilização, obtendo-se, assim, uma espuma de grafeno com porosidade altamente controlada. Novas camadas são produzidas a partir da deposição de uma nova camada de tal substrato recoberto acima do já tratado pelo laser.

Espumas de carbono podem ser obtidas, ainda, tendo em sua estrutura ou superfície componentes ou grupos funcionais variados, e os quais conferem modificações significativas nas propriedades finais de tais materiais. Para tanto, são utilizadas metodologias as quais baseiam-se fundamentalmente ou na produção de tal material carbonoso junto de tais grupos funcionais pela carbonização de matéria contendo o elemento químico desejado ou no uso de substâncias que, durante o desenvolvimento da esponja, liberem gases os quais sejam capazes de dopar a superfície desta. A primeira via pode ser desenvolvida a partir do uso de substâncias precursoras as quais apresentem em sua composição o elemento químico de interesse. Esse, a partir dos fenômenos verificados durante a carbonização e, dependendo dos parâmetros utilizados nesta, poderá estar presente em dada concentração tanto internamente como na superfície da espuma produzida. São exemplos disso materiais carbonosos desenvolvidos a partir de esponjas de melamina, constituídas, inicialmente, de fibras as quais mantém sua estrutura após carbonização, além de grande concentração de nitrogênio. Do mesmo modo, espumas de carbono dopadas podem ser obtidas a partir da degradação de agentes precursores unidos a componentes os quais apresentem os elementos químicos desejados na espuma, sendo que tais estruturas não são responsáveis pela formação da estrutura do material. Tal metodologia pode, ainda, ser unida a outras já descritas anteriormente para obtenção da estrutura desejada para a espuma (NAGEL; PUSZ; TRZEBICKA, 2014; STOJANOVSKA et al., 2019).

2.5. Carbonização – um passo em comum

Como foi dito anteriormente, tendo-se os materiais precursores em mãos, é necessária a realização da carbonização destes, processo que é realizado do modo a controlar-se de modo intenso determinados parâmetros, como composição atmosférica, fluxo do gás de entrada no forno, temperatura e pressão aplicadas e taxas de aquecimento e resfriamento. Utilizando-se fornos de atmosfera controlada, é possível aquecer-se tais materiais precursores a temperaturas entre 700 e 900°C, sendo em sua grande maioria, como visto anteriormente, macromoléculas. Por ação da energia térmica, as moléculas decompõem-se, o que ocorre, inicialmente, pela evolução de gases e líquidos de baixa massa molecular. Tais substâncias, denominados muitas vezes de voláteis, são geralmente originados das reações de decomposição desenvolvidas pelas moléculas que originalmente compunham o material.

Essa decomposição é contínua, ocorrendo conforme o processamento térmico é desenvolvido, eliminando estruturas ainda pouco estáveis, permitindo, assim, a permanência daquelas mais resistentes ao calor. A eliminação se dá pelo progressivo rompimento de cadeias carbônicas, desenvolvendo alcatrões, os quais residem, em geral, na superfície e saídas de poros internos, de modo a muitas vezes reduzir a área superficial útil da espuma. A continuidade do processo permite que átomos de oxigênio anteriormente presentes no material e posteriormente eliminados pela ação do calor, sejam adsorvidos pela superfície carbonosa o material restante, reagindo com o alcatrão criado, de modo a oxidá-lo e eliminá-lo (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). É importante lembrar-se que processos desenvolvidos em baixas temperaturas fazem com que a etapa de reação entre alcatrão e espécies gasosas oxigenadas torne-se a mais demorada, exercendo grande influência sobre a cinética do processamento, o que não ocorre em altas temperaturas. Nestas, a difusão de espécies gasosas, como oxigênio, não é capaz de suprir a demanda pela decomposição do alcatrão, o que propicia um controle cinético pelo processo difusivo citado.

Durante a carbonização, ocorre, ainda, a movimentação de átomos de carbono pela rede por distâncias menores que 1 nm, em vista de atingir posições mais estáveis,

o que, em geral, permite o desenvolvimento da estrutura hexagonal anteriormente descrita neste trabalho (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). Tal processo ocorre preferencialmente acima de 800°C, fazendo com que espaços anteriormente existentes pela saída de grupos funcionais menos estáveis fossem parcialmente preenchidos por átomos da rede cristalina. Desse modo, existe um valor máximo de temperatura de processamento, ou tratamento térmico, (HTT) para o qual se obtém um máximo de volume vazio no material, correspondendo tal ponto àquele que se tem maior área superficial da espuma, sendo este requisitado para uma grande variedade de aplicações. Exemplos de tal fato podem ser verificados na Figura 20, onde se observam máximos de área superficial para duas espumas desenvolvidas a partir de polímeros distintos.

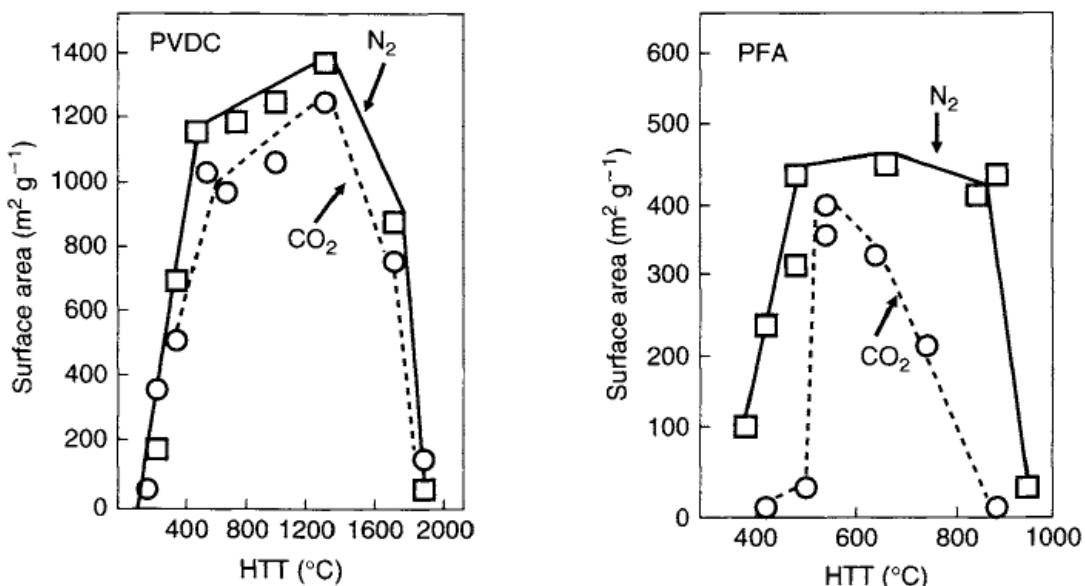


Figura 20 - Gráficos obtidos a partir da análise da variação de HTT para dois tipos de materiais distintos: cloreto de polivinilídeo (PVDC), à esquerda, e poli(álcool furfúlico), à direita. Fonte: (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006).

Após o término do processo, restam na estrutura, geralmente, apenas átomos de carbono ligados entre si em com hidrogênio remanescente do material de origem, formando o aglomerado com ordenamento variado de folhas típicas da de grafeno, como já amostrado. Visto o caráter progressivo com a temperatura de tal processamento, é possível afirmar-se que o arranjo obtido representa aquele desenvolvido até o último aumento da temperatura de tratamento térmico, como se fosse congelada a partir de tal momento. A variabilidade da estrutura carbonosa, no

entanto, deve-se, além dos métodos de obtenção dos materiais predecessores, da natureza estrutural e química destes. Isso se tem uma vez que diferentes substâncias parentas decompõem-se de modos distintos, criando estruturas pouco semelhantes geometricamente.

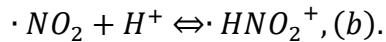
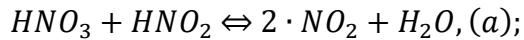
2.5. Modificações superficiais

A produção da estrutura de espumas carbonosas tem seu término após o tratamento térmico de carbonização e de ativação, caso seja requisitada uma área superficial de grandes proporções, a qual estaria vinculada ao desenvolvimento de micro e nanoporos. Contudo, o material obtido pode muitas vezes não ser totalmente adaptado à aplicação objetivada devido, principalmente, a aspectos físico-químicos de sua superfície, a qual é responsável, em geral, por grande parte das funções tecnológicas de tais materiais, como será futuramente abordado. Assim, em vista de adaptar as espumas carbonosas a funções diversas, é necessária a realização de processos de modificação superficial posteriores a sua obtenção, as quais alteram, de um modo geral, a energia e a química de superfície, permitindo que compostos específicos sejam adsorvidos ou dessorvidos com maior ou menor facilidade. Tais aspectos são preponderantes especialmente em aplicações vinculadas a captação de espécies químicas específicas em sistemas de limpeza de meios ou mesmo de sensores, bem como médicas, armazenamento energético, e entre outros.

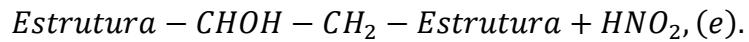
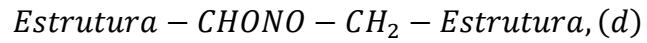
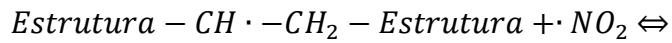
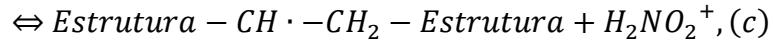
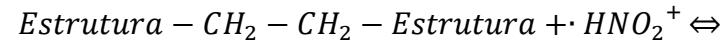
A modificação de aspectos superficiais é atingida, em geral, a partir da adição, na superfície, de grupos ligantes os quais contenham, heteroátomos, como oxigênio, nitrogênio, halogênios e entre outros. A partir da adição destes na forma de grupos funcionais diversos, a energia livre da superfície é modificada, o que implica na intensificação de tendências de adsorver ou dessorver determinados compostos do meio em que se encontram. Assim, modifica-se a carga elétrica do material no meio, fator o qual interferirá significativamente no modo como interagirá com substâncias variadas no meio. É comum observar-se, assim, modificações do grau de acidez da superfície, assim, como seu Potencial Zeta ou mesmo de carga neutra. Dependendo do processo aplicado ao material em sua produção, da matéria-prima presente e do tratamento superficial desenvolvido, um mesmo heteroátomo pode estar contido em

um grupo funcional ácido, básico ou mesmo neutro, o que é mais comumente verificado ao oxigênio.

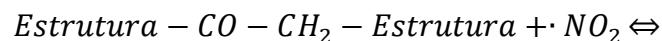
A Figura 21 apresenta representações de diferentes grupamentos químicos oxigenados na superfície de material carbonoso, os quais podem ser desenvolvidos por oxidação em meio tanto gasoso quanto líquido. Tais grupos seriam adicionados à estrutura conforme ligações entre carbonos fossem rompidas ou pelo desenvolvimento de substituição eletrofílica de átomos de hidrogênio, sendo necessário, para tanto, a formação de íons fortemente reativos, como o carbânion CH_2^- . Essas reações tornam-se mais facilitadas em espumas carbonosas não grafitizáveis, as quais contém, em sua superfície, uma quantidade significativa de posições carbonosas pouco estáveis, ou seja, com alta energia livre, em especial, em regiões próximas a extremos de planos carbonosos, além de grupos alifáticos ligados aos anéis de carbono. Caso tais grupamentos apresentem mais de um átomo de carbono em sua cadeia, há grande possibilidade de clivagem da ligação química C–C, o que ocorre a partir de ataques radicalares vinculados ao ácido nítrico, especialmente. Em altas concentrações, e junto de ácido sulfúrico, é verificado o desenvolvimento dos seguintes equilíbrios (VINKE et al., 1994):



O radical formado em (b), por sua vez, é responsável pelo ataque à estrutura carbonosa superficial, o que ocorre como demonstrado abaixo (VINKE et al., 1994).



Em tais equações, o termo “Estrutura” é usado para indicar a estrutura carbonosa das espumas. Além da adição de grupos funcionais à cadeia, podem ocorrer rompimentos desta, como amostra o mecanismo abaixo, possibilitado pela existência prévia de uma cetona (VINKE et al., 1994):



Tal radical reage posteriormente com água, em vista da formação de ácido carboxílico. É importante ter-se em mente que grupos hidroxílicos formados tendem a transformarem-se, conforme o material é exposto ao meio oxidante, em ácidos carboxílicos, sendo verificado um aumento na concentração destes.

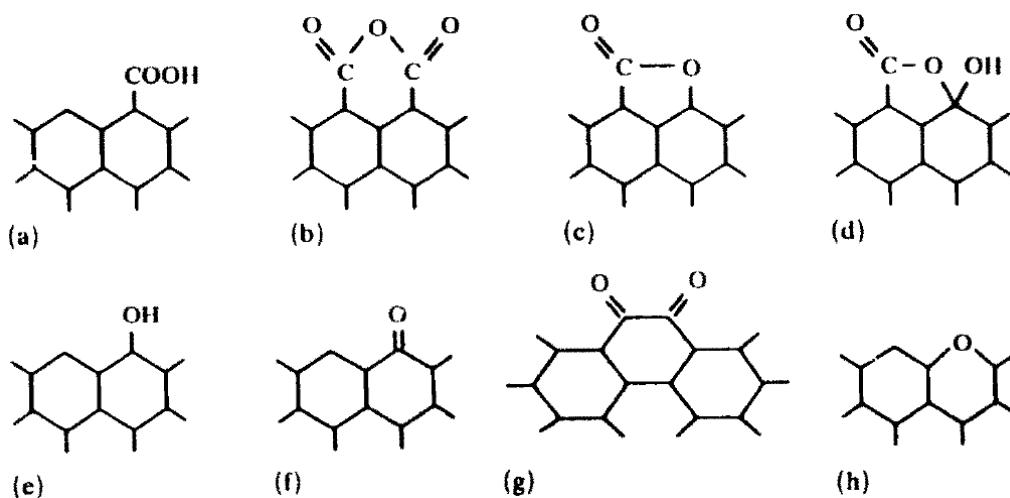


Figura 21 - Representações de diferentes estruturas químicas as quais podem ser encontradas em superfícies de materiais carbonosos. (a)-carboxila; (b)-anidrido de ácido carboxílico; (c)-lactona; (d)-lacto; (e)-hidroxila; (f)-carbonila; (g)-quinona; (h)-éter. Fonte: (BOEHM, 1994).

Podem surgir na superfície, ainda, grupos nitrogenados de caráter altamente ácido, como $-\text{NO}_2^-$, também podem ser gerados a partir de tais tratamentos, quando presente no sistema ácido nítrico (SHEN; LI; LIU, 2012). Contudo, é possível obter-se, na superfície, grupos nitrogenados de caráter básico os quais promovem uma maior interação do material com substâncias ácidas, além de intensificar, assim, como o oxigênio, o desenvolvimento de interações do tipo dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio. Tais grupos seriam obtidos a partir do tratamento do material com amônia

ou mesmo com o uso de materiais precursores os quais continham nitrogênio em sua estrutura, e são amostrados na Figura 22 de modo representativo.

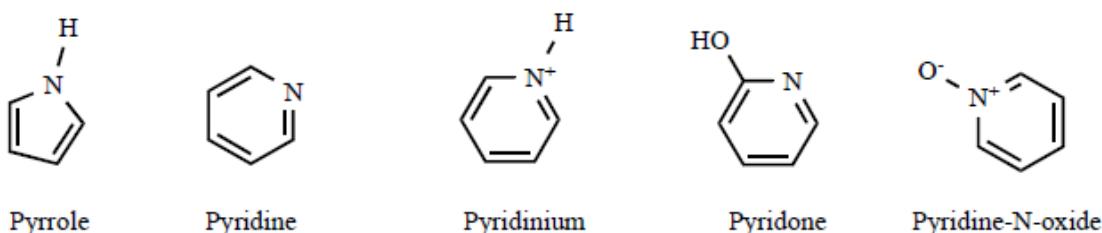


Figura 22 - Representação dos diferentes grupos funcionais de caráter básico os quais podem ser obtidos, principalmente, por tratamentos químicos com amônia. Fonte: (SHEN; LI; LIU, 2012).

É importante ter-se em mente, no entanto, que posições ativas da estrutura carbonosa as quais não estejam quimicamente ligadas a quaisquer grupos funcionais desenvolvem na superfície do material um caráter mais básico. Isso é decorrente da presença de elétrons π delocalizados, conforme descrito anteriormente, os quais tornam a região básica perante a denominação de Lewis (WIBOWO et al., 2007).

Conforme foi descrito anteriormente, tratamentos de espumas carbonosas com ácido podem ser desenvolvidas a fim de desenvolver-se grupos funcionais oxigenados na superfície, além de remover quaisquer materiais óxidos metálicos e aumentar o caráter hidrofílico desta. São utilizados, para tanto, ácido nítrico ou sulfúrico, os quais podem, dependendo do material tratado, desenvolver resultados razoavelmente distintos, uma vez que é possível obter-se grupos iônicos positivos a partir da aplicação de ácido nítrico. Contudo, é comum a obtenção de uma superfície mais ácida, podendo-se alcançar níveis 13 vezes superior ao valor verificado no material original. A aplicação de ácidos a tais materiais deve, em geral, ser sucedida por aplicação de bases ao meio em que se encontram ou de lavagens sucessivas, o que permite uma redução de pH, necessária para tornar possível o uso do material em aplicações mais específicas. Além de ácidos, pode-se aplicar hipocloritos, peróxido de hidrogênio, permanganatos, bicromatos e entre outros, os quais são capazes de desenvolver processos oxidativos mais brandos, e assim, mais controlados. O uso de tais reagentes, no entanto, deve ser feito aplicando-se um maior controle da temperatura do meio, visto que apresentam baixas temperaturas de decomposição. É necessário ter-se em mente que tais processos levam, em muitos casos, a uma redução da área superficial da espuma tratada, fator o qual pode ser prejudicial a

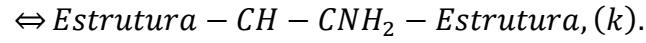
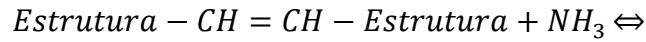
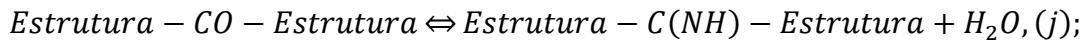
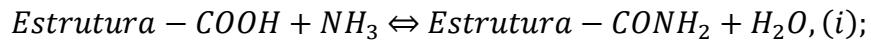
determinadas aplicações, caso não haja total compensação em de tal perda por meio do desenvolvimento de grupos funcionais ativos. Tal efeito é devido especialmente a formação de substâncias húmicas, as quais tendem a aglomerar-se na abertura de nano e microporos, de modo a bloqueá-los.

A concentração dos ácidos nas soluções de tratamento consiste em um fator muito significativo para o resultado de tais processos. Em geral, são aplicadas soluções ácidas de alta concentração, acima de 5 mol/L de ácido, mas foi possível observar que baixos valores de tal parâmetro são capazes de desenvolver modificações significativas e mais controladas, sendo possível obter-se uma remoção de impurezas, bem como o desenvolvimento de uma densidade de grupos funcionais ativos não muito intensa, o que permite maior controle do processo (LI et al., 2005). É possível obter-se, assim, a partir de tratamentos em concentrações até 5 % em massa de ácido, liberação de poros antes bloqueados por substâncias húmicas, de modo a verificar-se um incremento na área superficial da espuma tratada, bem como na porosidade total desta, além de uma perda de massa.

O processo pode ser desenvolvido em períodos de tempo distintos, levando a diferentes concentrações de grupos funcionais oxigenados ou nitrogenados, caso seja utilizado ácido nítrico e sulfúrico em altas concentrações. É importante ter-se em mente que, assim, que a concentração de dado grupo funcional variará, durante o tempo de processamento, de acordo com uma cinética de reação, e tenderá a um valor constante, visto que, conforme as reações ocorrem, são exauridas, no material carbonoso, posições superficiais de maior reatividade. Além disso, é fundamental a realização de procedimentos para a eliminação dos ácidos utilizados no procedimento, sendo necessário, para tanto, lavagens subsequentes com água destilada, em geral, até que esta apresente um pH neutro. Resultados de alguns estudos demonstram uma obtenção em maior concentração, a partir de tal método, de grupos ácidos carboxílicos e de superfícies positivamente carregadas, sendo o último efeito, respectivamente, devido à oxidação da superfície (AGARWAL; GARCÍA, 2019; BAZAKA; BAZAKA, 2015; SHEN; LI; LIU, 2012).

O uso de tratamentos com amônia, por sua vez, conforme citado anteriormente, é capaz de desenvolver, na superfície do material, grupamentos químicos nitrogenados, os quais geram um caráter mais básico à espuma carbonosa, o que é verificado conjuntamente com uma positivação da superfície. Tal procedimento é

executado, em geral, aquecendo-se o material em temperaturas entre 200 e 900°C (MENÉNDEZ et al., 1995, 1996a, 1996b) em uma atmosfera de amônia, com ou sem presença de umidade. A partir de tais metodologias, é possível, assim, de obter-se estruturas do tipo C-N, C=N e C≡N, além de amidas cíclicas ou semelhantes a pirróis e piridinas. São desenvolvidas a partir de grupos funcionais, em geral oxigenados, previamente existentes na superfície carbonosa., como indicam os equilíbrios a seguir (VINKE et al., 1994).



Assim, tem-se, com o uso de tais metodologias, uma substituição parcial dos grupos oxigenados, desenvolvendo-se aminas e amidas, de caráter básico. É importante ter-se em mente que atmosferas de amônia são geradas a partir da evaporação de soluções com amônia sob aquecimento, a qual é mantida por períodos de 10 minutos a 2,5 horas (VINKE et al., 1994). Do mesmo modo que processamentos com o uso de ácidos, tratamentos desenvolvidos com amônia geram alterações na estrutura porosa do material, podendo aumentar a área superficial do material, o que permite utilizar-se amônia como agente de ativação de espumas carbonosas, em especial, para tratamentos desenvolvidos a partir de 500°C, tendo -se cinética significativamente intensa a partir de 700°C. Tais modificações são consequência da redução da quantidade de camadas de planos carbonosos entre os poros, permitindo o aumento da fração volumétrica destes.

Outra metodologia comumente aplicada para obter-se modificações na química de superfícies de materiais carbonosos consiste no desenvolvimento de tratamentos térmicos, sendo seus efeitos variados de acordo com as condições ambientais impostas. Assim, atmosferas oxidantes são capazes de aumentar a concentração de grupos ligados oxigenados, em especial, de hidroxilas e carbonilas, intensificando-se, assim, o caráter ácido de tais substâncias, assim como a hidrofilicidade destas. Tal efeito é decorrido da decomposição de ácidos carboxílicos, lactonas e fenóis anteriormente presentes. Atmosferas inertes, como de nitrogênio e argônio, são, por sua vez, responsáveis por uma redução na concentração de funcionalidades hidrofílicas, eliminando especialmente grupos ácidos, os quais são eliminados como CO e CO₂. Contudo, visto o caráter inerte de tais gases, a eliminação de tais grupos funcionais, desenvolvida especialmente pela instabilidade destes em altas temperaturas, desenvolve sítios de alta reatividade, sendo estes de três tipos distintos: radicais livres com um único elétron desemparelhado na estrutura de lâmina de grafeno, radicais livres em carbono presentes em grupos carbonosos ligados e radicais divalentes (MENÉNDEZ et al., 1996b, 1996a). Tais regiões são capazes de interagir quimicamente com gases atmosféricos após o resfriamento da espuma, produzindo estruturas do tipo carbonila, pirona e benzopirano, de caráter básico, apesar da presença de átomos de oxigênio (WIBOWO et al., 2007).

Atmosferas redutoras, como as de alta concentração de hidrogênio, tornam-se ainda mais efetivas em tal processo, visto sua capacidade de eliminação de grupos funcionais ácidos estabilizar a superfície de espumas carbonosas. Esse efeito é obtido uma vez que o gás hidrogênio apresenta baixa energia de ativação para a formação de ligações do tipo C-H em regiões as quais apresentem certa instabilidade química. É importante notar-se, no entanto, que, quanto maior a temperatura de processamento, menor o conteúdo de hidrogênio encontrado, bem como maior a perda de massa verificada (MENÉNDEZ et al., 1995, 1996a, 1996b). Visto que não há qualquer relação entre a acidez da superfície da espuma e a concentração de átomos de hidrogênio, supõe-se que o processo permite a formação de superfícies com baixas concentrações de grupos funcionais oxigenados, bem como o desenvolvimento de ligações entre átomos de hidrogênio e carbono, bem como a hidrogaseificação de radicais presentes em grupos funcionais carbonosos, sendo necessário, para tanto,

altas temperaturas. Isso torna mais influente o caráter básico natural das estruturas carbonosas geradas pela ligação π delocalizada, como já descrito.

Além de tais processos, evidências vinculadas ao desenvolvimento de condensação de folhas de grafeno sob condições de alta concentração de H₂ no meio representam uma outra metodologia pela qual tais sítios altamente reativos seriam estabilizados (MENÉNDEZ et al., 1995, 1996a, 1996b). Radicais liberados pela estrutura em consequência das altas temperaturas seriam, assim, fundamentais para tal fenômeno, o que explica estudos em que encontrou-se aumento de área superficial significativo vinculado a uma baixa redução da massa do material. É importante ter-se em mente que tais fenômenos são característicos de ambientes a altas temperaturas, próximas de 900°C, sendo necessário, para a ocorrência a temperaturas mais amenas – cerca de 500°C –, a presença de particulado de metais nobres, como platina (MENÉNDEZ et al., 1995, 1996a, 1996b; RADOVIC et al., 1997). Tais particulados atuariam como catalizadores do rompimento homolítico de moléculas de hidrogênio, formando átomos de tal elemento que produziriam a hidrogaseificação da parcela mais reativa da superfície carbonosa, conforme foi descrito anteriormente. A Figura 23 apresenta uma representação dos processos observados em espumas carbonosas tratadas termicamente, tanto com gases inertes como com gases redutores. Tratamentos térmicos são desenvolvidos a temperaturas altas, no entorno de 400 a 900°C, em períodos variados, de 1 a 20 horas (MENÉNDEZ et al., 1996a), com vazões gasosas próximas de 150 cm³/min.

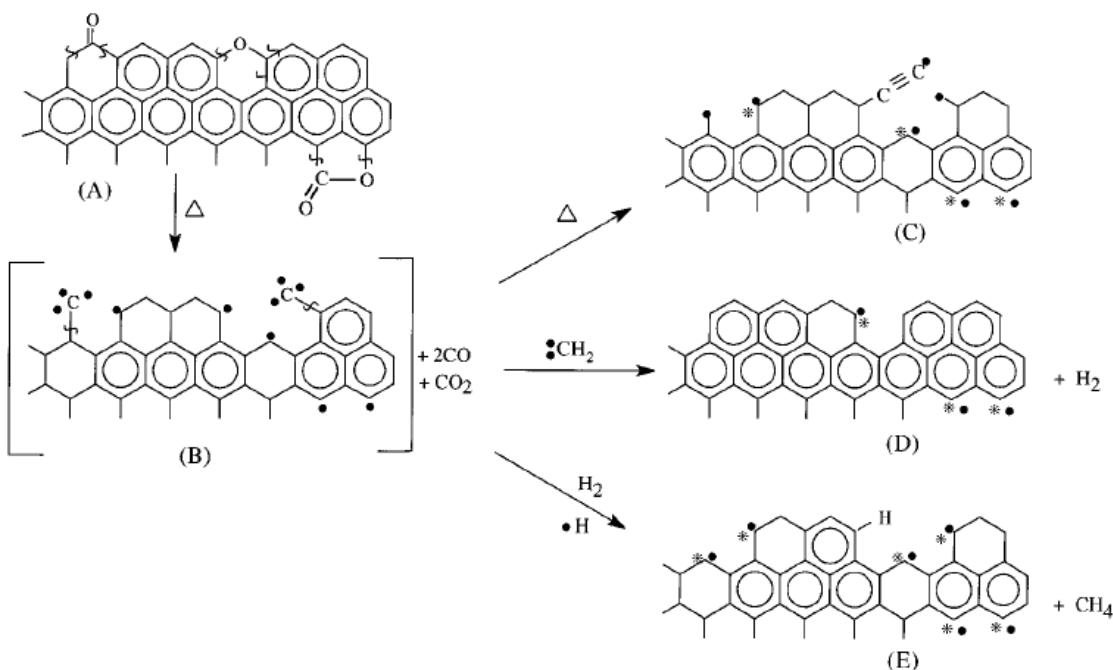


Figura 23 - Diferentes mecanismos de reação verificados para amostras carbonosas em tratamentos térmicos em atmosferas inertes. É possível observar-se o desenvolvimento de sítios ativos. Fonte: (MENÉNDEZ et al., 1996a).

É um fato, no entanto, que a hidrofobicidade obtida não é um caráter constante no material carbonoso (DASTGHEIB; KARANFIL, 2004). Conforme espumas tratadas são expostas a ambientes com concentrações significativas de oxigênio, suas estruturas são naturalmente oxidadas, retornando a um estado de menor energia livre. A cinética de tal fenômeno é variável de acordo com o tipo de estrutura da espuma carbonosa em estudo, ambiente em que o material é posteriormente exposto e o tipo e intensidade do tratamento de estabilização utilizado. A estrutura do material apresenta influência em tal processo visto que processos de quimissorção do oxigênio, responsáveis pela redução da hidrofobicidade das espumas, são mais intensos em mesoporos, seguindo para regiões microporosas por mecanismos difusivos, o que justifica uma menor cinética verificada para tal etapa de oxidação. Tais morfologias permitem o desenvolvimento do fenômeno de sobreposição de forças entre folhas de carbono em regiões opostas dos poros, reduzindo a energia necessária para ocorrência do processo (DASTGHEIB; KARANFIL, 2004).

2.6. Aplicações gerais

A grande variabilidade de propriedades morfológicas e químicas descritas nas seções anteriores consiste em um dos fatores que torna espumas de carbono materiais com grande versatilidade, o que permite aplicações muito variadas, como foi anteriormente brevemente amostrado. De um modo geral, tais materiais são mais amplamente utilizados para armazenamento de energia térmica e química, bem como eletrodos utilizados para grande variedade de componentes elétricos, adsorventes seletivos de espécies gasosas e líquidas, sendo capaz de reduzir poluentes, e até mesmo como barreiras refletoras de ondas mecânicas – sons – e eletromagnéticas. Sendo assim, projetos tanto civis quanto militares encontram soluções vinculadas ao desenvolvimento de uma estrutura carbonosa porosa com parâmetros de porosidade, distribuição de poros, composição química geral e de superfície específicas, o que implica na escolha de materiais e metodologias mais adequadas, além de ajustes muitas vezes empíricos de parâmetros de processamento. Literaturas de revisão foram desenvolvidas visando caracterização dos usos de espumas carbonosas, sendo o exposto a seguir obtido das leituras de três trabalhos sobre o assunto (INAGAKI, 2015; MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006; STOJANOVSKA et al., 2019).

O uso de espumas carbonosas em vista do armazenamento de energia térmica está diretamente vinculado à realização de uma transformação de fases. Tal método de armazenamento energético baseia-se no calor latente o qual dadas substâncias apresentam, sendo este significativamente alto, a ponto de ser vantajoso depositar-se dada quantidade de energia térmica utilizando-a em vista da realização de tal modificação física. Tais compostos, denominados materiais de transformação de fases, ou PCM, em inglês, são, em geral, inseridos em matrizes diversas, as quais devem permitir tanto o correto alojamento de tais substâncias como uma condução térmica altamente facilitada, reduzindo-se as perdas de eficiência do sistema. Sendo assim, espumas de carbono representam uma alternativa para tal aplicação, visto que determinadas vias de processamento permitem obter-se, além de alta condutividade térmica e grande capacidade de armazenamento de PCM, visto os valores de porosidade alcançados, grande estabilidade estrutural e química, mesmo após diversos ciclos de aquecimento do dispositivo.

Materiais como parafinas, eritritol, glicerinas e entre outros, podem ser utilizados como elementos os quais sofrem transformação física. A inserção dessas em substratos carbonosos altamente porosos ocorre por meio do uso de vácuo, aumentando-se a interface entre as fases do compósito desenvolvido. A condutividade térmica dos sistemas gerados pode ser, ainda, intensificada com o uso de aditivos carbonosos, como pós de grafite, os quais reduzem a porosidade, aumentando a densidade do material final. Percebeu-se, no entanto, que o uso de espumas mais densas, ou seja, com menor porosidade, apresentam uma capacidade reduzida de armazenamento energético, visto um menor volume ocupado pelos materiais responsáveis por captação do calor, o que ocorre em detrimento de um aumento significativo da condutividade térmica do compósito, visto o aumento da seção transversal a qual transmite as oscilações atômicas. É necessário, assim, o desenvolvimento de estruturas as quais apresentem a porosidade balanceada de modo a encontrar-se um valor otimizado, permitindo razoável capacidade de armazenamento e boa condutividade térmica.

Espumas de carbono desenvolvidas, por sua vez, para aplicação em mecanismos de acumulação de energia por vias eletroquímicas, por sua vez, podem ser encontradas em supercapacitores e baterias, tanto de lítio como de íon-sódio. Para tanto, são utilizados materiais porosos com grande porosidade, alta condutividade elétrica e boa estabilidade química. Tais características são necessárias visto que o desempenho de tais equipamentos é tanto maior quanto mais facilmente eletrólitos percorrem a superfície do material, bem como menor a resistência oferecida por este ao transporte eletrônico, enquanto que uma boa estabilidade química permite uma vida útil maior mesmo em ambientes intensamente reativos. É muito comum, assim, o desenvolvimento de pesquisas as quais procuram aplicar espumas ativadas ou geradas a partir de grafeno, óxido de grafeno ou nanotubos de carbono, além de aerogéis, visto a grande área superficial apresentada por tais estruturas.

Além disso, técnicas específicas utilizadas ou durante a produção da espuma ou em etapas posteriores de modificações superficiais permite o desenvolvimento de estruturas com alta capacidade de armazenamento energético, realizando-se a dopagem da espuma com particulados de óxidos, hidróxidos e sulfetos metálicos, como MnO_2 e MoS_2 , os quais são inseridos por processos hidrotérmicos. Dados metais, como níquel e ferro, também são capazes de atuar em vista da melhoria das

propriedades elétricas de espumas de carbono. O enxofre, ligado à estrutura carbonosa em grandes quantidades, também é capaz de aprimorar a eficiência de componentes de armazenamento de energia, em especial para aquelas as quais utilizam lítio. Dopando-se a superfície destes com o uso de banhos de tal elemento, as espumas obtidas são capazes de, em tais sistemas, adsorver um número muito superior de íons, bem como retardar o efeito de expansão volumétrica observado durante ciclos de carga e recarga. Efeitos semelhantes são obtidos com o uso de infiltração por fase vapor ou líquida, utilizando-se substratos carbonosos com alta porosidade, como o que é verificado para espumas geradas a partir de nanotubos de carbono. É importante notar que, para tais aplicações, carvões não grafitáveis, os quais apresentam maior área superficial devido a uma porosidade significativamente alta, são preferíveis, visto a redução de barreiras para a difusão de íons de tamanhos maiores como em baterias íon-sódio.

Como indicado anteriormente, materiais de carbono podem, também, ser utilizados em vista da adsorção de substâncias, tanto de meios gasosos como líquidos. Em vista de tal aplicação, é fundamental otimizar-se a estrutura dos poros desenvolvidos e sua distribuição ao longo do material. Espumas carbonosas naturalmente apresentam alta área superficial, trazida por poros interconectados, bem como boa estabilidade térmica e química, tornando-as excelentes captadoras de espécies como CO_2 , água, tolueno, e entre outros. Contudo, o desenvolvimento de metodologias as quais permitam desenvolvimento de microporos os quais são responsáveis por grande incremento na área superficial do material, bem como de meso e macroporos, os quais facilitam o transporte de massa pelo material, é essencial. Do mesmo modo, tratamentos posteriores visando-se alterar-se características superficiais correspondem a modificações também válidas para permitir uma maior probabilidade de se captar determinadas espécies encontradas no meio.

Tal aplicação tem se tornado cada vez mais evidente, visto preocupações ambientais vinculadas a emissão de gases tóxicos e estufa a partir da queima de combustíveis fósseis para geração energética. Tecnologias atuais de captação de gás carbônico, por exemplo, são relativamente caras, e exigem o uso de equipamentos capazes de resistir a ambientes agressivos, o que não é necessário ao utilizar-se espumas carbonosas. Utilizando-se diferentes agentes de ativação, como ZnCl_2 ou

KOH, é possível obter-se estruturas variadas, sendo as com caráter mais desordenado e heterogêneo aquelas com melhores valores de adsorção de CO₂, o que é, também, variável de acordo com temperaturas de carbonização e de ativação.

Espumas de carbono, ao serem aplicadas em meios líquidos, possuem alta capacidade de adsorção de metais pesados, como zinco, cobre, cromo e chumbo, o que torna tais materiais potenciais agentes de purificação de recursos hídricos afetados por desastres naturais ou poluição. Para tanto, estruturas carbonosas podem ser aplicadas em tais meios, de modo a atingirem equilíbrio após determinado tempo, devendo ser posteriormente regeneradas por processo químico ou elétrico. Tais procedimentos, apesar de torná-las reutilizáveis, reduz a vida útil destas, o que pode ser percebido por uma redução progressiva da eficiência do processo de adsorção. Além disso, é possível utilizar-se de aditivos, como óxidos metálicos, os quais são capazes de intensificar a adsorção de dadas espécies, o que ocorre, geralmente, em detrimento da redução da captação de outras substâncias. É importante, assim, desenvolverem-se distintos materiais especializados na captação de espécies específicas, obtendo-se, assim, alta eficácia na purificação de recursos hídricos.

Os usos indicados anteriormente representam as principais aplicações desenvolvidas para espumas de carbono, até o momento. Contudo, a capacidade de tais materiais de atuarem como isolantes térmicos, diferentemente do que se procura no uso destes como suporte para captação de energia térmica, é também requisitada, dependendo do meio no qual se necessita tal função. O aspecto poroso de tais materiais é, para tal aspecto, essencial, devendo-se modificar tanto a estrutura quanto a distribuição do tamanho de poros para obter-se uma maior ou menor condutividade térmica. É importante notar que as folhas de grafeno as quais compõe o material consistem em bons condutores. Contudo, defeitos nestes presentes, como descontinuidades, desenvolvimento de orbitais distintos daqueles os quais produzem tal estrutura, ou mesmo presença de outras fases, como gases, reduz a capacidade de transporte de calor por fônonos e elétrons de materiais carbonosos. Além disso, visto o contato íntimo com um material fluido, este torna-se influente na capacidade da espuma de disseminar calor. O controle, tanto da estrutura quanto da distribuição do tamanho de poros é, por sua vez, obtido controlando-se a produção tanto do precursor do material poroso, bem como das condições de carbonização deste. Carbonizações realizadas a temperaturas mais altas, por exemplo, ao criar células de

poros maiores, desenvolvem materiais com condutividade térmica mais reduzidas, o que pode ser obtido adicionando-se, também, determinados tipos óxidos inorgânicos.

Espumas de carbono podem ser desenvolvidas, ainda, para aplicações como sensores, tanto químicos como físicos, ou seja, podem ser produzidas de modo a evidenciar-se capacidades de transformação de estímulos diversos em elétricos, os quais podem ser interpretados por sistemas eletrônicos e utilizados em diversas aplicações. Para tanto, é fundamental que a espuma apresente um comportamento pouco variável com o tempo quando em interação com o estímulo, sendo este previsível e com alta precisão, além de desenvolver no material um estado transiente de curta duração. Em vista disso, espumas carbonosas com grande área superficial, além e natural boa condutividade elétrica e baixa densidade tem se mostrado com grande potencial de aplicação como sensores. Assim, estudos são desenvolvidos a fim de criarem-se materiais carbonosos com grande sensibilidade a dadas substâncias gasosas, metálicas ou iônicas, além da captação de sinais vinculados a estresses mecânicos.

É importante notar-se que, para a obtenção de dados vinculados a percepção de espécies em um meio, é necessário desenvolver-se características vinculadas a sensitização eletroquímica. Assim, características como área superficial, porosidade, capacidade de transferência de carga, hidrofobicidade, condutividade e entre outros tornam-se essenciais, sendo estes controlados por características do processamento do material, bem como a interação existente entre ligações π da espuma e da substância a ser percebida no ambiente, as quais desenvolvem diferentes interações com distintas estruturas superficiais do material, gerando potenciais elétricos, sendo estes verificados por sistemas eletrônicos. Pode-se utilizar tais preceitos em vista da detecção de umidade em dadas atmosferas, o que é de grande valia para aplicações alimentícias, farmacêuticas e entre outras, onde tal parâmetro deve ser controlado. Contudo, deve-se realizar tratamentos em vista do aumento da hidrofilicidade das espumas de carbono utilizadas, visto seu caráter naturalmente apolar. Tais materiais carbonosos podem ser utilizados, ainda, como biossensores, sendo capazes de indicar concentrações de substâncias relacionadas a determinadas enfermidades, como diabetes, mal de Alzheimer e doença de Parkinson. São utilizados, em geral, componentes metálicos ou óxidos para a melhoria da cinética de obtenção dos sinais necessários para o monitoramento de pacientes, o que ocorre, no entanto, em

detrimento do aumento da citotoxicidade do equipamento. A obtenção de sinais a partir da interação de estruturas superficiais das espumas de carbono é útil, ainda, na percepção de diferentes espécies gasosas no ambiente, o que exige alta sensitividade, além de grande seletividade, o que pode ser obtido, também, a partir de aditivos óxidos e orgânicos específicos, como Co_3O_4 .

A percepção de sinais mecânicos, como tensões aplicadas ou mesmo dados níveis de deformações geradas em componentes estruturais pode ser realizada, como apresentado, anteriormente, com o uso de espumas de carbono específicas. A obtenção de estímulos mecânicos está relacionada, fundamentalmente, aos princípios eletromecânicos do material. Aparatos os quais são capazes de realizar medidas vinculadas a aplicações de tensões monitoram tais parâmetros via controle da deformação do sensor. Ao ser deformada, uma espuma aplicada para tanto tem sua resistência elétrica reduzida, o que pode ser percebido a partir do monitoramento de pulsos elétricos. Tal características é ainda intensificada quanto menor a espessura do material, o que implica em uma maior deformação pela aplicação de mesmos valores de tensão. A detecção de sinais vinculados a deformação, por sua vez, é obtida por meio da avaliação da deformação dos materiais componentes dos sensores, necessitando-se, para tanto, de alta flexibilidade destes. Ao ser flexionado, o material carbonoso desenvolve redução da resistência interna, como anteriormente citado. Assim, é possível, a partir de bases comparativas, estabelecer-se o nível de deformação obtido, o que pode ser ainda modificado com o uso de compósitos de espumas e dados polímeros, os quais interagem mecanicamente de modo a alterar a posição da linha neutra, e permitindo, assim, uma maior resposta do material para o estímulo produzido.

2.6.1. Aplicação como biomaterial

A grande versatilidade de propriedades as quais podem ser obtidas em espumas carbonosas faz com que sua aplicabilidade seja estendida a uma grande variedade de áreas, sendo grande parte delas em estágio de pesquisa em organizações de ensino ou em indústrias privadas. Consiste em um exemplo de tal fato o uso de espumas de carbono em aplicações medicinais como um biomaterial. Visto o aspecto estrutural poroso versátil, alcançado a partir de diferentes metodologias de obtenção

e matérias-primas utilizadas, além de sua área superficial, a qual pode alcançar grandes proporções, e a grande variabilidade vinculada a química de superfície do material, espumas carbonosas podem ser projetadas para atuação como biomateriais. Para tanto, é fundamental que atendam a todas as exigências vinculadas a tal aplicação, o que inclui fatores relacionados a toxicidade de tais materiais, interação com diferentes tecidos corporais, evolução de tais interações com o tempo, acoplamento mecânico e entre outros. Tal aplicação, estando vinculada à saúde humana, tem como vantagem o desenvolvimento de materiais altamente tecnológicos a partir de matérias-primas não muito valorizadas, o que permite uma redução no custo final dos produtos gerados. Como consequência direta, camadas menos abastadas da população são mais aptas a acessarem tratamentos os quais utilizem tais biomateriais, e os quais permitem uma recuperação mais rápida de traumas e enfermidades recorrentes na vida humana. Isso permite um aumento na qualidade de vida de tais parcelas, de modo a contribuir ao desenvolvimento das diversas sociedades atualmente existentes.

Um biomaterial consiste em todo e qualquer composto que apresenta funções as quais desempenha de modo a interagir sistematicamente com tecidos corporais os quais deseja-se realizar algum tratamento ou substituição, sendo esta parcial ou total. Usos primitivos de tal classe de materiais podem ser verificados há cerca de 30000 anos atrás, sendo comum nas sociedades romana e chinesa o uso de aços e ouro como próteses óssea e dentária, respectivamente. Pode-se citar como exemplos de tais materiais aqueles aplicados em proteções utilizadas como substitutos temporários de tecido epitelial em queimaduras, como agulhas de seringas e cateteres, lentes de contato, próteses ósseas, órgãos artificiais, e entre outros. São aplicados como biomateriais, assim, tanto metais como cerâmicas e polímeros, sendo cada tipo utilizado de acordo com suas propriedades e os distintos requisitos vinculados às suas funções, tipos e níveis de interação obtida com o organismo do indivíduo tratado. Tanto a seleção como o preparo de componentes a partir de biomateriais deve considerar, assim, uma grande quantidade de fatores tanto intrínsecos ao material como vinculados aos fatores externos citados, o que exige, assim, grande esforço científico e avaliações de desempenho criteriosas.

Deste modo, é comum a prática de altos preços para uma grande porção de componentes biomateriais, em especial para aqueles os quais mantém-se em contato

contínuo com o usuário, como é o caso de próteses e substratos de crescimento ósseo, stents, marcapassos e entre outros. Tal fenômeno, no entanto, é intensamente prejudicial a um mundo em que desigualdade e pobreza extremas são tidos como aspectos característicos comuns da realidade atual, tornando o acesso de populações menos abastadas a técnicas medicinais as quais utilizam de tais materiais. A Figura 24 apresenta a pirâmide econômica global obtida em 2018, e demonstra o nível de desigualdade atualmente existente considerando-se todo o globo: verifica-se que 63,9 % da população mundial de adultos apresenta um ganho anual inferior a 10000 dólares americanos, representando cerca de 1,9 % dos ganhos totais em salários.

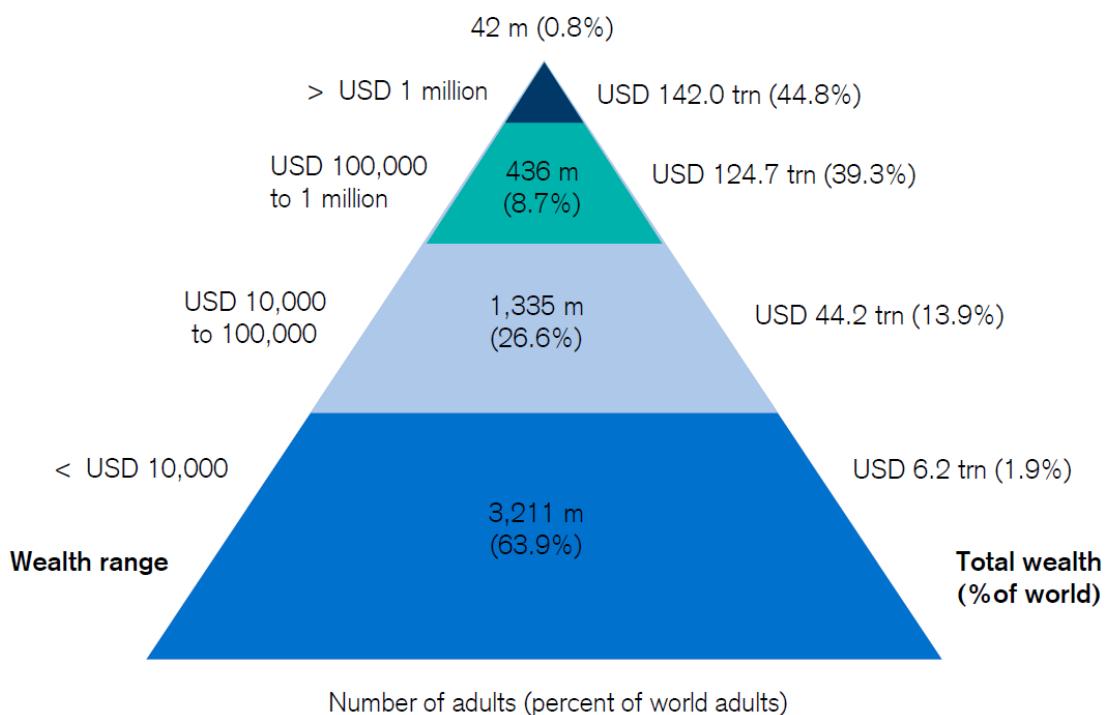


Figura 24 - Pirâmide a qual apresenta a divisão das riquezas no mundo. É clara a desigualdade existente. Fonte: (SHORROCKS; DAVIES; LLUBERAS, 2018).

Tais dados, apresentando de modo mais generalista a desigualdade econômica mundial, justificam, assim, a grande importância atualmente dirigida a estudos vinculados ao desenvolvimento de biomateriais alternativos, caracterizados por um preço mais acessível, não havendo, para tanto, redução na eficácia do tratamento obtido.

Essa necessidade torna-se ainda mais significativa ao considerar-se um aumento significativo da demanda mundial por componentes artificiais inseridos no

corpo humano. É de senso comum o fato de a população humana atual apresentar uma idade cada vez mais avançada e termos médios, uma vez que a expectativa de vida tem aumentado significativamente nos últimos anos, como demonstra a Figura 25.

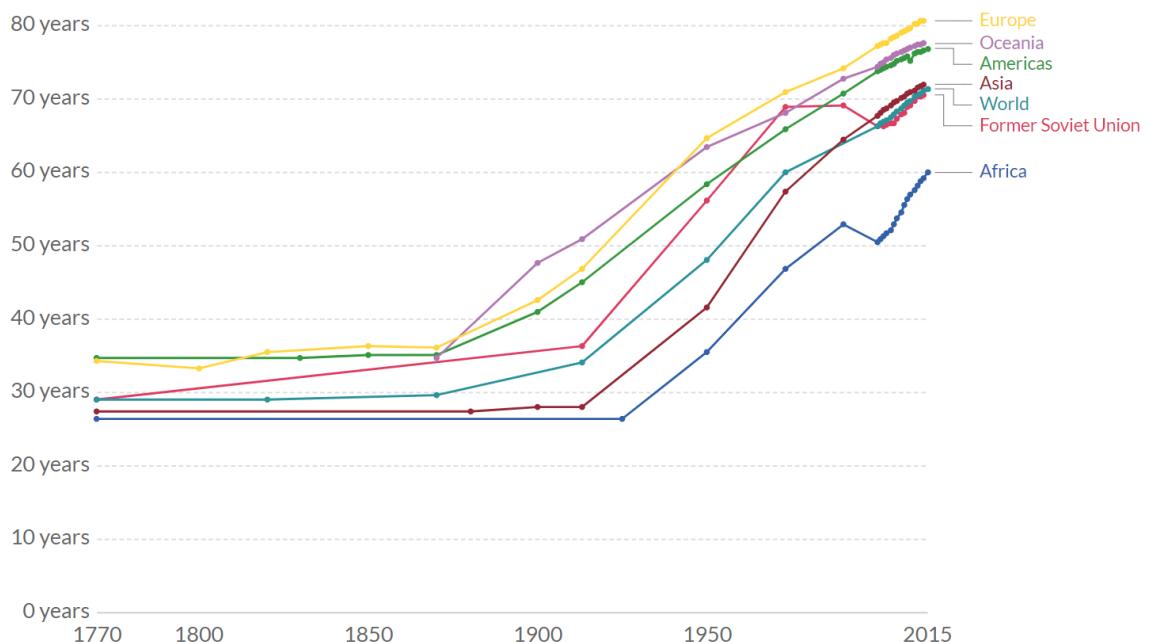


Figura 25 - Desenvolvimento da Expectativa de vida, por região. Fonte: (“Life expectancy”, [s.d.]).

Pode-se notar, assim, em termos gerais, que populações humanas tem a tendência de viver cerca de duas vezes mais que cem anos atrás, fenômeno o qual encontra sustentação no desenvolvimento de tecnologias na medicina, nos transportes, no armazenamento e conservação de alimentos e entre outros. Além disso, da adesão ao modo de vida urbana permite, em grande parte das sociedades existentes, um acesso mais facilitado a tecnologias que, mesmo sendo pouco inovadoras, contribuem a uma melhor qualidade de vida. Isso se deve à maior disponibilidade de trabalho pela industrialização e, mais atualmente, pela globalização, a qual desenvolve um fluxo de mercado – fundamental à sustentação do sistema capitalista atualmente em vigor – mais constante e intenso. Assim, mesmo em países classificados como em desenvolvimento, é possível observar tal tendência, o que é verificado, por exemplo, na África, cujos países apresentam baixos índices de IDH, como se verifica na Figura 26.

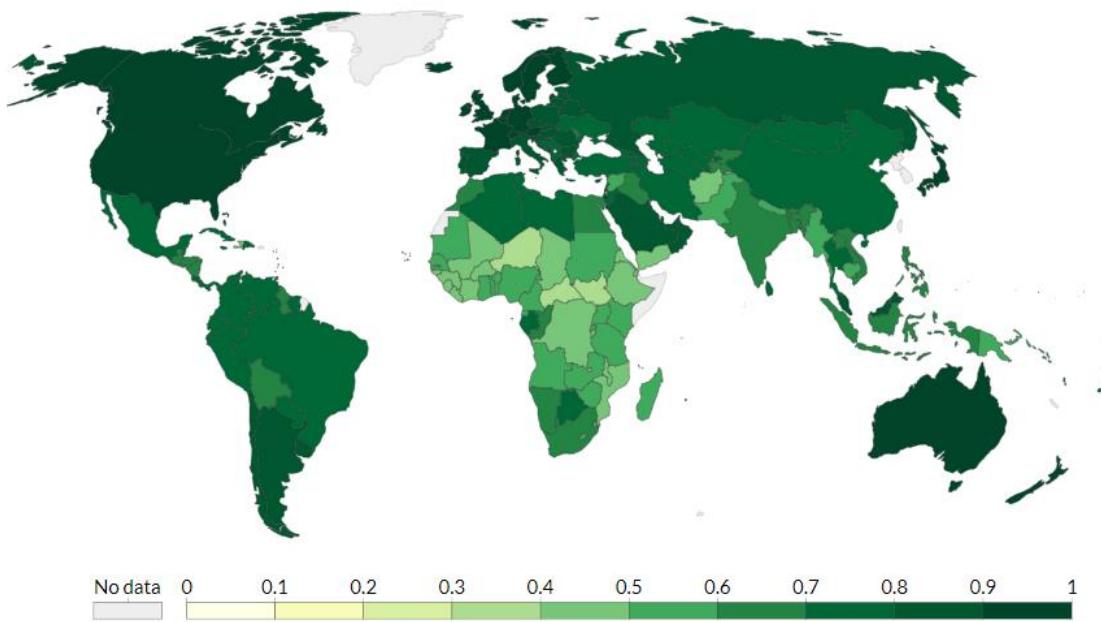


Figura 26 - Índice de Desenvolvimento Humano no ano de 2018. Fonte: (“Human Development Index, 2017”, [s.d.]).

Desse modo, verifica-se uma tendência cada vez maior do uso per capita de biomateriais, aplicados em vista da melhoria de funções vitais, como marcapassos, ou mesmo para a redução do tempo de reabilitação. Isso ocorre uma vez que determinados órgãos humanos, mais gastos ou estafados pelo longo tempo de funcionamento, podem apresentar determinadas enfermidades em idades avançadas.

2.6.2.1 Enfermidades vinculadas ao sistema ósseo – uma realidade alarmante.

Implantes ósseos, em especial, consistem em componentes cuja demanda tem crescido significativamente ao longo do tempo, uma vez que tal sistema corporal, de função estrutural e de produção de componentes ao sistema circulatório, apresenta grande desgaste ao longo da vida humana. Os dados apresentados a seguir foram obtidos a partir da International Osteoporosis Foundation (“Facts and Statistics | International Osteoporosis Foundation”, [s.d.]). Assim, em 2014, cerca de 400000 operações foram realizadas na Europa em vista da inserção de substratos de crescimento ou componentes substitutos. O mercado de tal tipo de implante foi capaz, ainda, de movimentar, no mundo, cerca de 43,1 bilhões de dólares americanos em

2012, enquanto que tal valor era de 15 bilhões em 2002. Além disso, é observado, por exemplo, que entre 1990 e 2000, casos de fraturas ósseas nos quadris cresceram cerca de 25 % no mundo, o que se torna significativo visto a gravidade de tal lesão. Tal número, visto a gravidade da lesão, é alarmante uma vez que pode acarretar em grande incidência de dores crônicas, má locomoção e consequentes aumentos de grau de dependência do paciente – cerca de 40 % dos casos verificados apresentam sequelas capazes de promover dependência do indivíduo –, gastos na saúde pública e até a morte – cerca de 20 a 24 % dos pacientes tem grandes chances de falecer no primeiro ano após a fratura.

A osteoporose consiste, também, em uma enfermidade de grande importância à saúde humana, afetando principalmente indivíduos de idade mais avançada. Atualmente, cerca de 1,6 milhões de fraturas de tal tipo são recorrentes no mundo, esperando-se que, em 2050, devido ao aumento da idade média populacional, tal fator encontre-se entre 4,5 e 6,3 milhões. Estatísticas mostram, também, que cerca de 37,5 % dos homens no Brasil apresentam grandes chances de sofrerem fraturas ósseas, enquanto que 21 % das mulheres brasileiras são propensas a tal problema. Além disso, cerca de um em três cidadãos no país apresentam propensão ao desenvolvimento de osteoporose, sendo que um em cada cinco pacientes os quais apresentam tal doença são capazes de acessar tratamentos adequados a esta. Tais números, sendo vinculados a apenas dois problemas verificados no sistema ósseo, quando associados às tendências populacionais apresentadas, exprimem a grande necessidade de desenvolvimento de implantes e substratos ósseos com preços mais acessíveis e com alto desempenho, permitindo melhor qualidade de vida às populações humanas, independentemente de seu poder aquisitivo.

2.6.2.2. O sistema ósseo - Constituição

A pesquisa, visando a produção em uma escala maior em mais econômica de biomateriais utilizados tanto para substituição como para auxílio ao crescimento de tecidos ósseos, deve levar em conta, como já citado, tanto aspectos intrínsecos ao material como ao meio em que será aplicado. Desse modo, conhecimentos vinculados à constituição, desenvolvimento e dinâmica de ossos é fundamental para quaisquer

pesquisadores os quais atuem em tal área. Assim, uma breve descrição de tais aspectos será realizada a seguir, em vista de orientar o trabalho em questão em vista das exigências as quais deverão ser respeitadas ao objetivar-se o desenvolvimento de um biomaterial de alta eficácia e preço reduzido.

O sistema ósseo humano, tendo como principais funções a sustentação estrutural de músculos e órgãos e a produção de componentes sanguíneos, é fundamental ao transporte de nutrientes pelo organismo e à movimentação deste. Tem como composição básica cerca de 10 a 20 % de colágeno, 60 a 70 % de parcela mineral e 9 a 10 % de água, em massa, além de parcelas não muito significativas de proteínas diversas, polissacarídeos, lipídeos e entre outros (WU et al., 2014). A parcela mineral é constituída basicamente de hidroxiapatita, de fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, sendo que a razão entre cálcio e fósforo pode variar significativamente, de 1,37 a 1,87, o que se deve a presença de íons diversos nos cristais de tal mineral, como estrôncio e zinco, além de carbonato (WU et al., 2014). Processos evolutivos permitiram que as estruturas de sustentação, ou ossos, sendo um compósito, apresentem uma arquitetura variada, de acordo com a posição no organismo, permitindo, em geral, grande absorção de energia mecânica quando assim exigido. Sua arquitetura, no entanto, apresenta grande complexidade tanto em termos macroscópicos, visto as diferentes morfologias encontradas, como microscópicos, verificando-se a ocorrência de ordenamento e alinhamento das moléculas e cristalitos presentes (WU et al., 2014).

Um osso humano típico pode ser classificado, tem termos gerais, como um compósito, tanto sob óptica macro como microscópica. Ao verificar-se sua constituição, mesmo a olho nu, de tecidos ósseos humanos, é possível observar-se a presença de estruturas distintas, as quais variam de acordo com a distância ao centro de gravidade da seção transversal de tal estrutura orgânica. Desenvolvida ao longo de milênios de processos evolutivos, tal organização deve-se a uma significativa capacidade de absorção e transmissão de energia mecânica gerada por impactos. Para tanto, observa-se, em regiões mais externas, um tecido mais compacto, denominado cortical, o qual corresponde a cerca de 80 % da massa total do osso e que envolve a região mais interna, a qual apresenta um tecido trabecular, em regiões mais extremas do osso e uma cavidade medular na região mais central (WU et al., 2014). Tal camada espessa é responsável por resistir a altas tensões, apresentando

altos valores de módulo de Young, diferentemente da região interna, de aspecto poroso e grande quantidade de canais interconectados, sendo responsável por dar resistência ao tecido quando submetido a intensos impactos, ou seja, a forças intensas aplicadas em curto intervalo de tempo. Tal parcela óssea encontra-se especialmente nas partes mais extremas dos ossos, sendo que, em geral, encontra-se. Mais externamente, e em contato com outros tecidos corporais, tem-se o periôsteo, o qual é constituído por fibras características do tecido conjuntivo, tendo grande densidade de células ósseas primitivas e fibroblastos, os quais são essenciais para o desenvolvimento do tecido ósseo. Internamente aos canais presentes na região trabecular, pode-se notar a presença de uma fina camada celular a qual recobre as paredes de tais canais, sendo muito influentes em processos de remodelamento ósseo (MARSELL; EINHORN, 2012).

O tecido cortical, por sua vez, apresenta uma arquitetura hierárquica, a qual desenvolve-se até ordens de grandeza atômicas, sendo verificada a presença, em tal região compacta, a presença de estruturas de ósteons, também denominados sistemas haversianos (WU et al., 2014). Tal componente apresenta forma tubular circular, com lamelas ósseas circunferenciando uma fina abertura, denominada canal haversiano, o qual contém pequenos vasos sanguíneos, responsáveis por permitir trânsito de nutrientes e rejeitos para tal tecido. Sua forma está intrinsecamente vinculada ao processo de renovação e crescimento dos ossos, bem como aos tipos celulares existentes, em geral, nos ossos (WU et al., 2014).

É verificada, em tal estrutura, a presença de osteoclastos, osteoblastos e osteócitos. A primeira classe de células é responsável por destruir e dissolver antigas estruturas, componentes da matriz óssea, antigas existentes ou mesmo prematuras, como as identificadas em indivíduos novos (WU et al., 2014). Esse processo ocorre, em geral, ao longo dos vasos sanguíneos responsáveis por manter em funcionamento tal tecido, e é seguido do desenvolvimento de uma nova matriz por osteoblastos. Tais células são capazes de excretar no meio colágeno tipo I e substâncias necessárias para o desenvolvimento de hidroxihapatita, componentes constituintes básicos da matriz óssea (THEOCHARIS et al., 2016). As fibras de colágeno consistem no principal componente de tal estrutura, podendo apresentar um diâmetro médio entre 100 nm e 2 μ m., sendo constituído por moléculas de tropocolágeno, complexo de três peptídeos arranjados de modo helicoidal. Tais moléculas não apresentam ligações

químicas entre si, o que é essencial para a manutenção de uma estrutura rígida (WU et al., 2014). Para tanto, desenvolvem-se, nos extremos de tais macromoléculas, cristalitos de hidroxiapatita, na forma de placas ou agulhas, as quais são interconectadas, formando em conjunto com as fibras de colágeno, um compósito coeso. Visto isso, forma-se uma matriz espessa a qual reduz, conforme tal processo é realizado, a abertura dos canais. A região entre ósteons adjacentes é, também, preenchida por lamelas de matriz óssea, originária, em geral, de antigos ósteons. Osteoblastos, ao amadurecerem mais, têm sua função modificada, visto que se encontram rodeados por matriz óssea em lacunas, sendo, assim, denominados osteócitos. Tal tipo celular tem como função a manutenção da estrutura óssea, sendo capaz de liberar ou absorver componentes da matriz, em especial quando tal tecido é mais ou menos solicitado. A estrutura compacta, no entanto, além de canais haversianos, contém canalículos e canais de Volkmann, os quais conectam as lacunas e permitem a manutenção dos osteócitos. A Figura 27 apresenta uma representação da estrutura hierárquica verificada em um osso típico e, em especial, no tecido cortical.

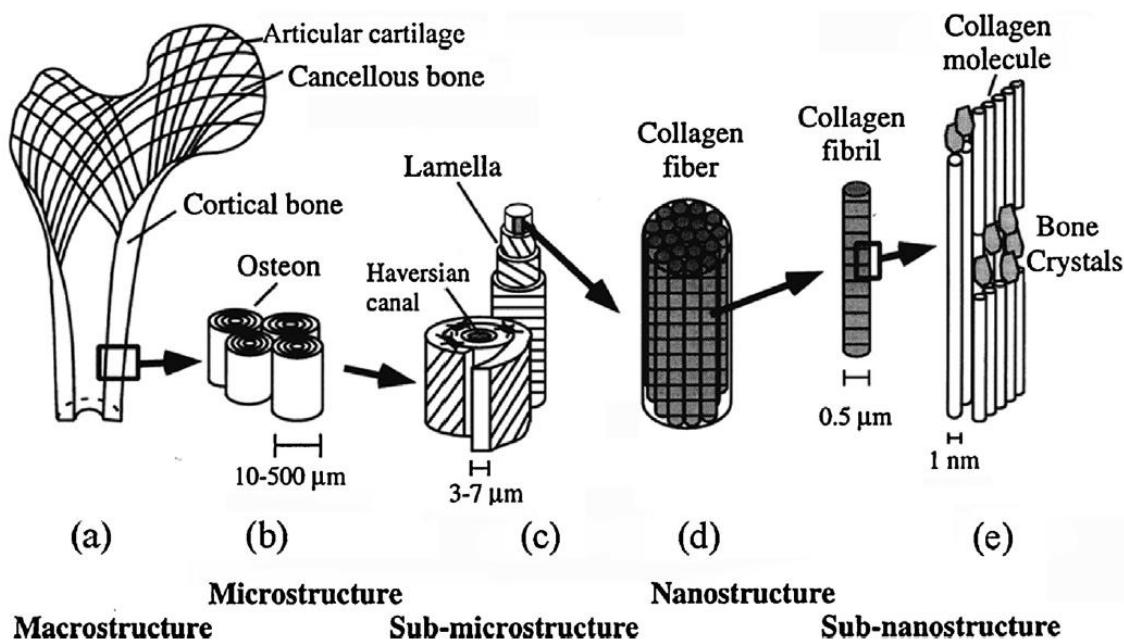


Figura 27 - Representações esquemáticas referentes aos diferentes níveis organizacionais presentes no tecido ósseo. Fonte: (WU et al., 2014).

A região de tecido trabecular, também denominada cancelosa, por sua vez, apresenta alta porosidade, como já citado, e é formada por matriz óssea e células

características de tal tecido, as quais estão arranjadas de modo altamente compactado. Deste modo, não há formação de ósteons, como verificado no tecido cortical. A grande complexidade de tal tecido, obtida durante a evolução de animais mamíferos, é obtida a partir de fenômenos bioquímicos intrincados, assim como aqueles vinculados a manutenção e reparo deste, quando danificado estruturalmente. Visto a grande semelhança de tais processos (MARSELL; EINHORN, 2012), será explanado, a seguir, aquele relacionado ao restauro de ossos fisicamente danificados, sendo tal processo vinculado ao escopo do trabalho em questão. O reconhecimento dos aspectos relacionados à correção do tecido ósseo é fundamental ao desenvolvimento de substratos e implantes aplicados neste uma vez que, para bom desempenho de tais componentes, deve-se respeitar as necessidades químicas e físicas das células envolvidas. Aliado a isso, é essencial reconhecer-se os aspectos envolvidos na relação entre o biomaterial aplicado e o tecido a ser reconstruído, aspecto o qual será, também, abordado a seguir. Referente a tais assuntos, duas referências foram especialmente utilizadas para obtenção das informações expostas (GHIASI et al., 2017; MARSELL; EINHORN, 2012).

2.6.2.3. Recuperação e Regeneração de tecidos danificados ou rompidos.

A reconstrução de ossos consiste, conforme já citado, em um processo de grande complexidade, envolvendo a expressão de milhares de genes, sendo grande parte deste ainda desconhecido ou em processo de investigação por grupos de pesquisa. Dado um osso danificado, dois mecanismos são identificados como rotas possíveis para a reformulação destes. Tais rotas são diferenciadas por apresentar uma etapa intermediária entre os estados danificado e completamente reparado do tecido, com sua estrutura hierárquica totalmente respeitada. Assim, a cura indireta, sendo a mais comumente verificada em casos de rompimento de ossos, apresenta um estágio intermediário, em que as partes anteriormente separadas do osso se unem novamente, desrespeitando-se, porém, parte da hierarquia verificada em tecidos saudáveis. Não é necessário, para sua ocorrência, uma grande estabilidade física do sistema, sendo averiguado por dados estudos que certo movimento entre as partes a serem reconectadas, bem como dada aplicação de tensão de compressão auxilia significativamente no processo. A cura direta, por sua vez, é obtida em uma frequência

baixa, visto a necessidade de aplicação de condições pouco naturais. É essencial, para tanto, devida fixação das partes separadas em vista da não ocorrência de movimentação relativa entre estas. Há, ainda, a necessidade de tais partes estarem em contato direto, sem a existência de separações físicas entre estas. Como consequência de tais condições de reparo, a hierarquia do tecido é constantemente respeitada pelas espécies ósseas presentes, o que reduz o tempo de tratamento.

No processo indireto de cura do tecido, o trauma é seguido de formação de um coágulo na região de fratura, o qual é constituído majoritariamente de células sanguíneas e do tecido ósseo, iniciando-se, assim, um processo inflamatório, cuja maior intensidade é observada na primeira semana após o rompimento do tecido. Em tal fase, uma diversidade de fatores bioquímicos é secretada pelas células próximas à fratura, como interleucinas, proteínas geradas por leucócitos. Tais moléculas, em geral de caráter proteico, são responsáveis pelo recrutamento de células envolvidas no processo regenerativo, na formação de estrutura de calo cartilaginosa e na reconstituição de vasos sanguíneos, fundamentais a uma reformulação do tecido mais coesa e dinâmica. O recrutamento de células as quais desenvolverão o novo tecido faz com que a concentração de células mesenquimatosas, tipo celular o qual é capaz de diferenciar-se em qualquer variedade pertencente a tecidos conjuntivos, o que promove, de início, a geração de um tecido cartilaginoso. Tal processo, denominado ossificação endocondral, se dá entre os extremos da fratura, na região inflamada, garantindo conexão física entre as partes rompidas, e assim, maior estabilidade mecânica à região fraturada. Ao mesmo tempo, ossificação intramembranosa também é decorrente, sendo caracterizada pela formação de grupos densos de células mesenquimatosas provindas tanto de tecidos próximos ao rompimento como de fontes mais distantes, as quais, após diferenciarem-se em osteoblastos, secretam matriz óssea e sofrem mineralização. Esse fenômeno é responsável por significativo incremento da resistência mecânica da parcela óssea em regeneração. É importante notar-se que tal estrutura formada tem caráter trabecular.

Durante a produção de novo tecido ósseo, o fornecimento de nutrientes e células específicas ao local da fratura é fundamental à regeneração. Sendo assim, a vascularização da região consiste em um processo essencial, sendo verificado, como citado, desde a formação da estrutura de calo. Tal necessidade justifica, em parte, a formação inicial de trabéculos, havendo, assim, espaço para a ocorrência de

angiogênese, sendo, ainda, muito comum a ocorrência de apoptose celular e degradação de parte da cartilagem formada em vista de possibilitar-se o desenvolvimento de vasos sanguíneos em regiões pouco acessíveis. A ocorrência de tal fenômeno se dá a partir da expressão de uma variedade de fatores de crescimento de vasos sanguíneos, os quais permitem a geração destes a partir de vasos pré-existentes por meio de duas vertentes distintas: uma logo no início do processo regenerativo e outra a qual sucede a primeira e regula a angiogênese até o fim da regeneração óssea.

Conforme citado anteriormente, a degradação e reabsorção do tecido cartilaginoso formado ocorrem em vista de permitir o desenvolvimento de vasos sanguíneos na região em reconstrução. Contudo, tal processo ocorre de modo muito mais intenso durante a mineralização e desenvolvimento de tecido de caráter ósseo. Em tal etapa, observa-se proliferação e diferenciação de diversos tipos celulares ósseos, os quais tem seu volume incrementado, ao mesmo tempo em que matriz óssea é depositada. Células do tecido cartilaginoso, por meio de determinados fatores químicos, sofrem hipertrofia e calcificam-se, enquanto que a matriz cartilaginosa é reabsorvida e grupos de células ósseas são aos poucos recrutadas. Tem-se o desenvolvimento, assim, do denominado calo duro, de resistência mecânica significativa, apesar de ainda inferior à do osso saudável. Com o tempo, tal tecido formado é, aos poucos, reformulado por osteoclastos, tornando-se mais denso em dadas regiões e mecanicamente mais adaptado.

Tal processo de reformulação é sucedido por uma fase de reabsorção secundária, pela qual a estrutura óssea original é finalmente reestabelecida. A partir desta, tecido cortical é, enfim, desenvolvido, sendo possível verificar, após esta, a existência de lamelas no entorno de canais sanguíneos, estrutura característica de ósteons. Do mesmo modo, regiões trabeculares são, também, reconstruídas, bem como cavidades medulares. Tendo participação tanto de osteoclastos como osteoblastos, tal processo se inicia após cerca de três a quatro semanas após o rompimento do osso, sendo finalizado após alguns anos. A ação de tais tipos celulares, no entanto, está intensamente vinculada à aplicação de tensões mecânicas, ou seja, com um maior uso do osso em tratamento, o qual permite o desenvolvimento de polaridade elétrica em dadas faces do meio cristalino.

O reestabelecimento completo de um osso fraturado por via direta, por sua vez, pode ocorrer a partir de dois modos distintos, dependendo da disposição das partes do tecido fraturado. Apesar das dissemelhanças apresentadas, ambas as metodologias procuram regenerar a estrutura óssea de modo direto, obtendo-se, com tal processo, um osso totalmente ativo sob a óptica biomecânica. São possíveis, no entanto, apenas com completa fixação dos fragmentos ósseos, reduzindo-se significativamente o movimento relativo entre estes. Caso a separação entre tais parcelas seja inferior a 10^{-5} m o movimento relativo caracterize uma deformação inferior a 2 %, tem-se a regeneração direta de contato. Por esta, cones ósseos formam-se a partir das superfícies de fratura, tendo seu tamanho incrementado por osteoclastos e osteoblastos, os quais permitem, assim, a união das partes de modo a garantir a presença de canais harvesianos, os quais permitem a revascularização local. A regeneração direta do tipo vazio, por sua vez, é desenvolvida para situações em que as partes fraturadas se apresentam relativamente fixadas e tendo uma distância entre 0,8 a 1 mm, sendo caracterizada pelo reestabelecimento da integridade do tecido em um período distinto do verificado para o desenvolvimento de osteons. O processo se dá a partir da formação de estrutura óssea perpendicularmente ao eixo do osso rompido, sendo esta primária e garantindo certa estabilidade mecânica. Em etapa subsequente, tal estrutura é gradualmente modificada, permitindo, enfim, a formação de canais harvesianos, e entre outros.

2.6.2.4. Implantes – Metodologias aplicadas para dinamização da recuperação de tecidos ósseos.

Visto a grande complexidade de tal estrutura, o desenvolvimento de tratamentos e componentes mecânicos os quais permitissem uma recuperação mais rápida de lesões ou uma substituição de parcela do tecido visto a destruição parcial ou total deste consistem em tarefas problemáticas, sendo ainda alvo de grande quantidade de estudos. Como solução mais simples em termos clínicos a tais questões, pode-se citar a realização de auto enxertos, a partir dos quais parcela de dado osso do paciente é utilizada como suporte de crescimento de tecido com dada enfermidade ou rompido. Contudo, tal solução encontra problemas significativos: uma maior probabilidade de morte do paciente pelo processo operatório e escassez de material a ser utilizado para

tanto. Enxertos realizados com tecidos de outros indivíduos consistem em práticas também aplicáveis, apresentando, do mesmo modo, desvantagens significativas, visto a possibilidade de ocorrência de rejeição o substrato, bem como infecções, transmissão de doenças e entre outros.

Assim, substratos artificiais, já apresentados no presente texto, mostram-se como alternativas relativamente viáveis a pacientes os quais necessitem de tecidos ósseos ou cuja solução a seus problemas consista em substituir parte faltante por uma estrutura de propriedades equivalentes. Tais componentes são desenvolvidos com biomateriais os quais procuram imitar os tecidos os quais substituem, tanto em termos mecânicos como químicos, em curto e longo prazos, o que exige, para a maior parte dos compostos utilizados, grande esforço para ajustes de propriedades. Procura-se, assim, modular-se o comportamento dos biomateriais tanto a curto com a longo prazo, em especial, em termos mecânicos e químicos.

2.6.2.5. Compreensão dos fenômenos envolvidos em tratamentos com implantes ósseos.

Tais aspectos estão fundamentalmente ligados ao fenômeno de adesão de células a biomateriais, influenciando de modo significativo no desempenho do componente implantado, e assim, na cinética de recuperação do paciente. Tal processo ocorre por meio de estruturas presentes na membrana de células as quais permitem integração entre estruturas intracelulares, em especial, do citoesqueleto, e a complexa rede molecular presente externamente a estas: a matriz extracelular (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). Denominadas integrinas, tais estruturas consistem em heterodímeros proteicos, ou seja, complexos de duas proteínas, as quais variam de acordo com o tipo de interação os quais devem lidar (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). Com sua estrutura, e interagindo tanto com elementos externos às células como ao próprio citoesqueleto e moléculas sinalizadoras, são capazes de regular grande parte das atividades desenvolvidas no meio intracelular. Ao verificar-se o contato entre células e biomateriais, é possível verificar-se uma maior densidade de tais complexos, o que indica forte influência destas no fenômeno de aderência. Locais onde tal contato é mais intenso são denominados contatos focais,

sendo possível identificar-se uma distância entre a membrana e a superfície do material de dez a 15 nm, em média. São observados, no entanto, regiões de contato com distâncias muito superiores, variando de 1 a 5 μm , os quais são gerados a partir da força empreendida na movimentação celular, fenômeno que desenvolve estruturas as quais maturam tornando-se contatos focais, sendo denominados complexos focais.

Tal complexa rede de substâncias interage, por meio de integrinas, com moléculas pertencentes à matriz extracelular. Esse arranjo também complexo é desenvolvido pelas próprias células pertencentes ao tecido analisado, consistindo em fibras proteicas, em especial, colágenos tipo I e V, envolvidas por uma rede de moléculas de proteoglicanos. A Figura 28 apresenta uma representação das diferentes estruturas verificadas na região interna e externa de uma célula genérica.

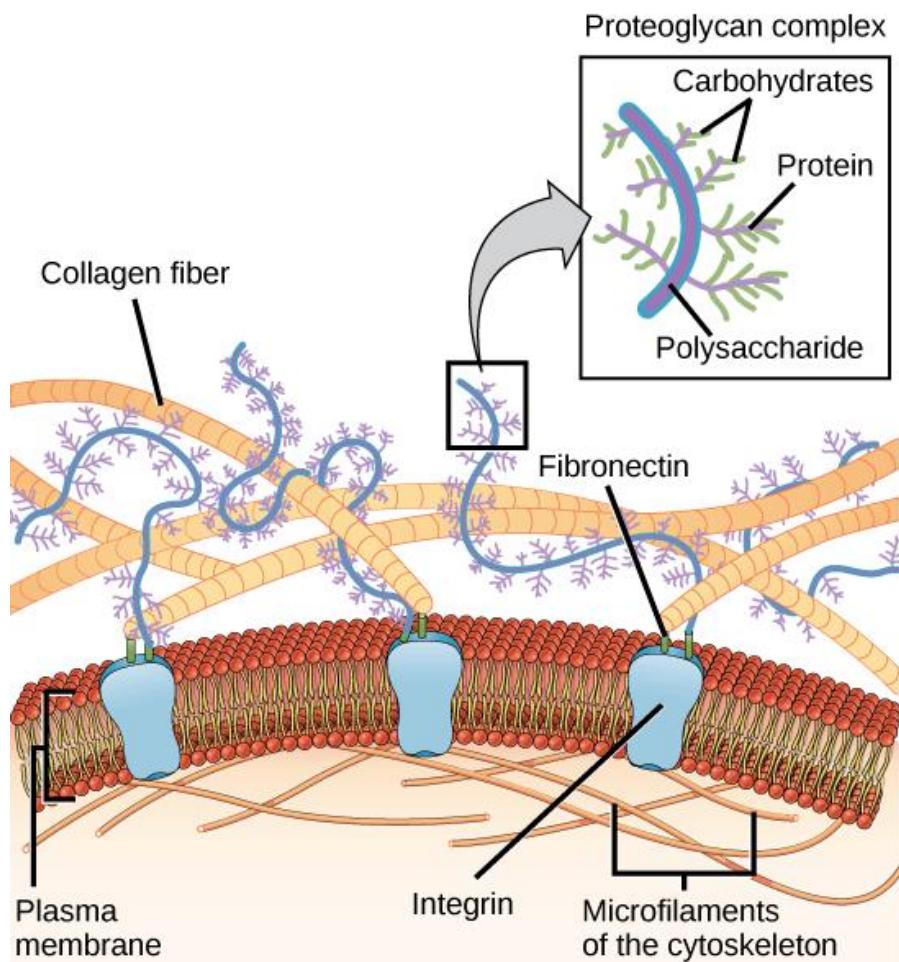


Figura 28 - Representação de uma membrana citoplasmática, sendo possível notar a presença de entidades de grande importância na comunicação do ambiente interno da célula ao externo: integrinas e filamentos do citoesqueleto. Fonte: (“The extracellular matrix and cell wall (article) | Khan Academy”, [s.d.]).

Ao ocorrer a implantação de um material qualquer em dado tecido orgânico, moléculas proteicas e fluidos intersticiais recobrem a superfície do componente, o que impede o contato direto das células do hospedeiro com tal material. Assim, tais substâncias são utilizadas pelo tecido adjacente em vista do reconhecimento de características do corpo estranho existente. Atrações iniciais entre células e biomaterial são desenvolvidas por forças intermoleculares físicas, como de van der Waals ou iônicas, as quais conectam fracamente a membrana celular a componentes da camada orgânica a qual recobre o componente implantado (MORIARTY et al., 2011). Conforme há adaptação do tecido ao material, as células neste aderidas iniciam a produção de integrinas e entre outras, o que intensifica a relação entre as partes, sendo denominada por muitos autores como fase de grude (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). Tal período permite, em momentos subsequentes, o desenvolvimento de pontos focais em dadas regiões no contato entre célula e implante, além de reorganização de estruturas do citoesqueleto, o qual começa a ser tensionado por moléculas de miosina em vista da manutenção da forma obtida durante o processo de adaptação do tecido, sendo tais etapas indicadoras do início da fase de firmeza do tecido no substrato. Essas formações moleculares tornam propícia a ocorrência de processos metabólicos diversos no tecido, como, por exemplo, a multiplicação celular na superfície do biomaterial, o que se dá pelo aumento da interface entre células e biomaterial, bem como um maior alinhamento destas à morfologia superficial do implante. Em um estágio final, as células presentes na interface entre biomaterial e tecido orgânico iniciam a produção de substâncias características da matriz extracelular, completando-se, assim, o processo de adesão celular em implantes. A Figura 29 apresenta, de modo sucinto, o processo de adesão de uma célula genérica em u substrato implantado.

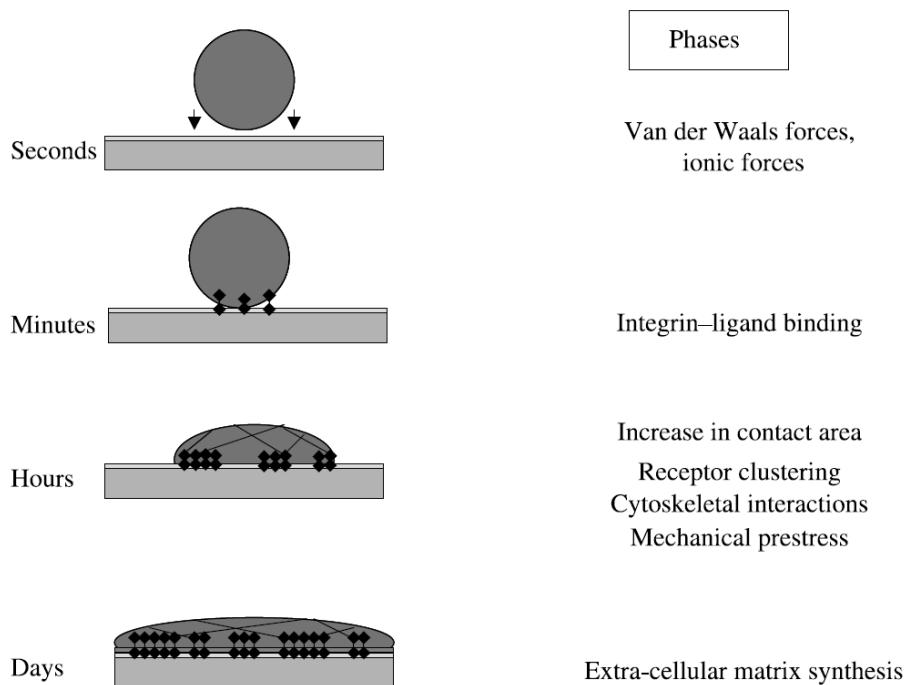


Figura 29 - Representação dos diferentes estágios pelos quais dada célula ou conjunto de tais entidades passa para aderir de modo intenso à superfície de dado material exógeno, como, por exemplo, um biomaterial. Fonte: (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010).

A primeira classe de aspectos deve ser corretamente ajustada visto que um correto acoplamento entre substratos permanentes ou implante e tecido ósseo ocorre quando apresentam propriedades mecânicas próximas, de modo que o biomaterial não agrida as células próximas a este. Uma maior resistência mecânica faria com que o componente inserido fosse capaz de lidar mais facilmente com esforços mecânicos mais intensos, acarretando no enfraquecimento do osso. Esse efeito decorre da lei de Wolff, segundo a qual a estrutura óssea de mamíferos adapta-se aos esforços pela qual passa ao longo da vida do indivíduo. Assim, a inserção de componentes mais resistentes mecanicamente resultaria em uma diminuição da carga mecânica aplicada nos tecidos adjacentes visto a menor transferência de carga pelo implante ou substrato, fato que implica em uma reabsorção da matriz óssea (WU et al., 2014). Tal questão torna-se significante para implantes e substratos de crescimento celular, visto que menores resistências mecânicas estariam associadas, para o primeiro caso, em uma atenuação contínua da resistência óssea, enquanto que, para o segundo, tem-se reduzida fixação do tecido no biomaterial, dificultando, assim, a recuperação óssea. A presença de materiais mais resistentes que os tecidos presentes ocasionaria,

também, em uma reação imunológica aguda, a qual seria acompanhada de inflamação local e dor.

Cada constituinte do esqueleto humano apresenta aspectos mecânicos característicos, visto a distinta estrutura hierárquica que os compõe. Ensaios de tração com o tecido cortical, por exemplo, apresentam, em geral, uma parcela elástica seguida de um platô de grande deformação plástica, sendo este tanto maior quanto menor a taxa de cisalhamento aplicada, como se verifica na Figura 30.

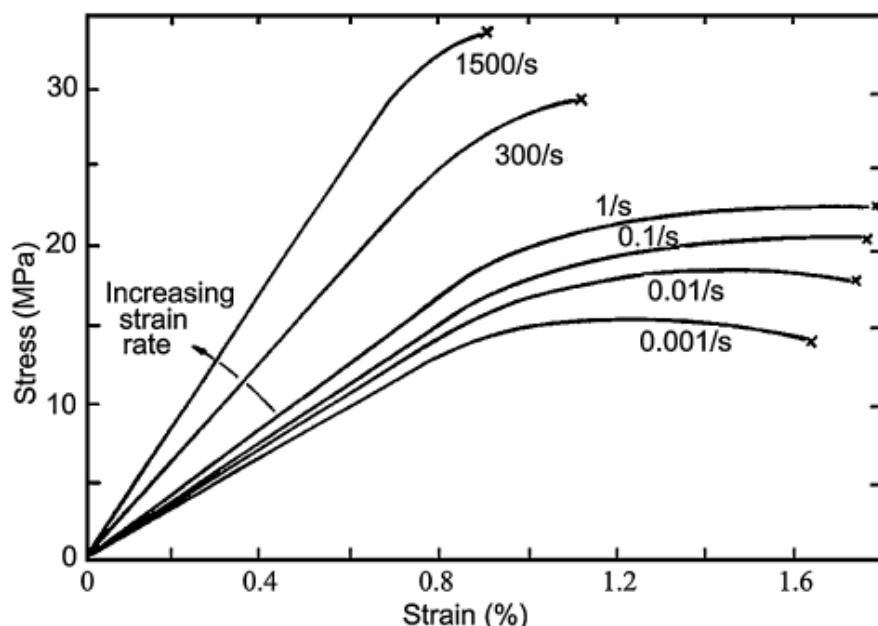


Figura 30 - Curvas típicas de ensaios de tração realizados com amostras de formas e constituição variados de tecidos ósseos corticais. Fonte: (WU et al., 2014).

O tecido cortical, por sua vez, apresenta comportamento muito distinto quando em compressão, visto sua função mecânica de absorver impactos de alta intensidade. Em baixos valores de deformação, o material apresenta resposta majoritariamente elástica, gerada pela estrutura trabecular encontrada (WU et al., 2014). Tal região é seguida de um comportamento cuja tensão verificada geralmente constante com a deformação, sendo originado do rompimento dos trabéculos ósseos e da consequente redução do volume dos poros presentes, processo que ocorre até compactação máxima, observando-se, a partir de então, um aumento significativo da tensão como resposta da deformação gerada, como se observa na Figura 31.

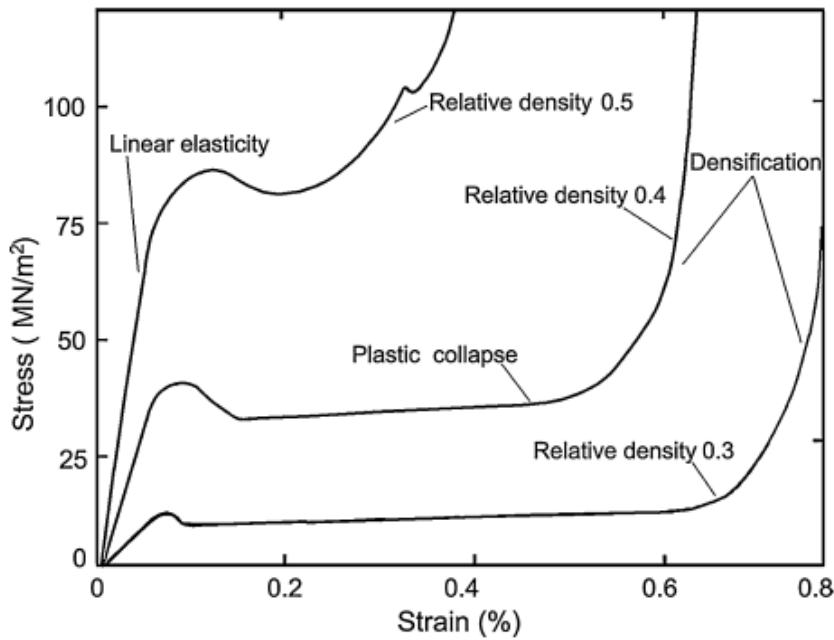


Figura 31 - Comportamento típico de tecido ósseo trabecular, sendo possível verificar-se a região de rompimento dos trabéculos, a qual é seguida de compactação dos fragmentos e posterior ascensão de resistência pela máxima compactação. Fonte: (WU et al., 2014).

Os valores obtidos referentes a tais ensaios variam, ainda, de modo intenso de acordo com o osso em estudo, verificando-se mudanças com a composição química do tecido, porosidade, tamanho e direcionamento dos poros, e até mesmo com a idade do indivíduo. Sendo assim, é fundamental fazer com que as propriedades mecânicas dos biomateriais se adequem de acordo com o tipo de tecido dos quais farão parte, lavando em conta, assim, todos os aspectos acima citados.

Tais atributos mecânicos são muito influentes com relação ao biomaterial escolhido para dada aplicação, podendo ser estes, como anteriormente citado, metais, cerâmicos e poliméricos. A primeira classe de materiais é geralmente aplicada quando é exigido do componente implantado grande resistência mecânica. São, assim, utilizados como biomateriais ligas de aços inoxidáveis, aços austeníticos, ligas a base de cobalto, de magnésio e de titânio, sendo este último preferível por sua densidade reduzida (WU et al., 2014). Materiais metálicos apresentam, ainda, grande vantagem em termos da conformabilidade nestes verificada, o que se contrapõe a uma comum maior resistência mecânica, a qual pode ser facilmente verificada pelo módulo de Young destes, que é superior ao verificado em ossos. É comum, assim, desenvolverem-se componentes os quais apresentem mecanismos capazes de

adequar suas propriedades mecânicas, o que é realizado, em geral, a partir do desenvolvimento de fases metálicas mais apropriadas, como ocorre em ligas de titânio, além da produção de uma estrutura porosa. A última solução citada ainda interessante pela capacidade de produção de uma estrutura a qual auxilia tanto a disseminação de espécies celulares como a vascularização do novo tecido gerado, processo fundamental à boa regeneração do tecido ósseo (WU et al., 2014).

Biovidros correspondem a uma outra classe de materiais os quais são aplicados em implantes ou substratos ósseos, visto as melhores capacidades adesão e reprodução celular em sua superfície e biodegradabilidade, alta capacidade de liberação de princípios ativos, promoção de mineralização do tecido e até mesmo ativação de genes vinculados à osteogênese (WU et al., 2014). Consistem em cerâmicas vítreas com cerca de 40 a 50 % e sílica em sua composição, unida a 40 a 50 % de óxidos alcalinos e alcalinoterrosos e 2 a 6 % de pentóxido de fósforo. Tais materiais, por sua constituição química, favorecem o desenvolvimento de cristais de hidroxiapatita, além de permitir intensa adesão das espécies celulares presentes nos tecidos ósseos. Sua natureza cerâmica, no entanto, torna a mimetização dos aspectos mecânicos um grande desafio para uma mais ampla aplicabilidade de tal biomaterial. Sendo assim, é necessário desenvolver-se processos produtivos os quais o tornem mais adequado para aplicação como implantes ou substratos, procurando-se, por exemplo, desenvolver-se porosidade, ou mesmo utilizá-lo como particulado em uma rede formada por outro biomaterial cujos aspectos mecânicos são mais adequados.

Determinados polímeros são, também, largamente aplicados como biomateriais, como o ácido polilático, ácido poliglicólico, policaprolactona, polihidroxialcanoatos, polietileno de ultra alta densidade, alginato, quitosana, colágeno, e entre outros. Visto a excelente biocompatibilidade de tais materiais, a grande capacidade de adaptabilidade química possível e, para muitos destes, biodegradabilidade, biopolímeros, tanto naturais como sintéticos têm sido muito aplicados e pesquisados em vista do desenvolvimento de maior funcionalidade (WU et al., 2014). Diferentemente os metais, a maior parte de tais materiais apresenta como grande empecilho à ampla aplicabilidade uma baixa ou instável resistência mecânica. Sendo assim, são em grande maioria dos casos, utilizados como substratos de crescimento, não sendo exigido destes grande resistência a esforços mecânicos. Em geral, são aplicados como matrizes de compósitos com particulado ou nanofibras do mesmo

material ou de hidroxiapatita, o que garante maior estabilidade estrutural. É fundamental, no entanto, ter-se em mente que o direcionamento, forma e tamanho da fase dispersa de tais compósitos é intensamente influente na qualidade final do material. É possível, com tais materiais, desenvolver-se blendas com biopolímeros os quais procuram simular a existência de uma matriz extracelular, como colágeno, quitosana, gelatina ácido hialurônico e entre outros. Deste modo, o componente produzido torna-se altamente adaptado à aplicação desejada em termos químicos, intensificando a velocidade do tratamento. O uso de blendas torna-se necessário visto que tais biopolímeros possuem processabilidade pouco satisfatória, como ocorre como a quitosana, além propriedades mecânicas pouco favoráveis. Pesquisas na área permitiram, também, o desenvolvimento de compósitos de tais biopolímeros com biovidros, sendo possível, a partir de técnicas como liogilização, produzir-se componentes com propriedades mecânicas e químicas adequadas à aplicação como substratos de crescimento de tecido ósseo (WU et al., 2014).

Os ajustes vinculados à aspectos superficiais torna-se essencial visto que tal região do biomaterial, mais energética, tende a alcançar mais rapidamente estados de maior equilíbrio. Esse fenômeno desenvolve-se, em geral, com a perda progressiva de grupos funcionais específicos necessários a uma boa interação entre implante e organismo, bem como a liberação de íons problemáticos ao ser hospedeiro, podendo desenvolver perda de eficiência no tratamento ou, em casos mais graves, rejeição e morte celular de tecidos mais próximos por processos inflamatórios. Assim, é comum a realização de tratamentos em vista da inserção de fatores de crescimento, bem como determinadas substâncias as quais evitem processos de rejeição e até mesmo células-tronco ósseas (AGARWAL; GARCÍA, 2019; BAZAKA; BAZAKA, 2015; MORIARTY et al., 2011; SHEN; LI; LIU, 2012). Outras alternativas estão vinculadas ao desenvolvimento de topografias e nanoestruturas de grande especificidade, as quais permitem uma interação benéfica entre o implante e tecidos afetados (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010).

Os ajustes da química de superfície procuram promover, como já mencionado, a menor estranheza possível entre implante e hospedeiro, o que significa mimetizar o comportamento esperado pelo tecido o qual substitui. Isso ocorre principalmente a partir da adaptação da superfície de tal material à química verificada na matriz extracelular do tecido alvo. Conforme foi descrito anteriormente, sendo composta por

diferentes tipos de colágenos e glicoproteínas variadas, como proteoglicanos, elastinas e fibronectinas, tal estrutura varia de acordo com o tecido em que se encontra e apresenta intensa acidez e hidrofilicidade. Tal sistema consiste em uma estrutura tridimensional de alta complexidade, responsável pela adesão entre células, proliferação destas e diferenciação, no caso de tecidos com alta densidade de células-tronco. Sua interação com tipos celulares variados dá-se a partir de sítios específicos de interação, tendo estes, em sua composição, integrina, domínios de discoidinas, e receptores CD44 de ácido hialurônico, os quais permitem um ajuste de diversos processos vinculados ao metabolismo celular (THEOCHARIS et al., 2016). Esse contato ocorre a partir de quatro estágios distintos, iniciando-se com a captação de dados sinais químicos a partir de algum dos receptores anteriormente citados. Em uma etapa seguinte, os receptores ativados promovem a formação de compostos os quais modificarão o funcionamento ou metabolização de dadas moléculas componentes celulares. Tal fenômeno ocorre a partir de reações químicas em cascata, as quais amplificam o sinal recebido, sendo capazes de alterar a leitura dos genes relacionados às funções celulares respectivas. A conexão intercelular, executada por moléculas específicas, como integrinas, em receptores igualmente específicos representa a terceira etapa do processo de interação entre tal matriz e as células do tecido, permitindo a ocorrência do quarto estágio: a comunicação entre diferentes células, permitindo que o sinal captado seja transmitido.

A matriz extracelular, tendo alta complexidade, é secretada pelo próprio tecido no qual está contido, sendo que variações em sua composição e estrutura se dão por diferentes interações entre as células e o meio. Assim, há adaptação dessa matriz aos diferentes estímulos aos quais pode ser submetida, o que permite a verificação, pelo organismo, da presença de condições possivelmente patógenas, permitindo rápida atuação do sistema defensivo do organismo (THEOCHARIS et al., 2016). Do mesmo modo, dados processos químicos ou biológicos são igualmente capazes de modificar tal estrutura, o que pode, do mesmo modo, ser percebido pelo organismo como uma condição patógena. Permitir a formação de uma matriz extracelular e que esta seja adequada à boa adesão e reprodução celular consiste em um ponto fundamental para qualquer biomaterial, o que implica, também, na redução de riscos de formação de estruturas promotoras de respostas imunológicas.

Para tanto, como já citado anteriormente, práticas de tratamentos superficiais são, em geral, desenvolvidos em componentes de implantes a fim de se evitar tais consequências, o que é realizado de diversos modos. É importante ter-se em mente que esses processos objetivam alterar a superfície dos biomateriais ao mesmo tempo em que os aspectos intrínsecos deste, como propriedades mecânicas, são mantidas idênticas ao composto original, o que é fundamental para boa aceitação e desempenho do componente (AGARWAL; GARCÍA, 2019). As metodologias de modificação superficial dividem-se em duas categorias distintas, de acordo com o tipo de processo executado, sendo denominados, portanto, físicos e químicos, tanto ambos, no entanto, o objetivo em comum de funcionalizar a superfície do implante em questão (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010; PRZEKORA, 2019; WANG; HUANG; QIAN, 2018).

A primeira classe de metodologias dá-se pela interação do biomaterial com o meio em que se encontra e tem como exemplos anodização, gravura química e eletroquímica, hidrólise, oxidação, implantação por íons de plasma e técnicas litográficas (AGARWAL; GARCÍA, 2019). Tais metodologias podem ser desenvolvidas de modo específico ou não, sendo capazes, no primeiro caso, de produzirem grupos funcionais, a priori, conhecidos, evitando-se a ocorrência de sistemas reativos os quais gerem produtos diversificados, sendo este o caso de metodologias não específicas (AGARWAL; GARCÍA, 2019). Com estas, desenvolve-se, na superfície, uma gama de grupos funcionais distintos, cuja caracterização exige o desenvolvimento de técnicas estatisticamente corretas. A adsorção a partir de ligações covalentes, também denominada adsorção química, corresponde a uma metodologia mais eficaz e de maior durabilidade que o processo físico, visto a mais intensa conexão entre a superfície dos biomateriais e os grupos funcionais ou moléculas específicas. A partir de tal técnica, a qual exige tratamentos específicos para cada tipo de componente a ser adicionado à superfície do implante, é possível funcionalizá-lo com fatores de regeneração e crescimento ósseo, por exemplo, o que permite uma recuperação mais intensa. Metodologias de hidrólise superficial são também aplicadas em vista do desenvolvimento de funcionalidades ácidas na interface entre o biomaterial e o organismo, como hidroxilas e ácidos carboxílicos. Tal metodologia é muito aplicada para componentes poliméricos, e são realizados a partir de tratamentos com ácidos são comumente aplicados, executando a clivagem de

ligações químicas específicas, com ésteres (RANA et al., 2017). Acetilação, fluorinação e silanização de superfícies hidroxiladas consistem em tratamentos específicos, enquanto que processos por efeito corona, oxidação de metais e tratamentos ácido-base em polímeros representam metodologias não específicas (WU et al., 2014).

Outro modo de realizar tratamentos químicos consiste na aplicação de recobrimentos variados, os quais, tendo reduzida espessura, permitem a obtenção de características superficiais muito distintas e com funcionalidade diversa sem a alteração se características intrínsecas do biomaterial (WANG; HUANG; QIAN, 2018; WU et al., 2014). A aplicação de coatings e de filmes de baixa espessura consiste em uma prática relativamente comum, e permite o desenvolvimento de fina camada de substâncias mais aptas a uma boa interação com o meio orgânico. Tais filmes podem ser inorgânicos, como os derivados de hidroxiapatita, orgânicos gerados a partir de matriz extracelular e híbridos. A primeira classe de modificação é obtida a partir da deposição de agentes precursores moleculares fosfatados, sendo possível obter finas camadas de hidroxiapatita, a qual é responsável por excelente integração do componente de biomaterial ao meio orgânico em uma velocidade significativamente maior que quando não aplicados tais filmes. Metodologias as quais apliquem a deposição dos filmes via sol-gel são capazes de produzir camadas mesoporosas, as quais mostraram grande capacidade de adesão e reprodução de osteoblastos, essenciais à regeneração óssea. A substituição parcial de íons de cálcio – presentes no reticulado de hidroxiapatita – por cátions metálicos de estrôncio e silício, por sua vez, permite, também, um aumento significativo no processo de diferenciação de células-tronco presentes na região em osteoblastos e na reprodução destes. Tal fenômeno estaria vinculado a interações entre tais íons e receptores de cálcio presentes na membrana celular de tais tipos celulares as quais promoveriam intensificação do processo de mitose. A inserção de íons variados é, ainda, um fator muito interessante em vista da capacidade antibacteriana gerada por determinados metais, evitando-se, de modo mais eficaz, a ocorrência de infecções oportunistas (WU et al., 2014).

A aplicação de camadas finas de substâncias orgânicas presentes em matrizes extracelulares, por sua vez, corresponde a uma metodologia também eficaz em termos do desenvolvimento de implantes de alto desempenho. Assim, são também

realizadas metodologias as quais procuram depositar na superfície de tais componentes colágeno, peptídeos diversos, gelatina, alginato e entre outros, o que é feito, em geral, em duas etapas. A primeira está vinculada à adequação da superfície do material original em vista da adesão das moléculas desejadas, sendo tal fenômeno correspondente ao segundo passo da transformação desejada. Cada tipo de molécula aderida na superfície do material é capaz de criar, no implante, uma capacidade distinta, a qual culminaria em um aumento da velocidade de tratamento e que dependeria da etapa do processo regenerativo que esta é capaz de influenciar (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). A exemplo disso, pode-se verificar que fibras de colágeno são capazes de estimular a formação de nova matriz óssea, enquanto que, quando este é acompanhado de ácido hialurônico sulfatado, verifica-se uma diferenciação celular de osteoblastos mais intensa. Tal técnica é aplicada, também, em vista da obtenção de superfícies capazes de liberar, durante dado período de tempo, determinados compostos atuantes no meio orgânico, como agentes antibacterianos. Tal fenômeno é, em geral, obtido a partir da aplicação de camadas sucessivas do princípio ativo e de um composto protetor o qual é degradado ao longo do tempo, sendo comumente utilizados polieletrolitos. É essencial, no entanto, que sejam aplicados, no caso de agentes antibacterianos, substâncias as quais não sejam compatíveis com as células ósseas em atuação na reconstrução óssea, de modo a não aumentar o tempo de tratamento.

2.6.2.6. Quitosana e suas propriedades biológicas.

Conforme citado, a quitosana consiste em um composto químico o qual pode ser aplicado como biomaterial, tanto como em compósitos como em filmes de substâncias adsorvidas em componentes implantados. Consistindo em um derivado parcialmente desacetilado da quitina, o polissacarídeo mais comumente encontrado na superfície terrestre depois da celulose, pode ser gerado em larga escala e a custo baixo, o que implica, para os implantes e substratos os quais apresentem tal substância, em práticas de preços mais baixos. A grande disponibilidade de matéria-prima necessária para sua produção encontra apoio no material do qual a quitina pode ser extraída: carapaças de crustáceos, exoesqueletos de artrópodes e paredes celulares de grande quantidade de fungos. Sua aplicabilidade como biomaterial, por sua vez, é justificada

por sua biocompatibilidade, ausência de toxicidade, inércia com relação aos processos fisiológicos, biodegradabilidade, gerando, ao longo do tempo, produtos não tóxicos, alta afinidade com tecidos orgânicos, ação antibacteriana, fungicida, antitumoral e anti-hemorrágico (LI et al., 2018). Em contrapartida, apresenta baixa resistência mecânica, o que torna sua aplicação na forma pura como biomaterial um exercício pouco aconselhável, sendo mais aplicada em blendas com outros polímeros com melhores características mecânicas, bem como modificadores de substratos ou implantes a partir da formação de filmes finos na região superficial de polímeros, cerâmicas ou mesmo metais (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). Sua aplicação torna-se, no entanto, muito mais vantajosa em substratos regenerativos os quais tem capacidade de serem degenerados com o tempo, como os desenvolvidos a partir de poliésteres biodegradáveis, tendo-se como exemplo ácido polilático ou mesmo poli(ácido lático-co-ácido glicólico), ou mesmo policaprolactona.

Como citado anteriormente, a quitosana apresenta-se como um polissacarídeo linear, composto de glucosamina e N-acetyl glucosamina, os quais são conectados por ligações nos carbonos 1 e 4 dos anéis de tais estruturas, como se verifica na Figura 32, na qual são representadas as estruturas da quitina e quitosana.

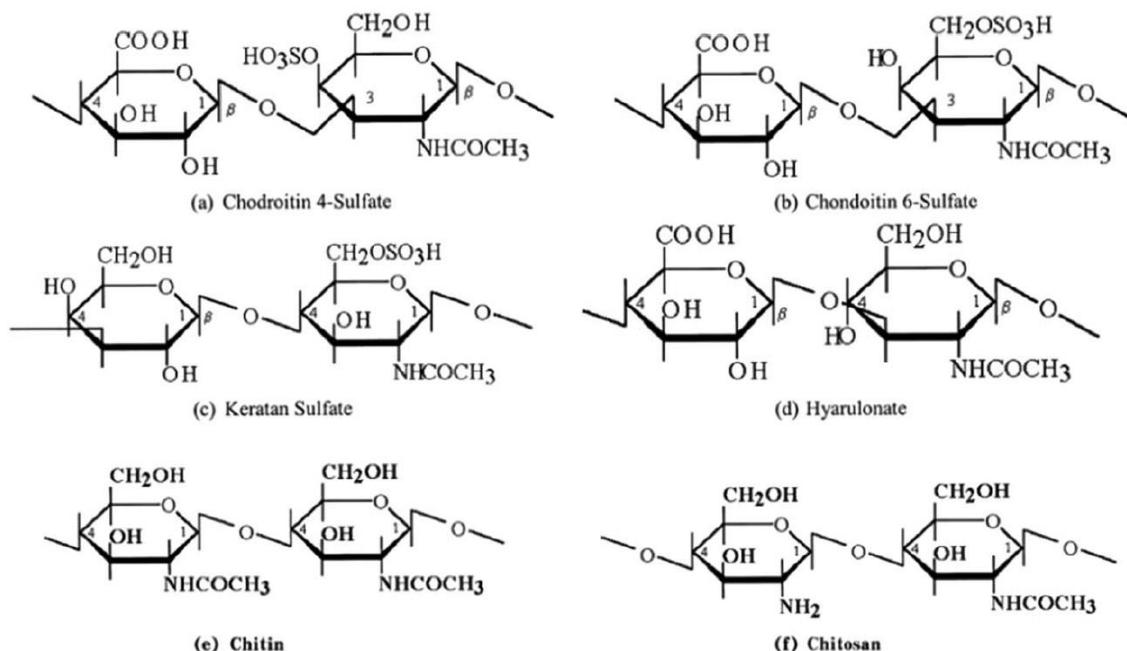


Figura 32 - Representação de estruturas as quais são repetidas nas macromoléculas de quitosana, quando parcialmente desacetylada. A estrutura de quitosana (f) é composta predominantemente por ciclos de caráter levemente básico. Fonte: (LI et al., 2018).

Sua estrutura especial linear é muito semelhante à de glicosaminoglicanos, constituintes muito presentes na matriz extracelular, o que intensifica sua biocompatibilidade, diferenciando-se, no entanto, pelos açúcares presentes na molécula em questão. Quanto maior o grau de desacetilação do material, maior a quantidade de grupos glucosamina, o que depende significativamente do processo realizado para sua obtenção, o qual define em grande parte, também, o tamanho das cadeias poliméricas obtidas. Tal substância, a temperatura ambiente e na forma cristalina, não é solúvel em soluções aquosas básicas, o que ocorre em soluções ácidas com pH abaixo de 6. Em tais meios, as aminas presentes são protonadas, o que permite a formação de complexos de solvatação, visto o ganho de cargas positivas ao longo da molécula, a qual pode ser denominada, quando em tal estado, de polieletrólito. A presença, ainda, de grupos hidroxilos e de ácidos carboxílicos – nas porções acetiladas – dá à molécula em questão grande reatividade, a qual é, em diversas aplicações, muito vantajosa (KIM et al., 2008).

Tal composto, ganhando, em ambientes levemente ácidos, um caráter positivo, ao atuar em um componente implantado, entrará em contato com substâncias presentes no organismo humano. Proteoglicanos e glicosaminoglicanos, componentes encontrados em grande quantidade na matriz extracelular, encontram-se, no organismo humano, negativamente carregados, o que permite o desenvolvimento de uma atração eletrostática entre tais moléculas e a quitosana. Estudos indicam que o complexo formado pela união entre tais macromoléculas facilita, ainda, a definição da forma das novas células formadas, além do tipo e função por estas adquiridas. Além disso, como dito anteriormente, a quitosana apresenta propriedades antibacterianas ativas para uma grande variedade de seres procariontes. Altos graus de desacetilação de tal molécula permite que esta adquira fortes cargas negativas, as quais interagem intensamente com as paredes celulares de bactérias, promovendo a desagregação de tal estrutura, e assim, seu rompimento e consequente morte do antígeno. O caráter antibacteriano de tal macromolécula está vinculado, ainda, à reatividade a qual possui com moléculas de DNA. Deste modo, oligômeros de quitosana, ao penetrar no meio intracelular de bactérias, liga-se a tais moléculas, impedindo a produção de RNA, e assim, a manutenção das funções vitais de tal ser vivo, ocasionando a morte destes (KIM et al., 2008). Moléculas de grande comprimento, por sua vez, teriam capacidade de conectar-se à receptores

negativamente carregados de bactérias, desenvolvendo uma membrana polimérica a qual atuaria como barreira contra a entrada de nutrientes essenciais ao metabolismo do antígeno (CHEN; LIN; LIN, 1994).

Aliado a tais efeitos, moléculas de quitosana desenvolvem no organismo baixo nível de resposta imunológica, com baixo nível de encapsulação. Sua presença permite uma rápida evolução de vasos sanguíneo na região a ser reconstruída, o que é fundamental para um tratamento mais eficaz e rápido. Conforme citado anteriormente, a quitosana sofre, após dado tempo, um crítico processo degradativo, pelo qual sua cadeia é rompida por hidrólise enzimática, o que ocorre de modo concomitante com perda de integridade do material, ou seja, com redução de suas propriedades mecânicas, além da mudança de sua solubilidade no meio. Lisozimas são responsáveis pelos primeiros passos da decomposição das moléculas de quitosana, atuando nas unidades acetiladas de modo a produzir oligossacarídeos de tal substância de tamanhos variados. Assim, quanto menor o grau de desacetilação, mais rapidamente as macromoléculas são hidrolisadas. Paralelo a isso, uma maior massa molar da quitosana reduz a velocidade de degradação, uma vez que cadeias maiores apresentam uma locomoção reduzida, o que dificulta a ação das enzimas citadas (CHEN; LIN; LIN, 1994). Contudo, tal processo não altera as respostas imunológicas verificadas para tal composto, o que é, para grande parte dos biomateriais utilizados, um fenômeno pouco comum. Ao contrário do que se observa com metais, por exemplo, cujos produtos desenvolvidos pela degradação destes são muitas vezes maléficos ao hospedeiro, os fragmentos de quitosana induzem uma maior proliferação celular na região em que se encontram, especialmente de fibroblastos, gerando maior integração entre substrato e tecido orgânico (KIM et al., 2008).

Consistindo em uma união entre as duas metodologias anteriormente descritas, a aplicação de recobrimentos híbridos, tanto com moléculas orgânicas quanto com material inorgânico, representa os mais comumente utilizados, visto o alto desempenho que implantes com tais tratamentos apresentam, bem como as diversas funções auxiliares que podem desenvolver. A partir da aplicação de filmes híbridos, é possível obter-se funções antibacterianas, bem como dureza superficial desejada, adsorção seletiva de proteínas e até mesmo liberação controlada de determinados princípios ativos. Assim, é possível desenvolver-se o crescimento mais facilitado de

determinados tipos celulares, bem como intensificar-se substâncias as quais promovam determinados processos verificados durante a reconstrução do tecido ósseo. A exemplo disso, substratos de poli(ϵ -caprolactona)/fosfato tri-cálcico, quando recobertos por gelatina e hidroxiapatita carbonatada, são capazes de aumentar a expressão de osteonectina, ostreocalcina e osteopontina, proteínas necessárias à regeneração celular, bem como células constituintes do estroma da região cancelosa de ossos, responsáveis por fornecer nutrientes aos demais tipos celulares.

Como citado anteriormente, além de vias químicas, superfícies podem ser modificadas a partir de metodologias físicas (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). A partir destas, é possível controlar-se o relevo micro ou nanoscópico da superfície, desenvolvendo-se uma rugosidade ou topografia, não sendo, para tanto, necessário modificar-se a composição química deste. É importante ter-se em mente que rugosidade é definida como um padrão superficial, em geral aleatório, de morros e vales de tamanhos e distâncias variadas, enquanto que topografias consistem em arranjos de relevos bem definidos e de tamanhos controlados, como indica a Figura 33.



Figura 33 - Imagem representativa a qual diferencia as definições de topografia, à direita, e rugosidade, à esquerda. Fonte: (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010).

O desenvolvimento do primeiro tipo é realizado a partir de jateamento de areia, spray de plasma, gravura química, polimento e entre outros, sendo estes caracterizados pelo desenvolvimento de erosão da superfície de modo aleatório. Topografias, por sua vez, podem ser obtidas a partir da aplicação de arcos elétricos, feixe de íons, feixe de laser, litografia, técnicas de micro e nano usinagem, sendo tais técnicas caracterizadas por ação altamente localizada e precisa. Com estes, é possível tornar o biomaterial tanto mais apto à reconstrução óssea como capaz de apresentar determinadas funções auxiliares ao processo de recuperação do paciente, como inibir o desenvolvimento de colônias de bactérias, problema de grande importância a pacientes implantados. Superfícies texturizadas são capazes, também,

de promover alinhamento durante o crescimento de dados tipos celulares e até regular processos definidos por vias fenotípicas. É fundamental ter-se em mente, no entanto, que o desenvolvimento de biomateriais deve ser realizado visando-se adequar tanto aspectos geométricos como químicos, de modo a se obter implantes de excelente desempenho com relação ao tratamento de pacientes (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010).

É importante notar, também, que dadas técnicas de aplicação de recobrimento utilizam vias puramente físicas para sua obtenção, sendo tão eficazes quanto as descritas anteriormente. O desenvolvimento de camadas de moléculas biologicamente ativas a partir de adsorção física consiste em um claro exemplo disso. Para sua realização, procura-se, a partir de interações intermoleculares de van der Waals, ligações de hidrogênio e eletrostáticas, gerar-se adsorção física das moléculas de interesse à superfície do biomaterial. Consistem em técnicas de fácil execução, tendo como desvantagem o não controle na orientação do composto adsorvido, o que, em determinados casos, pode gerar perda da funcionalidade desejada. Uma maior orientação da adsorção física pode ser obtida para moléculas de caráter anfifílico a partir do método de Langmuir-Blodgett. Sua aplicação é feita a partir da formação de camada da molécula específica na superfície de um meio aquoso, ocorrendo, por meios mecânicos, uma compactação destas, restringindo a movimentação destas pelo meio. Assim, faz-se a imersão do implante em questão em tal espaço restrito, de modo que a região de caráter mais próximo ao do biomaterial adere por adsorção na superfície deste. São realizadas, ainda, outras metodologias de execução mais complexa, como por pulso de laser, deposição por feixe iônico, prototipagem rápida e deposição por camadas (RANA et al., 2017).

A compreensão da importância vinculada aos aspectos geométricos das superfícies de implantes para o desempenho destes está fundamentalmente vinculada à mecânica envolvida na adesão, crescimento e multiplicação celular (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). Assim, aspectos da topografia da superfície, como tamanho das geometrias e organização destas no espaço consistem em fatores muito influentes no processo de adesão celular a dado substrato, e assim, no desempenho de componentes implantados. Apesar da grande dificuldade de verificação detalhada e correta de comportamento das células em face a tais condições de contorno, dados padrões foram, devido a uma grande quantidade de estudos na área, notados, o que

auxilia, hoje, no desenvolvimento de implantes e tratamentos de recuperação óssea mais eficazes. A caracterização da interação entre tecidos orgânicos e biomateriais depende significativamente da correta caracterização de aspectos de rugosidade da superfície de tais materiais, o que é, em geral, feito de modo distinto por diferentes grupos de pesquisa, além de muitas vezes incompleto.

Projetos mais detalhados, no entanto, foram capazes de detectar certas preferências de grupos celulares a dadas faixas de valores de determinados parâmetros. É importante relatar, no entanto, que tais padrões variam de acordo tanto com o tipo celular como com o material que compõe a superfície do biomaterial em estudo. Implantes metálicos com rugosidades menores que o tamanho médio de osteoblastos humanos, por exemplo, apresentaram um desempenho superior que aqueles com rugosidades maiores, sendo verificada, ainda, uma diferença na morfologia das células observadas em ambos os casos. A amplitude na rugosidade presente também é determinante no processo de adesão, sendo verificado, em estudos com superfícies do tipo fractal, um valor de amplitude crítica intermediário no qual células ósseas disseminaram-se em baixa intensidade, obtendo-se o resultado inverso para superfícies tanto com maior como com menor amplitude (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). Novamente, tal valor crítico consistia no tamanho médio das células, sendo verificado que estas eram aderiam de modo preferencial nos picos presentes na superfície, quando estes eram espaçados em um tamanho inferior ao da célula. Os resultados obtidos para amplitudes maiores que o valor crítico, por sua vez, não foram explicados.

Conforme fora citado anteriormente, o modo como a rugosidade está distribuída na superfície também interfere de modo significativo no desempenho do biomaterial. É verificado, além disso, a ocorrência de alinhamento preferencial de acordo com o modo como os picos e vales da superfície do implante estão organizados, fato o qual está intimamente atrelado ao fenômeno de orientação por contato. A Figura 34 apresenta exemplos de células epiteliais as quais desenvolveram-se em um substrato rugoso orientado e em um de baixa rugosidade, podendo-se verificar o fenômeno de crescimento orientado. Determinados estudos verificaram, ainda, que superfícies com ordenamentos mais aleatórios permitem uma disseminação celular mais intensa que outras mais ordenadas (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010).

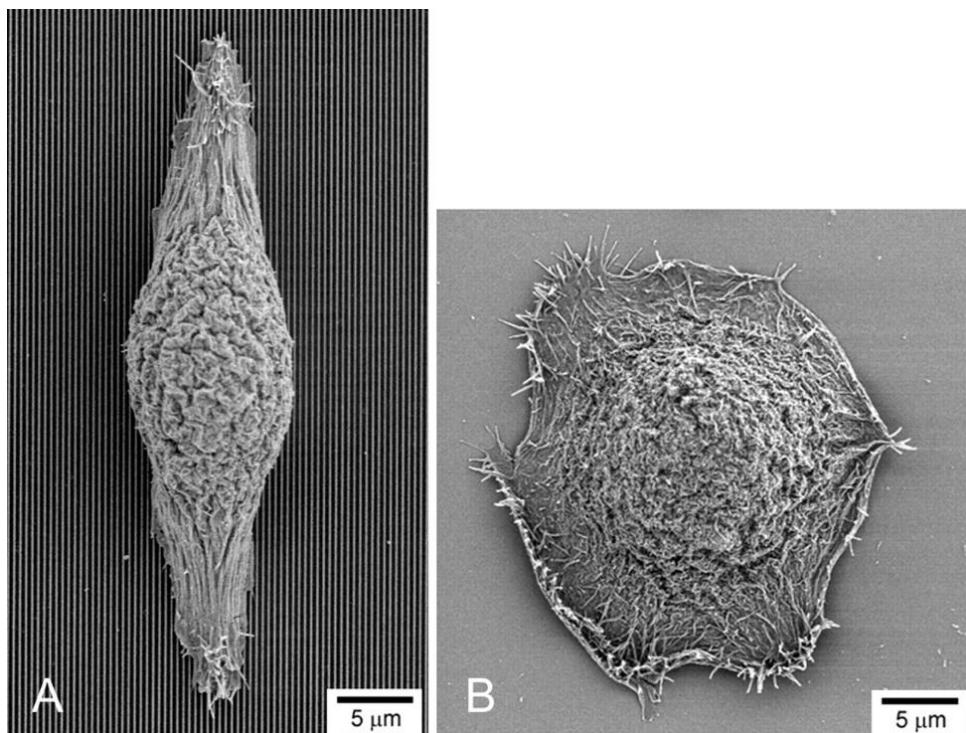


Figura 34 - Microscopias eletrônicas obtidas pela análise de substratos de crescimento celular, em que é possível notar o claro alongamento da célula a esquerda no sentido das ranhuras intencionalmente inseridas na superfície do material. Fonte: (TEIXEIRA et al., 2003).

Explicações mais claras sobre o mecanismo de interferência da morfologia superficial à adesão celular foram obtidas, no entanto verificando-se o comportamento de células interagindo com superfícies as quais apresentavam descontinuidades bem definidas. Tais estudos verificaram que, para a presença de pico e vales, na superfície, espaçados a uma distância inferior ao comprimento dos pseudópodes das células testadas, havia maior interação entre estas e o biomaterial, o que sugere forte interferência de adesão focal e de estruturas do citoesqueleto. Supõe-se que a movimentação das células no meio seria obtida conforme estas estiravam-se, tendo, para isso, ao menos dois pontos de apoio, ou pontos focais fixos. Tal movimento é desenvolvido, no entanto, com atuação de miosina em fibras de actina, as quais promovem o desenvolvimento de tensões no citoesqueleto, as quais são fundamentais para a percepção pela célula das condições ambientais as quais está sujeita. Em um ambiente já implantado e aderido, tais unidades de tecido orgânico são capazes de, por meio da aplicação de forças na matriz extracelular, verificar a conformidade das fibras de tal massa glicoproteica (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010).

Outras tentativas desenvolvidas em vista de se explanar a ocorrência de tal influência baseiam-se em relações termodinâmicas envolvidas no processo. De acordo com a forma e o modo como o padrão de rugosidade superficial de dado biomaterial ocorrem no implante, determinadas regiões de tal superfície apresentarão maior ou menor energia livre de superfície. Isso ocorre visto os diferentes arranjos cristalográficos expostos no momento de desenvolvimento de tal superfície, bem como as condições ambientais, como espécies gasosas presentes e pressão atmosférica, as quais o material estava exposto no momento de tal evento. Tais fatores determinam o modo como os átomos se rearranjam em tal parcela superficial, obtendo-se dado número de ligações químicas incompletas maior ou menor, dependendo das condições anteriormente citadas. Deste modo, fibras pertencentes à matriz extracelular, interagindo fisicamente com os distintos arranjos eletrônicos verificados na superfície, tendem a adsorver em intensidade variada, o que interfere significativamente na interação entre células e o biomaterial. Regiões de maior energia livre, as quais apresentariam ligações químicas mais instáveis ou um maior número de interações químicas incompletas, seriam, ainda, localidades de maior reatividade. Tal característica tornaria a região da superfície menos propícia para o desenvolvimento de células quando comparada a outras menos energéticas, fator o qual promoveria orientação diferenciada e adesão preferencial (ANSELME; PLOUX; PONCHE, 2010). É importante ter-se em mente, no entanto, que fatores químicos vinculados à superfície, e os quais foram descritos, são, do mesmo modo, altamente influentes no fenômeno de adesão. Assim, em geral, os resultados obtidos com relação ao desempenho de biomateriais consiste em uma união dos efeitos de ambos os fatores, tendo, em muitos casos, maior influência de um em detrimento do outro.

3. Objetivos

Tendo-se em mente o conteúdo descrito nas seções anteriores, o trabalho em questão teve como objetivo primário o desenvolvimento de uma espuma carbonosa aplicada como biomaterial, sendo, assim, utilizada como substrato de crescimento de células ósseas. Tal aplicação é idealizada para ocorrer permitindo-se conformação do implante final em formato desejado, o que exige o caráter particulado do biomaterial. Para tanto, foi utilizado como matéria-prima básica lignina encontrada em licor negro provindo diretamente de indústria papeleira sem a realização de quaisquer tratamentos de purificação de tal substância em vista do não encarecimento do material final. Além disso, encontra-se como fim do presente documento o início da caracterização de tal material, o que foi desenvolvido apenas após tratamentos superficiais por via química visando a melhora de seu desempenho. Assim, procurou-se, por meio de ataque a partir de soluções de ácido nítrico, oxidar-se e acidificar a superfície da espuma carbonosa produzida, o que foi sucedido de adesão por adsorção física de quitosana no material. Técnicas de caracterização físico-químicas foram posteriormente aplicadas em vista de verificar-se a eficácia da metodologia aplicada, enquanto que testes biológicos foram realizados em vista da averiguação da eficácia dos tratamentos aplicados.

4. Materiais e Métodos

4.1. Produção das amostras de biomaterial

4.1.1. Síntese polimérica e carbonização

Em vista da produção de amostras de espuma carbonosa, licor negro, gentilmente fornecido pela empresa produtora de papel e polpa de celulose Suzano, foi utilizado como matéria-prima básica para o desenvolvimento de resinas fenol-formaldeído a partir de um sistema do tipo resol. Tal material foi previamente concentrado a partir de secagem em bêqueres os quais permaneceram dentro de uma capela em funcionamento constante, em vista de se obter um teor de sólidos superior ao originalmente verificado, sendo tal etapa fundamental para otimização do tempo de reação, como será verificado posteriormente. Assim, tal etapa foi desenvolvida ao longo de três meses, durante os quais os bêqueres de armazenamento foram recobertos por panos descartáveis, evitando-se a queda, nestes, de quaisquer particulados ou insetos que eram atraídos pelo forte odor do material. Medidas de densidade relativa foram obtidas a partir do uso de um picnômetro de 50 mL, do licor original e deste concentrado. Além disso, a variação do teor de sólidos foi também atestada, assim como do pH e da condutividade do resíduo antes e depois do processo de secagem. A primeira característica, respectivamente, foi obtida com o uso de um analisador de umidade halógeno HB43 METTLER TOLEDO em triplicata, enquanto que medidas de pH foram adquiridas com o auxílio de pHmetro METTLER TOLEDO pH/Ionmetter S220 e um eletrodo InLab – Expert Pro – ISM. A condutividade do resíduo antes e após a secagem, por sua vez, foi obtida por meio do uso de um condutivímetro METTLER TOLEDO SevenCompact e um eletrodo InLab – 731 – ISM.

O material precursor polimérico, conforme citado anteriormente, foi gerado a partir da união do licor negro concentrado com formaldeído em condições ambiente – temperatura entre 20 e 32°C –, sendo a baixa reatividade do material em condições contornada pelo uso de resorcinol, da marca Synth, com pureza mínima de 99% e grau P.A. – A.S.C.. Em vista da obtenção de uma espuma ao final do processamento inicial, foi necessária a inserção de poli(metacrilato de metila), ou PMMA, na forma de grânulos, os quais foram previamente peneirados para uso de particulado de diâmetro

inferior a 800 μm . A reação foi desenvolvida inserindo-se formaldeído, 36,5-38%, produzido pela Synth. A Tabela 2 indica os reagentes e as respectivas proporções nas quais foram utilizados.

Tabela 2 - Proporção mássica utilizada entre reagentes (g)

Licor negro	100
Resorcinol	15
Formaldeído	44
PMMA granulado (D<800 μm)	45

Em vista de dinamizar-se o processo de aquisição de amostras, foram gerados polímeros com o dobro do indicado na Tabela 2, sendo descritas as formulações aplicadas em cada uma das seis amostras na Tabela 3. A produção destas ocorreu em um béquer, sendo neste os reagentes inseridos de modo que o formaldeído, substância fundamental na produção da resina, foi sempre o último a ser aplicado. Uma vez que o granulado de PMMA apresenta uma densidade superior à da dispersão utilizada, e como era desejado que este se encontrasse igualmente dispersa na matriz fenólica, foi necessário o uso de um misturador magnético durante a reação de polimerização. O tempo de reação foi adquirido para cada uma das seis amostras produzidas, procurando verificar-se constância neste em vista de atestar-se a possibilidade de aplicação do sistema reativo em escala industrial, a qual exige tal característica. Ao atingir dado grau de viscosidade, a dispersão era extraída do béquer e realocada em vasilhames de plástico, o que era feito tendo-se em mente a impossibilidade de o particulado de PMMA não ser mais capaz de ser levado, por efeito da gravidade, ao fundo do recipiente. Os blocos de material resultante, por sua vez, foram deixados em capela constantemente em funcionamento, permitindo a evaporação de formaldeído residual. A perda de massa foi acompanhada ao longo de períodos variados, de acordo com a necessidade de aplicação destes nas etapas posteriores à produção do polímero, as quais serão descritas a seguir.

Tabela 3 - Proporção mássica utilizada entre reagentes (g)

Formulações	Reagentes:			
	Licor negro	Resorcinol	Formaldeído	PMMA granulado (D<800µm)
Ideal	200,00	30,00	88,00	90,00
1	199,99	30,01	88,01	90,00
2	200,00	30,00	88,02	90,00
3	200,01	30,00	88,01	90,00
4	200,00	30,00	88,00	90,00
5	199,99	30,00	88,01	90,00
6	200,01	30,00	88,01	90,00

Após a espera de ao menos 42 dias de secagem, as massas poliméricas obtidas foram aos poucos rompidas com o auxílio de espátula metálica, e os fragmentos inseridos em cadinhos de alumina e processados em forno tubular para carbonização de material carbonoso da marca Grion Fornos Industriais LTDA. Parcelas entre 29 a 36 g de compósito polimérico eram carbonizados por vez em tal forno, sendo aquecidos da temperatura ambiente à 900°C a uma taxa de 5°C/minuto e em atmosfera de argônio. Atingida tal temperatura, o material foi sujeito a um platô nesta por duas horas, sendo deixado resfriar, posteriormente, também em atmosfera inerte, dentro do forno, sendo o fluxo gasoso interrompido assim que era aferida, no interior do forno, uma temperatura inferior a 180°C. É importante ter-se em mente que o ajuste de temperatura dentro deste foi obtido com um controlador TH90DP102-100 da Therma e termopar tipo K, enquanto que o controle da vazão de gás era obtido de modo empírico, aferindo-se a frequência de ejeção de bolhas de gás passante no meio de limpeza deste, em que se encontra água.

Após a carbonização de tal material, este foi lavado por ao menos uma semana em sistema de lavagem contínua soxhlet para extração de compostos indesejados persistentes na estrutura da espuma carbonosa. Para tanto, os pequenos fragmentos eram embalados em papel filtro qualitativo 80g, sendo este inserido em sacos de tule, em vista de evitar-se a perda por arraste de particulado de espuma ao segmento de armazenamento de água com alta concentração de compostos indesejados. A água obtida de tal lavagem foi posteriormente concentrada por secagem a partir de aquecimento por chapa, sendo realocada em bêquer recoberto por um filme de PVC,

o qual foi inserido em estufa aquecida a temperaturas entre 85 e 95°C a fim de secá-la por completo, obtendo-se os sais de alta basicidade utilizados no processo de polpação kraft, já descrito na Revisão Bibliográfica, sendo a massa total reobtida aferida a fim de averiguar-se novamente a possibilidade de aplicação da metodologia em escala industrial.

A etapa de lavagem foi sucedida pela cominuição dos fragmentos lavados em particulado com diâmetro médio entre 250 e 425 µm com o auxílio de um pistilo de alumina, peneiras de aço inoxidável das marcas Betel Indústria Metalúrgica Ltda. e Bronzinox, além de uma bandeja do mesmo material. Com cuidado, o material lavado foi posto acima da pilha formada pelas duas peneiras e pelo recipiente metálico, sendo pressionado levemente em vista do rompimento de parcela deste, obtendo-se, com isso, um granulado de espuma carbonosa. Foram aferidas massas antes e depois do processo de maceração em vista da verificação do rendimento médio obtido na operação, de modo a ser possível verificar-se a possibilidade de produção em escala industrial do biomaterial idealizado.

4.1.2. Desenvolvimento de tratamentos ácidos

Em vista de incrementar-se o desempenho da espuma carbonosa obtida em termos de interação com o organismo humano, amostras previamente fabricadas e gentilmente cedidas ao autor do presente texto foram tratadas com o intuito de oxidar-se a superfície destas. Para tanto, soluções aquosas de diferentes concentrações de ácido nítrico da Vetec foram produzidas a partir de outra inicial de tal agente oxidante na concentração em massa de 65%, sendo aplicada, para cada parcela de espuma carbonosa gerada, 100 mL de solução, permitindo-se o contato entre ambas as fases por 30 minutos em movimentação constante com o auxílio de agitadores magnéticos. A Tabela 4 apresenta descrito detalhadamente as diferentes concentrações de ácido utilizadas junto da massa de biomaterial tratado por cada uma das soluções.

Tabela 4 - Tratamento de oxidação por ácido nítrico

Amostra	Concentração de ácido (mol/mL)	Massa de biomaterial (g)	Moles de ácido por grama de biomaterial (mol/g)
A0	0,0000	0,8432	Sem ataque
AA1	8,5E-04	0,4335	0,20
AA2	3,4E-03	0,4325	0,79
AA3	8,5E-03	0,4354	1,96
AA4	1,7E-02	0,4352	3,93
AQ0	0,000E+00	0,4355	Sem ataque
AAQ1	8,5E-04	0,4353	0,20
AAQ2	3,4E-03	0,4353	0,79
AAQ3	8,5E-03	0,4352	1,96
AAQ4	1,7E-02	0,4351	3,93

Após tal período, o material carbonizado e tratado foi separado da solução ácida por meio de filtração com o auxílio de um funil de vidro e um filtro de papel qualitativo 80g. Após filtração inicial, cerca de 400 mL de água destilada foi liberada sobre o granulado ainda no papel filtro com o intuito de extrair-se quaisquer porções líquidas em contanto com a espuma as quais contivessem altas concentrações de ácido. O granulado foi, então, com o auxílio de uma luva nitrílica não utilizada e higienizada com álcool, transferido a outro papel filtro qualitativo 80g, no qual foi embalado reinserido em sacos de tule para uma seção de lavagem em sistema soxhlet para extração de ácido ainda em contato com o material. Tal etapa deu-se por uma semana, sendo garantida pela aferição do pH de porções de água destilada as quais eram, após tal período, despejadas sobre o conjunto lavado e recolhidas com um funil e béquer. Após tal verificação, o conjunto composto por particulado carbonoso e papel de filtro eram posicionados em folhas de papel alumínio previamente lavadas e levados à estufa para secagem a temperaturas entre 60 e 65°C por uma semana.

4.1.3. Desenvolvimento de tratamentos em vista de adesão de quitosana à superfície

A segunda etapa vinculada à melhoria do desempenho da espuma carbonosa com relação a sua interação com células ósseas consistiu no desenvolvimento de processos em vista da adesão de moléculas de quitosana. Para tanto, diferentes

formulações de soluções aquosas ácidas de tal substância foram testadas procurando-se averiguar quais destas apresentavam menor viscosidade e maior concentração do composto. Foi utilizado tanto nos testes como no tratamento quitosana de baixo peso molecular fornecido pela Sigma-Aldrich, a qual era solubilizada em soluções de ácido acético glacial da empresa Êxodo Científica com o uso de um misturador magnético. Os testes desenvolvidos com as soluções consistiram na verificação da possibilidade de penetração do líquido nas aberturas de peneira de aço inoxidável de 60 mesh, ou seja, com espaçamentos de 250 µm. Um teste inicial procurou averiguar tal possibilidade de acordo com a variação da concentração de quitosana, avaliando-se, ainda, o tempo de solubilização da substância em soluções de 90 % em volume de ácido acético, notando-se viabilidade a uma concentração máxima de 2% em massa, valor utilizado para os testes seguintes vinculados à variação da concentração de ácido acético. Tal escolha deveu-se ao período de dissolução, o qual foi, com o auxílio de misturador magnético, superior a 3 dias, período no qual reações de decomposição por hidrólise podem apresentar influência significativa em propriedades físico-químicas da quitosana (CHEN; LIN; LIN, 1994).

A Tabela 5 apresenta as diferentes formulações de solução criadas e testadas, sendo a viabilidade destas atestada apenas quando foi verificada passagem, por gravidade, de quantidades consideráveis de volume líquido pela peneira em um período máximo de 5 minutos. É importante ter-se em mente a razão pela qual uma peneira de tal configuração foi aplicada para o teste, sendo esta intimamente ligada ao procedimento de tratamento de adesão. Visto a fragilidade de espumas carbonosas, conforme já descrito na seção de Revisão Bibliográfica, foi prevista a ocorrência de fratura e erosão dos grânulos tratados, de modo a produzir-se particulado de características geométricas fora das especificações desejadas. Assim, ao utilizar-se, para separa-se a fase sólida da líquida, uma peneira de configuração equivalente à aplicada na cominuição dos fragmentos carbonosos iniciais, garante-se a predominância de grãos dentro dos requisitos geométricos iniciais.

**Tabela 5 - Soluções de quitosana
(2% em massa)**

Concentração de ácido acético (% v/v)	Viabilidade
90	Não
80	Sim
70	Não
20	Sim

A seleção para teste de concentrações altas – maiores e equivalentes a 20 % em volume – deveu-se às etapas posteriores de processamento do biomaterial, as quais serão descritas em seguida. Pode-se verificar, pela Tabela 5, que apenas as soluções de 80 e 20 % foram capazes de transpor as aberturas em quantidade considerável, sendo que a de 20 % mostrou aptidão para tanto consideravelmente superior à de 80 %, de modo a ser escolhida para o tratamento do biomaterial. Tal concentração de ácido permitiu, também, maior velocidade na dissolução, ocorrendo, com certa variação, no entorno de duas horas. Todos os testes foram realizados a temperatura ambiente, a qual manteve-se na faixa de 23 a 28°C.

Escolhido o sistema químico para permitir adesão do polímero ao biomaterial, o procedimento para tanto foi realizado nas amostras AQ0 a AAQ4, apresentadas na Tabela 4. 100 mL de solução foi preparado para cada espécime amostral, sendo estes inseridos no sistema líquido e deixados em agitação leve, desenvolvida com auxílio de misturador magnético por duas horas. Terminado tal período, a agitação era cessada, e os sistemas com biomaterial eram despejados em uma peneira com abertura de 250 µm alocada acima de bacia, ambos os objetos de aço inoxidável e previamente lavados e esterilizados com álcool. A Figura 35 apresenta uma fotografia obtida durante o processo de extração por peneiramento de uma das amostras de biomaterial



Figura 35 - Fotografia obtida durante a separação do granulado da solução de quitosana. É possível notar a alta viscosidade da solução pelo ângulo formado na borda do líquido e a superfície de peneiramento. Fonte: próprio autor.

Cuidado foi tomado para que o granulado retido se concentrasse apenas em uma região da peneira, o que permitiu facilidade na posterior extração dos grânulos da rede metálica. Tal etapa foi desenvolvida com o auxílio de espátula metálica também previamente esterilizada com álcool, ocorrendo apenas após redução significativa da fase líquida, o que se deu em cerca de 25 a 30 minutos. O biomaterial coletado, ainda com parcela de fase líquida presente, foi realocado cuidadosamente em papel filtro qualitativo 80g, sendo este posicionado em bandejas improvisadas de papel alumínio previamente esterilizados e inseridos em estufa em temperaturas entre 60 e 65°C para dinamização da secagem da solução, conforme Figura 36.



Figura 36 - Fotografia de amostra tratada secando em papel filtro. Fonte: próprio autor.

Deste modo, permitiu-se que a parcela de quitosana presente no entorno do granulado e não necessariamente adsorvida ficasse retida em sua superfície, fator de grande importância às propriedades encontradas e futuramente descritas com relação à espuma carbonosa obtida.

Tal secagem, no entanto, foi interrompida a cada cinco minutos, com a retirada do conjunto do interior da estufa, em vista de se retirar o granulado do papel filtro antes de sua secagem completa e adesão prejudicial deste às fibras de celulose encontradas em tal folha. Assim, com o auxílio de uma luva nitrílica limpa e previamente esterilizada, extraia-se a parcela de biomaterial a qual apresentava aspecto mais seco, sendo verificada a presença, no entorno, de uma película de quitosana solidificada, e a qual era facilmente realizada sem fragmentação do particulado. O biomaterial pode, assim que destacado do papel filtro, ser realocado em uma placa de petri previamente esterilizada e envolta de papel alumínio para evitar-se a queda de particulado em suspensão no ar dentro do recipiente vítreo. O novo conjunto foi, então, inserido em estufa, onde foi deixado secar completamente por um dia antes de ser, então, armazenado em eppendorfs previamente esterilizados e identificados. Tais compartimentos foram, após carregamento com o biomaterial, armazenados em um freezer da marca Consul a temperaturas negativas. A Figura 37

apresenta um fluxograma o qual permite ao leitor ter melhor percepção dos vários passos desenvolvidos para a obtenção de todas as amostras geradas.

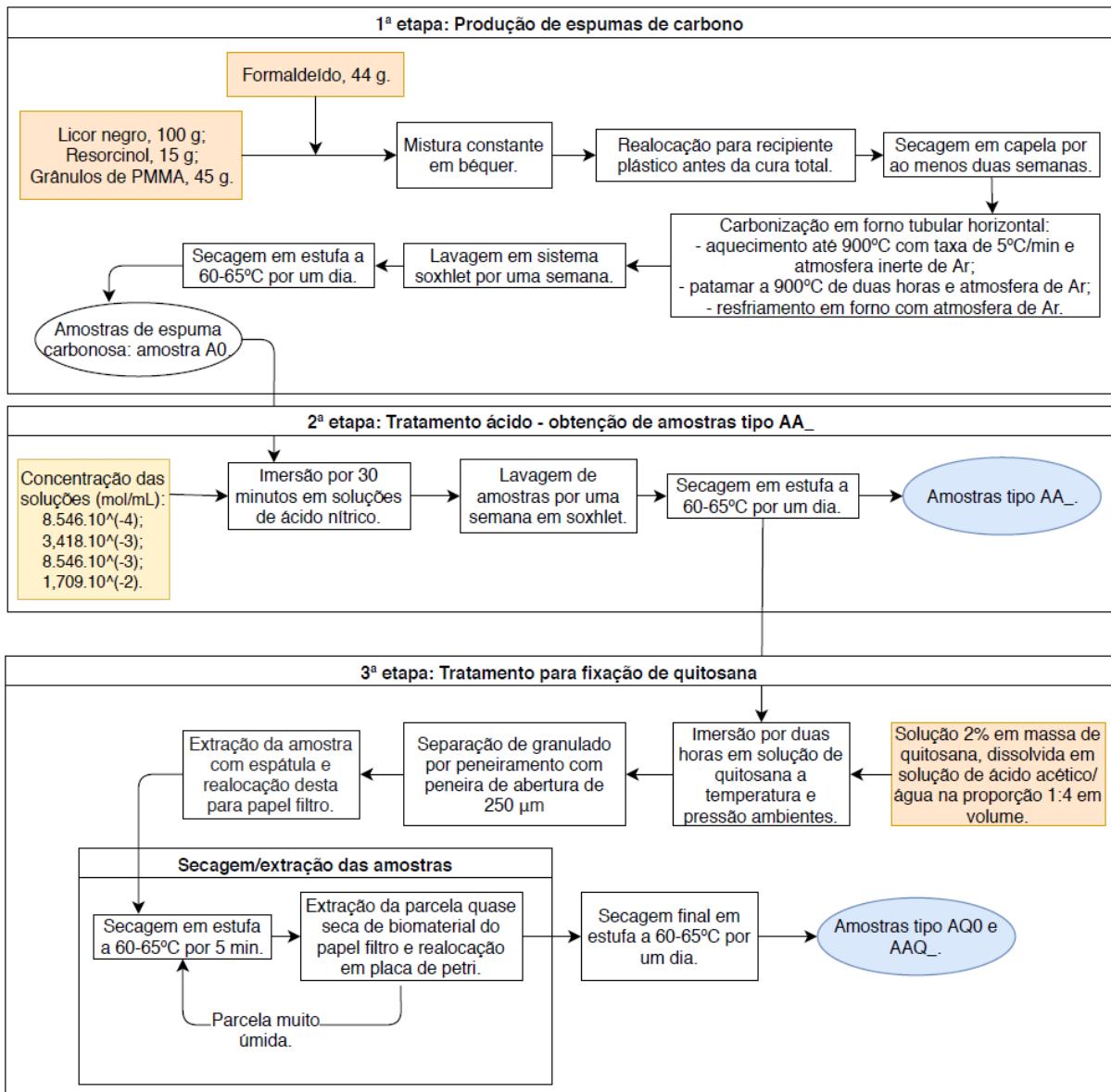


Figura 37 - Fluxograma apresentando todas as etapas executadas para a obtenção das amostras utilizadas no estudo em questão. Foi utilizada, para sua produção, a plataforma draw.io. Fonte: próprio autor.

4.2. Testes e análises

4.2.1. Microscopia eletrônica

Em vista de se avaliar propriedades físico-químicas, morfológicas e biológicas do biomaterial obtido, diferentes testes foram realizados, consistindo em passos iniciais e fundamentais ao desenvolvimento e aprimoramento de um substrato de crescimento carbonoso capaz de ter sua forma modificada de acordo com as necessidades do paciente. Assim, visto que aspectos morfológicos são de importância significativa ao desempenho de qualquer biomaterial, parcelas das amostras tratadas A0 a AAQ4 foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura, MEV, em um Inspect F50 – FEI. Com tal aparato, visa-se averiguar as superfícies de modo qualitativo e quantitativo, a partir da mensuração do tamanho de poros através do software de análise ImageJ e, a partir deste, obter-se uma aproximação da porosidade específica do grânulo de cada tipo de amostra. Para tanto, áreas em que apenas o biomaterial era visível sofreram modificação por meio do uso do software Microsoft Paint, em vista de se marcar corretamente as regiões em que se verificavam poros. Assim, com o auxílio do ImageJ, foi possível quantificar a área demarcada e verificar sua fração em área perante o resto da imagem. Assim, uma vez que é possível concluir-se que a fração em volume de dada fase é equivalente à em área de dada seção transversal de uma amostra (“L19-Stereology-21Apr14”, [s.d.]), foi desenvolvida certa aproximação para obtenção da porosidade específica da espuma estudada. Com o mesmo equipamento, foi possível realizar-se espectroscopia de raios X por dispersão de energia, ou EDS, o qual era realizado por acessório da marca EDAX, sendo possível, assim, avaliar-se qualitativamente a composição das estruturas verificadas. As ferramentas de análise citadas foram utilizadas, também, para verificação dos distintos sais obtidos a partir da secagem da água aplicada na lavagem inicial da espuma carbonosa obtida logo após a carbonização dos fragmentos do compósito fenólico.

4.2.2. Análise térmica – avaliação por Calorimetria Exploratória Diferencial

Aliado a isso, análises térmicas por calorimetria exploratória diferencial, ou DSC, foram realizadas nas amostras AQ0 a AAQ4 visando-se avaliar a capacidade de adesão de quitosana pelos grânulos carbonosos em função da concentração do tratamento de oxidação por ácido nítrico realizado. Para tanto, um equipamento METTLER TOLEDO DSC822^e foi utilizado, desenvolvendo-se uma programação de análise com base em uma avaliação prévia realizada com uma amostra de quitosana pura não processada. A partir desta, definiu-se a faixa de temperatura a ser analisada, de 240 a 360°C, a uma taxa de aumento de 10°C/minuto, sendo tal processo realizado apenas após um período de 3 minutos no qual a amostra foi mantida a 240°C em vista de se atingir constância da temperatura em toda a massa de material. Usou-se na análise de todas as amostras cadinhos de aço inoxidável sem tampa para permitir-se a saída de quaisquer compostos voláteis, além de umidade residual presente. Permitiu-se, também, a passagem de gás nitrogênio de pureza 99,9999% em volume, a uma vazão de 50 mL/minuto.

4.2.3. Avaliação química – Titulação de Boehm

Aliado a tais avaliações, procurou-se desenvolver uma caracterização química da superfície do biomaterial desenvolvido, o que se deu com o uso da metodologia de titulação desenvolvida por Boehm (BOEHM, 1966, 1994; “Boehm Titration Revisited (Part I): Practical Aspects for Achieving a High Precision in Quantifying Oxygen-Containing Surface Groups on Carbon Materials”, 2018; GOERTZEN et al., 2010; OICKLE et al., 2010; SCHÖNHERR et al., 2018). Tal metodologia tem como fundamento a titulação de soluções resultantes do ataque de bases de distintas constantes de dissociação aos grupos ácidos presentes na superfície de materiais diversos, podendo ser aplicada a óxidos e principalmente a materiais carbonosos. De acordo com o consumo dos íons de das soluções básicas originais, é possível quantificar-se a concentração de dados grupos funcionais ácidos, podendo-se avaliar o grau de oxidação da superfície de interesse, e assim, determinar-se a influência deste no desempenho do material em estudo. Visto a inexistência de uma

padronização no método citado – distintos grupos de pesquisa adotam metodologias variadas para sua realização –, procurou-se identificar as vias mais comumente adotadas e mais corretas em termos científicos. A partir destas, formulou-se um procedimento o qual agrega tais vias, mesmo que, em alguns pontos, de modo adaptado em vista de ser reproduzível com o equipamento disponível em laboratório.

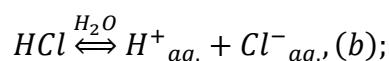
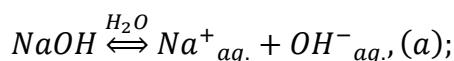
A titulação em questão foi desenvolvida em três soluções resultantes do tratamento de parcelas das amostras A0 a AA4, ou seja, apenas nas amostras de biomaterial sem presença de quitosana, uma vez que esta poderia interferir significativamente nos resultados obtidos. Soluções aquosas de NaOH, Na₂CO₃ e NaHCO₃, todas na concentração de 0,05 mol/L, foram preparadas utilizando-se reagentes da Casa Americana Reagentes Analíticos – os dois primeiros – e Dinâmica Química Contemporânea Ltda., para o bicarbonato de sódio, sendo aferida para cada uma o pH em vista de um maior controle das propriedades de cada solução. Alíquotas de 100 mL de cada uma foi unida a parcelas de 0,1 g de biomaterial, sendo o meio levemente agitado por cerca de dois dias, em vista de permitir-se que a neutralização dos grupos funcionais ácidos ocorresse de modo praticamente completo. Os béqueres onde os sistemas reativos encontravam-se eram levemente movimentados por agitação magnética, sendo ainda recoberto por uma camada de múltiplas folhas de filme de PVC, a fim de reduzir-se ao máximo a velocidade de troca gasosa entre o meio interno do béquer e o ambiente, evitando-se, assim, grande influência da solubilidade do gás carbônico, especialmente na solução de bicarbonato de sódio, cuja constante de dissociação é muito pequena em comparação com as demais bases utilizadas.

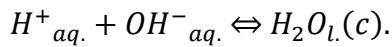
Terminado o período no qual a neutralização dos grupos funcionais superficiais foi, em princípio, obtida, a agitação foi cessada e, com o auxílio de um funil de vidro e papéis de filtro qualitativos 80g, a solução foi separada do biomaterial tratado. A parcela líquida foi, assim, armazenada em béquer recoberto por uma camada quádrupla de filmes de PVC, tendo-se o mesmo intuito do que foi observado para o tratamento do biomaterial com as bases citadas. Foram extraídas três alíquotas de 10 mL de cada parte filtrada, sendo estas separadamente tituladas, gerando-se resultados em triplicata. Paralelo a isso, soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio, também, nas concentrações de 0,05 mol/L, foram preparadas para a execução

da titulação em questão, bem como uma solução aquosa de azul de bromotimol na concentração de 0,04% em massa.

Visto que, durante a titulação, gás CO₂ poderia influenciar significativamente nos resultados a partir de sua dissolução, foi executada a adição de 20 mL da solução de HCl em cada alíquota de 10 mL de filtrado, justificando-se, assim, a produção de mais solução básica de NaOH, a qual foi, então, utilizada como titulante da mistura de filtrado e solução ácida. Parcelas de solução de Na₂CO₃ foram unidas a 30 mL da solução ácida, em vista de permitir reação completa entre moléculas restantes de carbonato, de acordo com a estequiometria da reação de neutralização. Sendo denominado de retrotitulação, tal procedimento foi desenvolvido com o auxílio de uma pipeta graduada averiguando-se a mudança de coloração da solução, gerada pelas quatro a cinco gotas de solução de azul de bromotimol adicionado em vista de se obter o ponto de equivalência da reação entre NaOH e HCl. Além da aferição do volume utilizado no processo pela graduação da pipeta, este foi obtido a partir da variação da massa do sistema titulado, o que exigiu a realização de captação de dados de densidade do agente titulante, o que foi desenvolvido a partir de picnometria. É importante ter-se em mente que soluções geradas foram utilizadas no máximo três dias após sua criação, com exceção da indicadora de acidez, de azul de bromotimol, realizando-se aferição do seu pH para controle.

Em posse dos volumes de solução básica consumidos nas retrotitulações, foi possível obter-se a concentração de grupos funcionais responsáveis pelo caráter, a priori, ácido das amostras de biomaterial. É importante notar que, visto a força variada de cada base aplicada para o ataque às amostras de espuma carbonosa, cada uma seria responsável pela quantificação de grupos funcionais ácidos de forças distintas, o que será melhor explanado a seguir, em conjunto dos cálculos necessários para a quantificação. Dado o volume de titulante $V_{tit.NaOH}$ e sua concentração molar, $C_{tit.NaOH}$, é possível obter-se o número de moles de ácido clorídrico restantes da reação da solução de tal ácido com a base na qual o biomaterial foi inserido, tendo-se como base as reações dadas a seguir:





$$n HCl_{restante} = V_{tit.NaOH} \cdot C_{tit.NaOH} \cdot \frac{1 \text{ mol } HCl_{restante}}{1 \text{ mol tit. } NaOH}, (I);$$

A partir de tal valor, é possível obter-se o valor da quantidade de moléculas de base não reagidas com os grupos funcionais superficiais, dado o volume inserido de solução de HCl, V_{HCl} , e sua concentração molar C_{HCl} :

$$n \text{ base de análise}_{restante} = \\ = (V_{HCl} \cdot C_{HCl} - n HCl_{restante}) \cdot \frac{n \text{ mol base de análise}_{restante}}{1 \text{ mol HCl}}, (II).$$

Com o mesmo raciocínio, pode-se obter, assim, o número de moles de grupos funcionais neutralizados com o ataque da solução básica, dado o volume analisado do filtrado, $V_{filtrado}$, e a concentração original de tal solução $C_{filtrado \text{ inicial}}$:

$$n_{grupo \text{ funcional}} = V_{filtrado} \cdot C_{filtrado \text{ inicial}} - n \text{ base de análise}_{restante}, (III).$$

A realização de tais cálculos permite, conforme foi citado anteriormente, obter-se o número de grupos funcionais reagidos com a base de análise respectiva, devendo tal resultado ser multiplicado por 5, visto a relação dada entre a parcela titulada e o volume total em contato com a espuma carbonosa. Tal número, no entanto, está relacionado a um ou mais grupos funcionais, dependendo da intensidade da força da base utilizada. Assim, a solução de bicarbonato de sódio, de caráter básico menos aparente quando comparada às demais, é capaz de interagir apenas com grupos carboxílicos, os quais apresentam uma maior reatividade e acidez. O carbonato de sódio, por sua vez, possui basicidade superior, sendo capaz de interagir tanto com grupos carboxílicos como com lactonas. O hidróxido de sódio, sendo a base mais forte

utilizada, é capaz de neutralizar tanto ácidos carboxílicos como lactonas e fenóis. Desse modo, tem-se, dados os valores das quantidades de grupos superficiais detectados pelas diferentes soluções:

$$\begin{cases} n_{grupo\ tipo\ lactona} = n_{grupos\ funcional\ pelo\ carbonato} - n_{grupos\ carboxílicos} \\ n_{grupo\ fenólico} = n_{grupos\ funcional\ pelo\ hidróxido} - n_{grupos\ tipo\ lactona} - n_{grupos\ carboxílicos} \end{cases}, (V).$$

4.2.4. Avaliação biológica

O desenvolvimento de novos biomateriais consiste em um projeto de alta complexidade, visto a grande gama de variáveis as quais são influentes no desempenho de materiais em potencial, conforme pode ser tido da Revisão Bibliográfica. Sendo assim, um modo eficiente de observar-se a ação conjunta de tais fatores consiste no desenvolvimento de testes biológicos *in vitro*, os quais foram realizados para todo o grupo de amostras gerado. Deste modo, seria possível investigar-se a real importância dos diferentes fatores de interesse no estudo em questão, procurando-se encontrar indícios da real aplicabilidade da espuma carbonosa em questão como um biomaterial e quais metodologias seriam as mais eficientes com relação à melhora de seu desempenho. É importante notar que, dado a periculosidade e complexidade de tais avaliações, estas foram realizadas em laboratórios mais apropriados e com profissionais devidamente treinados para tanto.

Foi necessário, no entanto, o prévio período de preparação de culturas celulares, as quais seriam posteriormente aplicadas nos testes com os tipos de espuma carbonosa. Tal etapa foi utilizada em vista da obtenção de osteoblastos de ratos, cultivados em meio de cultura Eagle modificado por Dulbecco (DMEM, Vitrocell, Campinas, SP, Brasil), contendo, assim, 10% em massa de soro fetal bovino (Vitrocell, Cambinas, Brasil) e 1 % de solução antibiótica e antimicótica (Vitrocell, SP, Brasil). Tal cultura foi desenvolvida em estufa Thermo Fisher Scientific a 37°C, a qual continha 5% em volume de gás CO₂ em atmosfera com vapor de H₂O. Utilizando-se um microscópio invertido de fase Eclipse TE 2000-U, da Nikon, foi possível monitorar-se o crescimento das células a cada 24 horas, sendo monitorado o fato de ser conservado o branco celular, o que foi obtido por subcultivo. O repique, por sua vez,

foi atingido pela remoção de meio de cultivo, além da lavagem das células por tampão fosfato, sendo posteriormente incubadas com solução de tripsina 0,25% por 4 minutos a 37°C. A neutralização de tal composto foi tida com meio DMEM, sendo as células separadas por centrifugação a 1200 rpm, à 4°C por cinco minutos, além de ressuspensas em tal meio.

A viabilidade celular foi, assim, testada por coloração com vital azul de Trypan (0,4%), sendo aplicadas as culturas com viabilidade superior a 95%. Tais culturas foram, então, plaqueadas em vista da realização de análises de toxicidade celular da espuma carbonosa em questão. Para tanto, tal potencial biomaterial foi previamente esterilizado por autoclavagem, sendo exposto por 15 minutos a 120°C, sendo, então, armazenado em estufa a 60°C por 24 horas. Os osteoblastos desenvolvidos foram, então, incubados em placas estéreis de cultura com 96 poços e fundo chato, da Kasv, sendo mantidos a 37°C com atmosfera úmida contendo 5 % em volume de CO₂, sendo mantidas por 24 horas até a liberação, no meio, de biomaterial produzido. Usou-se, por poço, 0,02 mg de espuma carbonosa, em testes de triplicata. As placas assim criadas foram, após períodos de 24, 48 e 72 horas, submetidas a metodologias referentes a cada ensaio biológico, os quais serão apresentados a seguir.

4.2.4.1. Ensaio de Viabilidade Celular - Método MTT

Para tal metodologia, utiliza-se o sal MTT como substância sinalizadora de células viáveis em dado meio de cultivo. Tal composto apresenta em sua composição anéis de tetrazólio, os quais são rompidos pela desidrogenase, enzima mitocondrial a qual é presente apenas quando a célula a qual contém mitocôndrias encontra-se saudável. É possível observar-se, dada a viabilidade das células, a formação de cristais azuis escuros de formazan, impermeáveis às membranas celulares, e acumulando-se, assim, no interior destas. O uso de isopropanol no meio em estudo desenvolve lise celular, processo o qual permite a liberação do sal na região, sendo que sua concentração será tanto maior quanto maior o número de células viáveis no meio de cultivo. No trabalho em questão, fez-se tal medida com o uso de técnica de absorbância após os períodos de 24, 48 e 72 horas após início de cultivo, sendo o meio extraído por pipetagem e os poços lavados com 100 µL de solução tampão PBS.

Tal procedimento foi seguido, assim, da adição de 50 μ L de MTT, na razão de 0,5 mg/mL de tampão (Thiazolyn blue – Sigma, EUA). Os meios foram, assim, incubados em estufa de CO₂ por três horas a uma temperatura de 37°C, sendo, terminado tal período, adicionado ao meio 100 μ L de isopropanol (Synth®). A absorbância do meio foi, assim, mensurada com radiação cujo comprimento de onda correspondia à 620 nm, sendo os dados obtidos em triplicata e seus respectivos desvios apresentados.

4.2.4.2. Ensaio de Viabilidade Celular – metodologia do Cristal Violeta

Outra forma para avaliação da viabilidade celular foi aplicada em vista da caracterização do desempenho da espuma carbonosa, sendo esta a do cristal violeta, a qual baseia-se na coloração dos núcleos de células viáveis. Após incubação de osteoblastos, na densidade nédia de 10⁴ células por poço, sendo estas adicionadas à placa de teste, sendo tal estrutura enviada à uma estufa com atmosfera úmida a 37°C, tendo esta 5 % em massa de CO₂. Removeu-se, então, os meios de cultura após 24, 48 e 72 horas. Cada poço foi lavado com solução tampão de PBS, sendo adicionados nos poços 40 η L de cristal violeta diluído em ácido acético, sendo deixado o meio entrar em equilíbrio após cerca 15 minutos, sendo seu conteúdo, após tal período, esvaziado e a placa lavada com água tipo III Miliq. Extraíndo-se o excesso de tal substância no meio de cultivo, adicionou-se a este 100 μ L de metanol, sendo possível, assim, dispersar-se os sais formados com auxílio de pipeta multicanal. Assim, analogamente ao que foi realizado no teste descrito anteriormente, dados de absorbância foram extraídos das dispersões em triplicata, com o uso de radiação no comprimento de onda de 620 nm.

5. Resultados e Discussões

A partir da realização dos experimentos de caracterização física, química e morfológica descritos anteriormente, foi possível ter-se dada noção da eficiência da metodologia aplicada no trabalho em questão, no intuito de ajustar-se a espuma carbonosa em estudo para a aplicação desejada. Para tanto, foi necessário confrontar tais resultados com aqueles verificados nos testes de desempenho biológico, procurando, assim, desenvolver-se explanações e hipóteses, com base no exposto na Revisão Bibliográfica e em trabalhos desenvolvidos por outros grupos de pesquisa. Apenas assim, seria possível propor-se uma rota industrialmente viável para a produção do material em larga escala, procurando quantificar-se os rendimentos obtidos a partir da massa de reagentes inicial. Assim, a partir dos valores apresentados nas Tabelas 6 e 7, junto da descrição vinculada a características do biomaterial durante o processamento e as dificuldades neste verificadas, um parecer inicial será realizado em tal escopo.

Tendo em mãos os dados relacionados à titulação de Boehm, será possível notar-se a capacidade de modificação da química de superfície das espumas criadas por meio da oxidação vinculada ao uso de ácido nítrico. Aliado a tais valores, as imagens de microscopia eletrônica e contagens realizadas por espectroscopia de raios X serão de fundamental importância em vista da sustentação de hipóteses apresentadas as quais justificam os fenômenos verificados. A técnica de análise térmica, por sua vez, será essencial em vista da averiguação da quantidade de quitosana a qual foi de fato aderida na espuma carbonosa, procurando estabelecer-se uma relação entre a intensidade do tratamento por ácido nítrico e tal característica. Por fim, conforme já citado, a avaliação biológica será indispensável como ferramenta de estudos iniciais sobre a influência dos diferentes tratamentos desenvolvidos no tipo e intensidade da resposta celular em presença do biomaterial em potencial.

5.1. Avaliação de Características Iniciais da Matéria-prima e Rendimentos de Processo.

A partir da Tabela 6, pode-se notar modificações significativas em características tanto físicas quanto químicas do licor negro, as quais foram desenvolvidas pelo processo de secagem em capela, apenas. O aumento no teor de sólidos de 8,64% a 27,16% encadeou, a partir da perda de água e de dados componentes voláteis por evaporação, um incremento na densidade de 10,7%, sendo verificado, ainda, um aumento de 74,06% na condutividade do licor. Os valores aferidos de pH, por sua vez, diferentemente do naturalmente esperado, foram inferiores para o licor concentrado, o que, de certo modo, é incoerente com o tempo de reação verificado em ambos os casos. Uma hipótese para tal resultado foi desenvolvida, tendo-se em mente a estrutura da lignina e o comportamento de moléculas de caráter não neutro em sistemas aquosos, a exemplo da quitosana. Esta última, respectivamente, é, como explicado na Revisão bibliográfica, mais facilmente solubilizada em ambientes ácidos, visto que suas moléculas apresentam grandes quantidades de grupos de caráter levemente básico. Assim, em presença de ácidos, tal molécula forma complexos salinos, alterando a condutividade do sistema, bem como sua viscosidade, resistividade, e entre outros parâmetros físicos e químicos. Conforme a concentração de ácido é incrementada, as macromoléculas tornam-se cada vez mais ligada a íons de caráter e carga opostos, os quais antes encontravam-se fisicamente ligados a moléculas de água, mais abundantes no meio. Assim, o efeito estérico gerado pela grande quantidade de grupos funcionais os quais apresentam carga elétrica é reduzido, permitindo maior aproximação das moléculas, o que aumenta a viscosidade da solução.

É possível, assim, compreender-se, também, o comportamento das diferentes soluções teste desenvolvidas antes da escolha da de fato aplicada na produção do biomaterial, conforme descrito em Materiais e Métodos. Dada a estrutura levemente ácida de moléculas de lignina de licor negro, é possível supor-se que seu contato com substâncias eletrofílicas permite o desenvolvimento de sais no sistema. Assim, conforme a concentração de tais moléculas é incrementada, uma menor quantidade de entidades básicas encontra-se solvatada por moléculas de água, o que poderia justificar o valor de pH encontrado para a dispersão mais concentrada, e o que é corroborado pelo aumento no valor da condutividade elétrica verificado. Certo aumento de viscosidade do licor também é verificado de modo visual conforme este é concentrado, o que poderia indicar certa redução do efeito estérico entre as moléculas

de lignina. Contudo, é importante lembrar-se que, uma vez que o material analisado consiste em um resíduo cuja constituição apresenta grande complexidade, uma grande quantidade de efeitos paralelos pode ser promovida conforme este é seco. Descrever-se com grande certeza a razão da redução do valor de pH torna-se, assim, um objetivo para estudos futuros com o material em questão.

Conforme observado na seção de Revisão bibliográfica, reações de sistemas fenol-formaldeído tendem a ter sua cinética intensificada quanto maior o pH do meio. Isso se dá uma vez que íons hidrônio presentes, capturando hidrogênios de grupos fenólicos, permitem uma maior interação da lignina ou resorcinol com o formaldeído, permitindo a existência de um maior número de sítios ativos. O incremento na cinética de reação pode, no entanto, ser compreendido pelo aumento da concentração da lignina de licor negro, o que acarreta em um aumento, durante o processo reativo, da probabilidade de sítios reativos fenólicos se unirem à moléculas de formaldeído. Sendo assim, a etapa de concentração do licor apresenta-se como vantajosa à aplicação de tal material em processos químicos, uma vez que reduz o tempo de processamento, sendo aferido, para o nível alcançado, uma diminuição em 85,5%, em média.

Tabela 6 - Características físicas - licor negro

Propriedades	Original	Concentrado
Densidade (g/mL)	1,0395	1,1507
pH	12,45	10,49
Condutividade (mS/cm)	21,20	36,90
Teor de sólidos (% em massa)	8,64	27,16
Tempo médio de reação (min)	51,88	7,54
Desvio padrão do tempo (min)	13,89	2,16

A aplicação da lignina de licor negro, mesmo não passando por etapas de purificação, mostra-se economicamente mais possibilidada, visto não apenas capacidade de aceleração de tal etapa do processo produtivo, mas também a menor variabilidade do tempo de reação. Como é possível perceber a partir dos valores de desvio padrão obtidos das medidas de tempo, o licor original apresenta um comportamento mais aleatório em termos de reatividade, fator negativo para a aplicação em escala industrial. A baixa predição do tempo de reação poderia acarretar em redução da produtividade, traduzida em perda de bateladas, caso o sistema reativo apresentasse velocidades superiores às esperadas, danos aos equipamentos utilizados e atrasos relativamente frequentes na linha de produção. Assim, uma vez que o desvio padrão foi reduzido de 13,89 minutos para 2,16 minutos, tais problemas são significativamente reduzidos.

O desenvolvimento de resinas fenol-formaldeído a partir de licor negro concentrado apresenta, ainda, um problema significativo, o qual pode ser limitante ao processo como um todo: a própria etapa de concentração do material. Conforme descrito em Materiais e Métodos, foi necessária a espera de um período de cerca de três meses em vista do aumento da concentração do licor aos níveis descritos, utilizando-se de uma atmosfera com movimentação constante de ar, gerada pelo funcionamento da capela. A realização de tal etapa em escala industrial exige, no entanto, o emprego de sistemas evaporadores, os quais são atualmente empregados para o reuso do licor em vista do aproveitamento energético deste. O alto custo destes, aliado ao grande gasto energético dispendido para sua concentração, tornam a dinamização do processo ainda dispendiosa, devendo-se avaliar sua viabilidade na produção da espuma carbonosa em questão. É importante ter-se em mente, ainda, a constituição de tal resíduo, a qual indica que sua concentração libera no meio compostos voláteis de toxicidade considerável, como ácidos orgânicos. Tais compostos devem ser devidamente captados em vista do desenvolvimento de processos produtivos mais sustentáveis, reduzindo-se o revés ambiental, o que, apesar de fundamental, encarece ainda mais o produto final.

A Tabela 7, por sua vez, indica os rendimentos obtidos durante todo o processamento em vista da obtenção da espuma carbonosa com superfície modificada e desta unida de quitosana, sendo os cálculos realizados com base na massa inicial de reagentes utilizados. Conforme apresentado na Tabela 3 da seção

de Materiais e Métodos, bateladas utilizando 200 g de licor foram produzidas, aplicando-se, junto disso, resorcinol, formaldeído em excesso e grânulos de PMMA. Visto que o último componente, respectivamente, deveria manter-se bem distribuído no sistema até que este apresentasse viscosidade o suficiente, evitando-se, assim, decantação dos pellets, era necessário manter o sistema em mistura até pouco tempo antes da gelificação total da resina. Desse modo, a extração do compósito polimérico em formação ocorria de modo a deixar resquícios no bêquer de reação, o que justifica a perda média de 1,54 % em massa durante a produção do polímero. A etapa seguinte, correspondente à secagem dos blocos poliméricos em capela, por sua vez, corresponde à uma das mais significativas em termos de perda de massa, e é obtida através da evaporação de formaldeído em excesso, restante no meio polimérico, água e outros produtos voláteis não pertencentes à estrutura tridimensional. Tal perda de massa é acompanhada por uma redução significativa no volume do sólido obtido, a qual é perceptível pelo destacamento deste do recipiente de armazenamento, o qual se dá poucas horas após gelificação do sistema.

Tabela 7 - Relação de Rendimentos e Desvios de Acordo com a Etapa Desenvolvida

Etapa	Média de rendimento ou massa final obtida	Desvio padrão
Produção do Polímero	98,46%	5,80.10 ⁻²
Secagem em capela	53,69%	1,8270
Carbonização do compósito polimérico	27,81%	1,11.10 ⁻²
Primeira lavagem - após a queima	Espuma	94,12%
	Massa de sais por Material lavado	0,1747
Cominuição da espuma	58,76%	1,57.10 ⁻¹
Tratamento superficial por oxidação com ácido nítrico	85,16%	5,75.10 ⁻²
Tratamento superficial de adesão e quitosana	92,32%	2,13.10 ⁻²
Rendimento final teórico	Sem quitosana	Com quitosana
	6,92%	6,39%

A carbonização do compósito, por sua vez, apresentando o menor rendimento específico, de 27,81%, apresenta grande importância ao processo do biomaterial sendo responsável, conforme explanado na Revisão Bibliográfica, pela definição de

características geométricas químicas e físicas iniciais do material obtido. A perda de massa verificada é desenvolvida, inicialmente, pela decomposição dos grânulos de PMMA. Tal processo dá origem a espécimes moleculares de baixa massa molecular, os quais podem volatilizar-se ou serem consumidos por ação de CO e CO₂ em altas temperaturas, conforme explanado na Revisão Bibliográfica. Tal processo é fundamental, uma vez que, sendo consumidos, deixam poros na estrutura carbonosa, os quais trazem o caráter de espuma a esta, sendo fundamentais para o desempenho do material obtido como biomaterial, conforme será verificado posteriormente. A perda de massa verificada deve-se, também, à carbonização da própria estrutura da matriz termorrígida. Conforme explanado na Revisão Bibliográfica, tal fase do material apresenta, em função da estrutura original da lignina, um grande número de anéis aromáticos e grupos funcionais oxigenados. O aquecimento a altas temperaturas sob atmosfera inerte faz com que tais grupos se tornem altamente energéticos, destacando-se da estrutura principal carbonosa. Os anéis aromáticos, de grande estabilidade química, são rearranjados no espaço, conforme átomos de carbono de alta energia difundem-se em vista da redução da energia livre de Gibbs presente no sistema. Tal estrutura carbonosa é, também, parcialmente consumida por moléculas de monóxido e dióxido de carbono em posições geralmente liberadas por grupos funcionais antes presentes (MARSH; RODRÍGUEZ-REINOSO, 2006). A estrutura resultante será avaliada posteriormente, com auxílio da técnica de microscopia eletrônica.

A etapa de lavagem da espuma carbonosa obtida, por sua vez, desenvolve perdas 5,88% em massa, estando vinculadas à extração de sais originalmente constituintes do licor negro. Conforme apresentado na Revisão Bibliográfica, hidróxido de sódio e cálcio são geralmente adicionados, bem como sulfatos, sulfetos e carbonatos de sódio, sendo responsáveis por auxiliar na separação de moléculas de lignina, celulose e hemicelulose. Tais sais são em parte reobtidos a partir de processos de evaporação do licor negro, estando, no entanto, ainda presentes neste em quantidades consideráveis – cerca de 5% em massa (BAJPAI, 2018a) para licores com 15% de teor de sólidos. A lavagem por sistema soxhlet aplicada é, assim, capaz de extrair tais compostos, a partir da dissolução parcial destes em água destilada, visto que esta percola a espuma carbonosa, proporcionando abertura de poros anteriormente bloqueados por tais sais e tornando o material apto para aplicação em

altas tecnologias. A quantificação da eficiência de limpeza do material carbonoso não foi, entretanto, possível, uma vez que esta exige a aplicação de técnicas e materiais não acessíveis ao autor do trabalho em questão. A caracterização qualitativa dos sais reobtidos será futuramente apresentada.

Conforme explanado em Materiais e Métodos, foi fundamental, para a aplicação em questão, que o material fosse cominuído a uma granulometria entre 250 e 425 µm, o que foi feito manualmente com o auxílio de um pistilo de alumina e um conjunto de peneiras e bandeja de aço inoxidável. Tal processo foi possibilitado pela relativamente alta fragilidade do material obtido, o que é comum a todas as estruturas grafíticas, sendo tal efeito ainda incrementado pela presença de poros em grande quantidade. Contudo, tal fragilidade é responsável, também, pelo surgimento de particulado mais fino que o necessário em quantidades consideráveis – 41,24%, em média, do material inicial. Tal parcela de espuma não apresenta grande utilidade para aplicação como biomaterial, uma vez que, abaixo de 250 µm, a estrutura carbonosa sofre tensões as quais desfaz a porosidade programada desenvolvida pelos grânulos de PMMA. Esse fenômeno reduziria a verossimilhança estrutural entre o material e a estrutura óssea cancelosa, podendo acarretar em significativas perdas de desempenho do biomaterial, o que será melhor explanado após a apresentação dos resultados vinculados aos testes biológicos.

As etapas de tratamento superficial por oxidação em meio com ácido nítrico e de adesão de quitosana desenvolvem perda de massa relativamente pequenas, de 14,84 e 7,68%, respectivamente. Tais valores são provavelmente devidos a fenômenos de caráter mecânico, físico e químico, sendo este último atuante mais significativamente durante a etapa de oxidação. Uma vez que ambas as etapas englobam o processo de manter os granulados dentro de soluções em agitação constante, e sendo esta desenvolvida por uma barra magnética, atrito entre o granulado, entre o este e o fluido e o contato entre tal material e a barra magnética desenvolvem atrito, erosão e rompimento do particulado. Assim, ao final dos períodos de processamento, dada quantidade de espuma, por ação de forças mecânicas foi deixada com um tamanho inferior a 250 µm, o que se torna cara vez mais significativo quanto maior o tempo de agitação, sendo, portanto, mais influente durante a etapa de adesão de quitosana.

O contato com soluções aquosas, por sua vez, faz com que pequenas porções de sais e hidróxidos ainda presentes no biomaterial sejam solubilizadas no meio, fator

mais evidenciado pela subsequente lavagem após tratamento oxidante. O desenvolvimento desse último, por sua vez, intensifica a eliminação de tais compostos básicos pela presença de HNO_3 , um ácido forte, o qual é, também, responsável por dado incremento teórico de massa, uma vez que criam em posições de energia livre de Gibbs mais altas grupos de caráter ácido oxigenados, conforme abordado na Revisão Bibliográfica. Além disso, tal ácido é capaz, ainda, de eliminar subprodutos da decomposição do compósito original não eliminados durante o processo de carbonização, fenômeno que pode ser responsável por parcela da redução mássica observada. O tratamento de adesão de quitosana, por sua vez, apesar de desenvolver perda de massa por solubilização de possíveis parcelas de sais e hidróxidos presentes, é responsável por incremento da massa total de biomaterial. Isso se deve à ocorrência de fixação de macromoléculas de modo físico à superfície do granulado. Tal quantificação, no entanto, é possível apenas com a avaliação das curvas de análise térmica, desenvolvidas posteriormente.

Ao final de todos os processos aplicados em vista de se obter os tipos de biomaterial desejados, verifica-se um rendimento mássico médio semelhante entre os tipos com e sem quitosana, sendo estes, em média de 6,66%. Em termos industriais, tal rendimento pode, em princípio, ser significativamente diminuto, o que prejudica a implementação em larga escala. Tal fator torna-se ainda mais evidente ao realizar-se um cálculo de rendimento teórico, desconsiderando-se quaisquer perdas mássicas ao longo do processo e a aquisição de massa por meio da adição de grupos óxidos por ação no ácido nítrico ou mesmo pela adesão de quitosana à superfície do biomaterial. Tendo em mente que o PMMA aplicado será decomposto e eliminado durante a carbonização, e considerando-se um teor mássico total de lignina no licor de 17% (CARDOSO; DE OLIVEIRA; PASSOS, 2009), além do consumo de todo o formaldeído adicionado no sistema – obtenção de maior rendimento possível –, tem-se, pela

Tabela 3:

$$\eta = \frac{\text{Massa de biomaterial teórica}}{\text{Massa total}} \cdot 100 = \frac{0,17 \cdot 200 + 30 + 88}{408} \cdot 100 = 37,25\%$$

O valor acima apresentado, 5,6 vezes maior que o real observado em ambiente laboratorial, torna, aparentemente, o processo pouco sustentável em termos econômicos. Contudo, é necessário compreender que o produto final, de, a princípio, alta tecnologia, apresenta grande valor agregado, apesar do preço reduzido de suas matérias-primas, o que possivelmente permitiria a prática de preços os quais garantissem lucro de empresas interessadas ao mesmo tempo que permitisse o acesso de populações mais carentes à tratamentos os quais utilizassem tal biomaterial. Tal análise, sendo ainda simplificada, deve ser mais bem explorada em estudos futuros.

5.2. Avaliação de imagens de microscopia eletrônica, EDS, titulação de Boehm e Análise Térmica

Em função do caráter complementar entre as técnicas de microscopia eletrônica, EDS, de titulação e de análise térmica, as quatro serão abordadas em conjunto na presente seção em vista de avaliar-se tanto a eficácia do processamento desenvolvido como características morfológicas e químicas do biomaterial gerado. Conforme descrito na Revisão Bibliográfica, tais características são de fundamental importância ao desempenho do biomaterial em questão, uma vez que definem, em grande parte, a resposta de células ósseas ao contato com tal substrato, sendo tal aspecto avaliado de modo completo com a avaliação biológica, a qual será realizada posteriormente. É importante lembrar que a avaliação geométrica, responsável pela obtenção dos resultados apresentados na Tabela 8, foi realizada com o auxílio dos softwares de processamento ImageJ e Microsoft Paint a partir das imagens adquiridas por microscopia eletrônica. Deste modo, erros relativos ao usuário, gerados conforme era necessária a aferição do tamanho em escalas ou mesmo quando eram desenvolvidas pinturas em vista de auxiliar-se a contabilização de área, consistem em fontes de imprecisão da metodologia adotada. Sendo assim, tais resultados devem ser tomados com certa cautela, e aplicam-se mais corretamente a análises comparativas entre amostras.

Tabela 8 - Avaliação geométrica do particulado

Amostra	Tamanho do particulado		Tamanho dos poros		Fração volumétrica dos poros (%):
	Média	Desvio	Média	Desvio	
A0	494	22	118	39	N. avaliado
AA1	379	50	115	31	N. avaliado
AA2	450	66	99	42	N. avaliado
AA3	308	90	98	32	N. avaliado
AA4	532	43	94	28	N. avaliado
AQ0	N. avaliado	N. avaliado	74	27	43
AAQ1	N. avaliado	N. avaliado	106	39	47
AAQ2	N. avaliado	N. avaliado	104	41	42
AAQ3	N. avaliado	N. avaliado	73	29	38
AAQ4	N. avaliado	N. avaliado	103	25	39
Média	433		98		41
Desvio	80		14		3

Ao analisar-se os dados de tamanho de particulado obtidos para as amostras A0 a AA4, nota-se relativa constância em tal parâmetro, não sendo verificado um padrão lógico, a priori. Desse modo, pode-se constatar que, apesar da evidência de perda de material por erosão e esforços mecânicos, o tamanho de particulado não foi alterado de modo significativo, fator de grande importância para o estabelecimento de um controle de qualidade em um processo desenvolvido em escala industrial. É importante relatar que, visto o caráter aglomerado das amostras tratadas com quitosana, não foi efetuado qualquer procedimento para averiguação do tamanho do particulado destas, uma vez que a percepção do limite entre um ou mais grânulos torna-se deficiente. De modo oposto, a fração volumétrica de poros programados pelos pellets de PMMA foi realizada apenas nas amostras tratadas com quitosana, sendo atestado, anteriormente, que o tamanho médio destes, não foi alterado significativamente conforme diferentes tratamentos foram aplicados no material. Tal preferência por esse tipo de amostra deveu-se a maior facilidade em se obterem figuras as quais apresentassem, em sua totalidade, a presença de granulado carbonoso. Assim como verificado para os outros parâmetros geométricos, nenhum padrão lógico pode ser formulado para justificar a pequena variabilidade observada, o que indica independência de tal característica com relação aos distintos processos realizados.

5.2.1. Amostras não tratadas com solução de quitosana

Pela análise por microscopia eletrônica da amostra não tratada, ou A0, obteve-se a Figura 38, a partir das quais aspectos geométricos foram extraídos e apresentados na Tabela 8, conforme já explanado. Pode-se verificar grande homogeneidade com relação à distribuição dos poros desenvolvidos a partir dos grânulos de PMMA aplicados à mistura inicial para a formação do compósito polimérico, tanto entre as diferentes partículas como no volume do particulado, como se verifica na Figura 38 (b). Tal característica é essencial, a priori, para o desenvolvimento de verossimilhança geométrica entre o biomaterial e o tecido orgânico o qual estaria mimetizando, fator que será melhor explorado ao avaliar-se os resultados biológicos. A Figura 38 (b), no entanto, permite verificar a presença inesperada de pequenos corpos esbranquiçados que, em maior ampliação, apresentam-se geometricamente ordenados e relativamente bem distribuídos ao longo da superfície da espuma não tratada, como se verifica na Figura 38 (c).

O uso da análise de EDS mostrou-se fundamental para a identificação e caracterização parcial de tais estruturas, sendo verificado, conforme indicado na Tabela 9, a presença não esperada de potássio, cloro, enxofre e sódio, elementos químicos característicos dos sais e hidróxidos normalmente encontrados no licor negro. Uma vez que tais componentes são verificados ao longo de toda a superfície do grânulo carbonoso e em outros grãos também avaliados, é possível supor que o processo de lavagem do biomaterial foi ineficaz, não sendo capaz de reduzir significativamente a quantidade de hidróxidos e sais na espuma carbonosa. Além de tais elementos, são verificados alumínio e silício, elementos pouco característicos do licor, tendo provável origem em etapas de processamento de polpação kraft, na localidade da indústria papeleira.

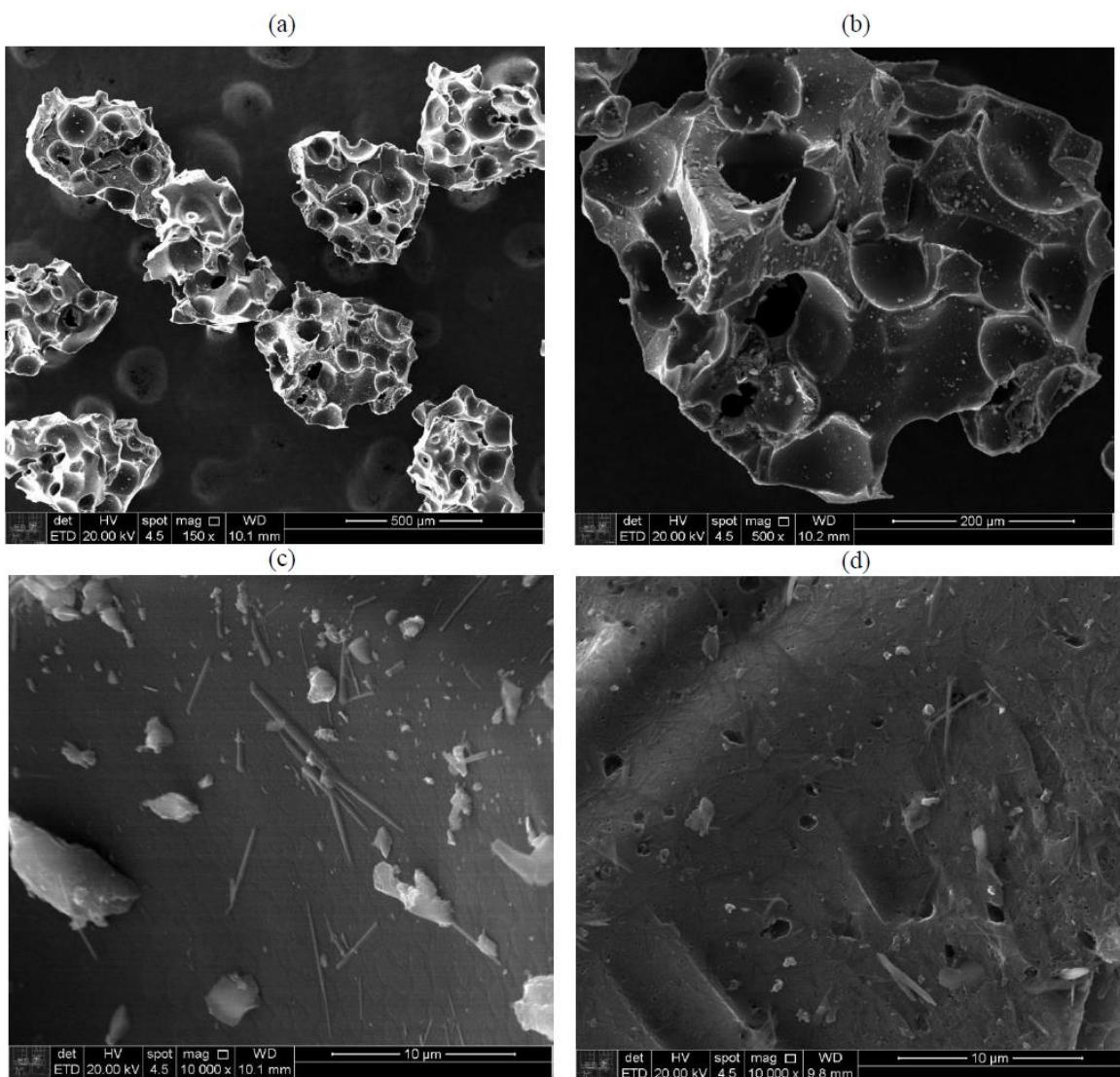


Figura 38 - microscopias ópticas da amostra A0. (a) - aumento de 150x; (b) - aumento de 500x; (c) - observa-se a presença de cristais de sais, cuja constituição qualitativa foi obtida por EDS; (d) - detalhes da superfície do biomaterial. Fonte: próprio autor.

Tabela 9 - Resumo de Resultados - EDS

Amostras		A0	AA1	AA2	AA3	AA4	Legenda	Alto
Elementos encontrados	C	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow		Significativo
	O	Green	Green	Green	Green	Blue		Duvidoso
	Al	Blue	Green	White	White	White		Inexistente
	Cl	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue		
	K	Green	White	White	White	White		
	S	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue		
	Na	Green	Green	Green	Blue	Blue		
	Si	Green	White	Green	White	White		
	Ca	White	White	White	White	Blue		
Amostras		AQ0	AAQ1	AAQ2	AAQ3	AAQ4		
	C	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow		
	O	Green	Green	Green	Green	Green		
	Al	White	Blue	White	Blue	Blue		
	Cl	Blue	Blue	White	White	Blue		
	K	White	Blue	White	White	White		
	S	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue		
	Na	Blue	Green	White	Blue	Blue		
	Si	White	White	White	White	White		
	Ca	White	White	White	White	Blue		

A Tabela 9 apresenta, de modo resumido, todos os resultados obtidos de avaliação por EDS. Para a interpretação da legenda presente, deve-se ter em mente que células indicadas como “Alto” caso o elemento referido esteja presente em concentrações mássicas superiores a 50 %. Posições “significativo” contém elementos presentes em concentrações menores que 50 %, enquanto que as indicadas como “Duvidoso” contém indicações da existência do elemento, sendo seu erro de detecção maior que o sítio presente. Tal fenômeno, como será possível observar em praticamente todas as figuras coletadas e aqui apresentadas, é verificado em todas as amostras de biomaterial, sendo, no entanto, menos notável conforme desenvolve-se os tratamentos com ácido nítrico, além de ser significativamente reduzida nas amostras nas quais aplicou-se quitosana. Enquanto que tais cristais apresentaram-se, na amostra não tratada, com tamanhos de até 12 µm, tal tamanho foi significativamente decrescido para a amostra AA1, na qual verificaram-se cristais de tamanhos entre 4 e 8 µm, além de sua presença ser menos significativa. Tal fato pode ser notado a partir da análise qualitativa da Figura 39, em que os cristais se mostram em maior abundância apenas em aumentos de 20 mil vezes. A amostra AA4,

por sua vez, na qual aplicou-se o tratamento de oxidação de maior intensidade, aparentou ter cristais de tamanho muito reduzido, inferiores a 1 μm , visualizados apenas em aumentos superiores a 40 mil vezes, como se verifica na Figura 40.

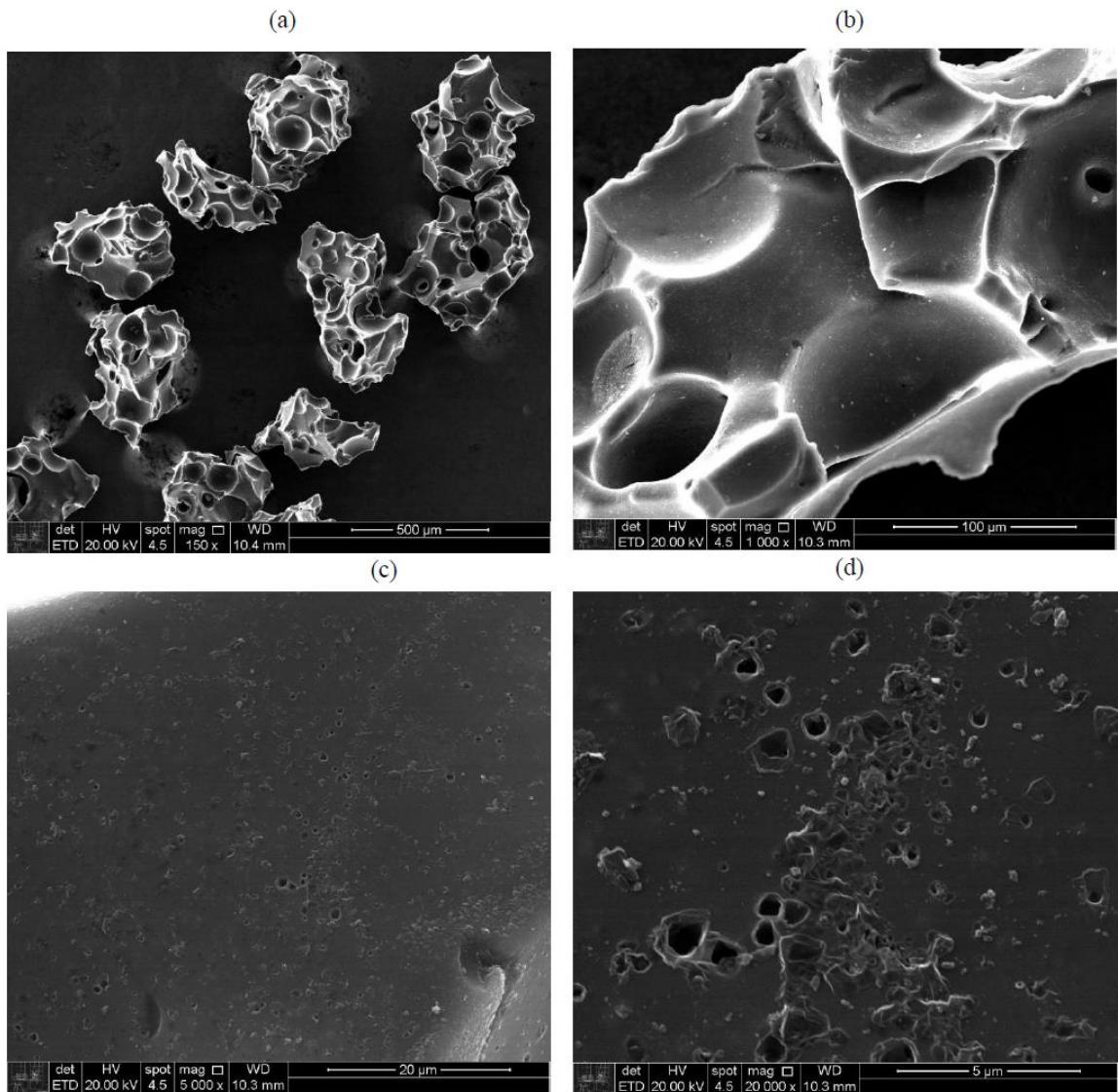


Figura 39 - Microscopias eletrônicas obtidas para a amostra AA1. (c) e (d) tornam a porosidade citada no texto mais visível. Fonte: próprio autor.

O decrescimento no tamanho dos cristalitos não seguiu, no entanto, certa linearidade de acordo com a intensidade do tratamento com ácido nítrico realizado, como pode ser verificado a partir da análise da Figura 41, vinculadas à amostra AA3. Nestas, podem ser visualizados cristais de hidróxidos e de sais com tamanhos entre 3 e 5 μm , localizados no interior de poros gerados por particulado de PMMA, enquanto que a amostra AA2, visualizada na Figura 40, apresenta estes em tamanhos variáveis

entre 1 a 3 μm , apesar de ser tratada com ácido em concentração cerca de duas vezes e meia inferior à utilizada para a produção da amostra AA3. Esse fenômeno pode ser explanado pela maior dificuldade de acesso, pelos íons, ao interior dos poros: a geometria destes reduziria o transporte de massa por mecanismos convectivos, de modo que quaisquer porções de moléculas ácidas seriam rapidamente exauridas de tais estruturas. Assim, poros com grande concentração inicial de sais tenderiam a apresentar, ao final do processo de oxidação, quantidades ainda consideráveis destes. O uso de concentrações mais altas de ácido, aliado a tratamentos mais longos consistem em alternativas para tal problema, o que poderia tornar tal etapa de processamento um mecanismo de segurança para limpeza completa do material, caso limpezas iniciais não sejam completas.

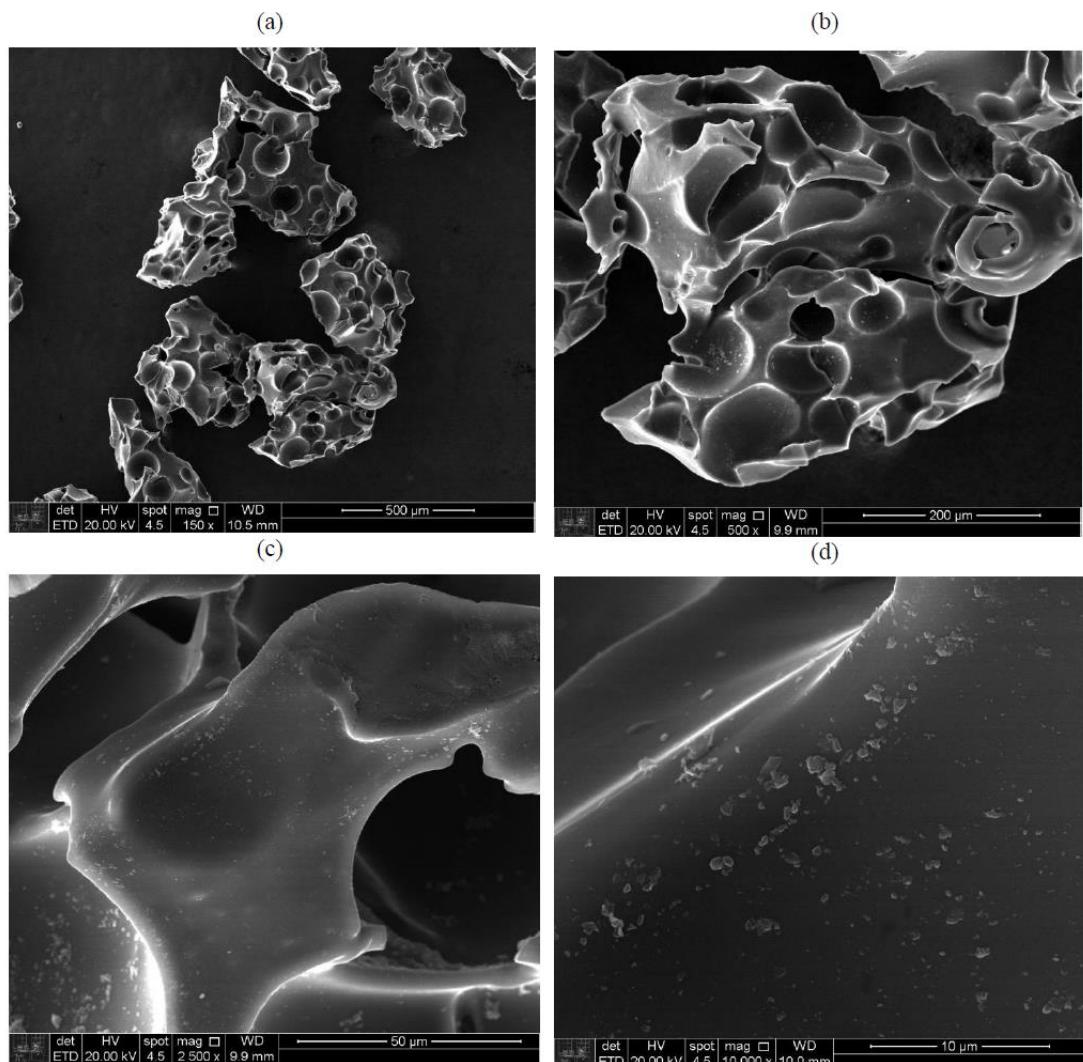


Figura 40 - Microscopias eletrônicas obtidas para a amostra AA2. Em (d), nota-se a presença dos grânulos salinos de tamanho diminuto. Fonte: próprio autor.

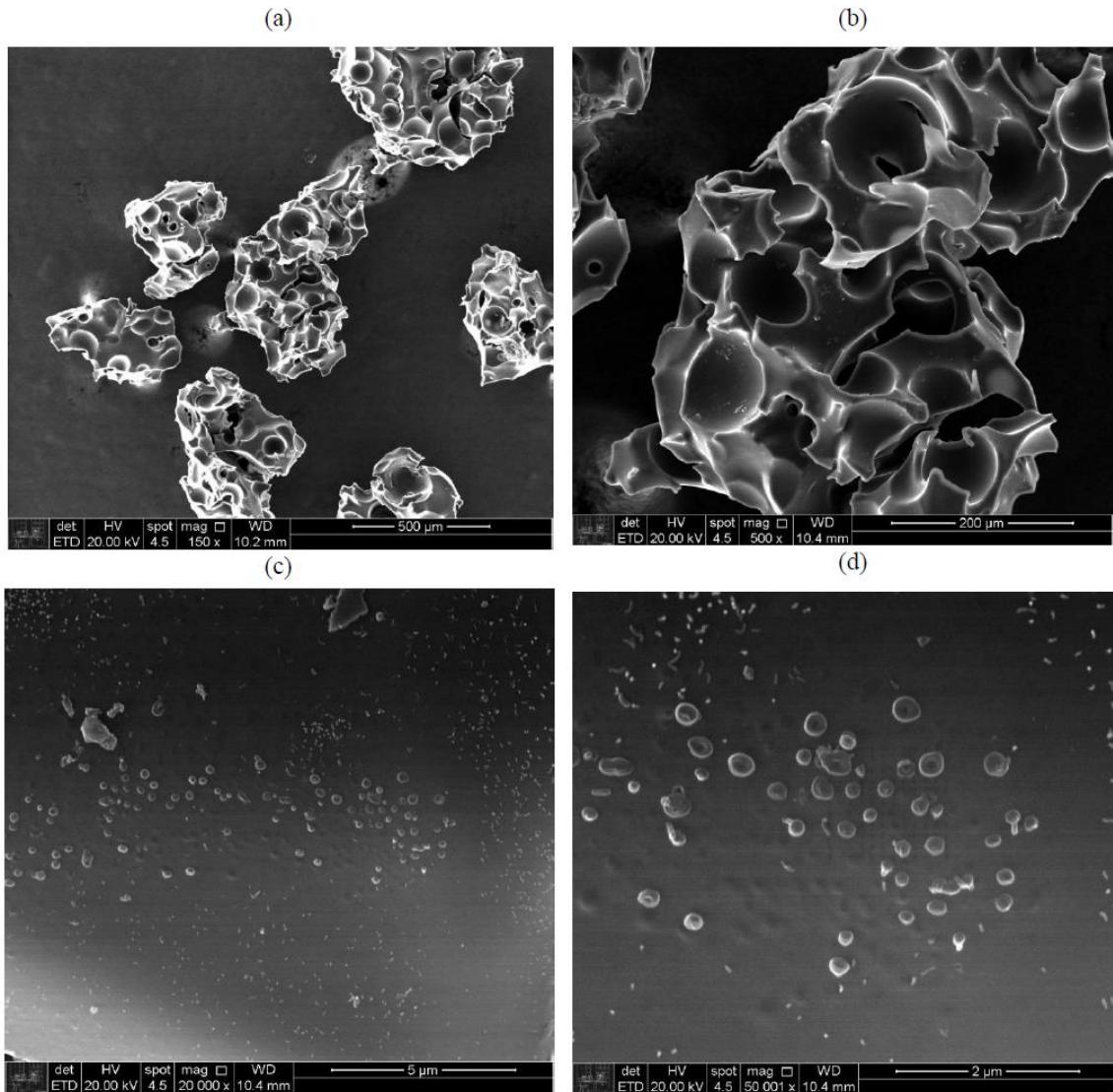


Figura 41 - Microscopias eletrônicas da amostra AA3. Notou-se a presença de sais de tamanho superior ao aferido para a amostra AA2, o que indica a não linearidade da presença destes na estrutura do biomaterial. Fonte: próprio autor.

A partir das análises de EDS – Tabela 9 –, é possível afirmar, com certa cautela, que os teores de sódio, enxofre, cloro e potássio encontram-se em quantidades significativamente reduzidas nas amostras AA1 a AA4 quando comparado ao observado para a amostra A0, não tratada. As avaliações realizadas em regiões onde verificam-se aglomerados de cristais ou mesmo em um único grão cristalino indicam dada constância com relação à constituição de tal material, o que evidencia sua origem no processo de polpação kraft. A avaliação das Figuras 39 (c) e (d), vinculada a amostra AA1, permite verificar a presença de macroporos de tamanho reduzido, os quais variam de 0,5 a 1 μm, e os quais são característicos específicos de poucos grãos

de tal tipo de biomaterial desenvolvido. A presença destes foi inicialmente associada ao ataque de HNO_3 à aglomerados de alcatrão os quais estivessem bloqueando tais estruturas, de acordo com o descrito na Revisão Bibliográfica. Contudo, conforme é possível averiguar-se nas outras imagens apresentadas, formações como estas foram identificadas com baixa ou nenhuma frequência no conjunto total de amostras. Isso traz à mente que tal porosidade consiste em um elemento cuja criação estrela relacionada ou à produção da estrutura termorrígida ou à carbonização desta. Tal hipótese, no entanto, é parcialmente refutada a partir da análise de uma nova amostra carbonosa, cuja metodologia de processamento foi levemente alterada, conforme será melhor apresentado em seguida.

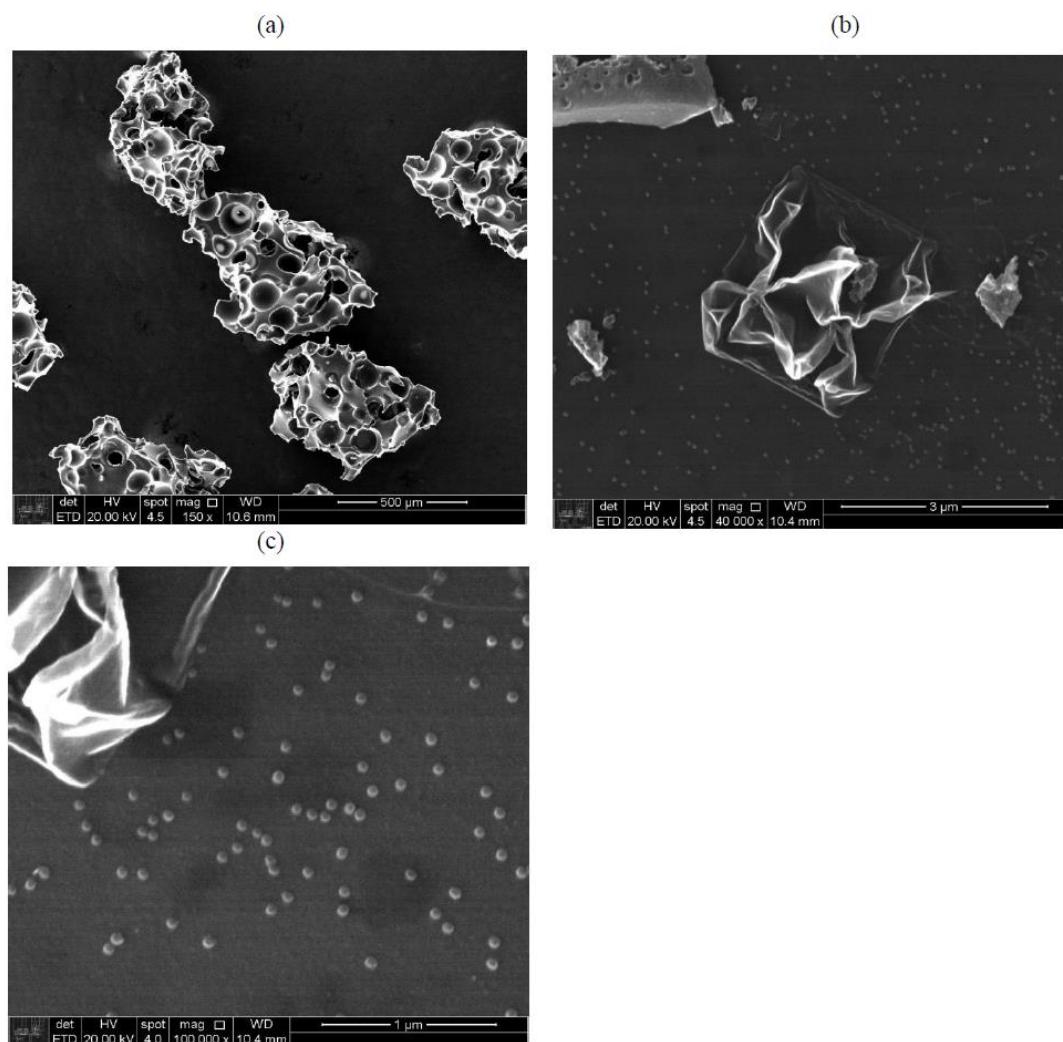


Figura 42 - Microscopias obtidas pela observação da amostra AA4. Nota-se, nesta, a presença de estruturas esféricas submicrométricas, como ocorre na amostra AA3. Fonte: próprio autor.

Avaliações mais cautelosas das amostras AA3 e AA4 revelaram a presença, em grande parte da superfície, de estruturas semelhantes a pequenas esferas, visualizadas nas Figuras 42 (b) e (c), para AA4 e 41 (c) e (d), para AA3. Tais estruturas aparentaram possuir diâmetros entre 0,15 e 0,30 μm relativamente variados, sendo de formato mais disforme quanto maior o diâmetro mensurado, para a amostra AA3. Na amostra AA4, foi possível verificar-se a presença de esferas mais uniformes e espaçadas de modo relativamente homogêneo, com tamanhos pouco variados, próximos de 0,05 μm . Em AA3, verifica-se, ainda, a presença de formações semelhantes a bacilos, com comprimentos no entorno de 0,18 μm e largura entre 0,05 e 0,1 μm . As análises de EDS em tais estruturas identificaram a presença de enxofre e sódio, além dos já esperados oxigênio e carbono, o que indicaria certa relação entre a presença dos elementos químicos não desejados e sua formação, além da maior concentração de ácido nítrico utilizada para o tratamento por oxidação, a priori.

A realização de buscas em trabalhos já desenvolvidos com materiais carbonizados mostrou, no entanto, a possibilidade de ocorrência de estruturas muito semelhantes por decorrência da própria carbonização de matéria orgânica (ZHANG; QIAO; DAI, 2015). O aquecimento de moléculas de carboidratos presentes no licor negro, apesar de representarem parcela pequena da parte orgânica do resíduo, podem, durante a produção dos precursores poliméricos da espuma, terem se acumulado em certas regiões do compósito. Assim, ao serem aquecidos em temperaturas próximas de 300°C e, por eventual efeito térmico, serem mantidas em temperaturas baixas por período de tempo suficiente, tais regiões podem ter formado, a partir de carbonização hidrotérmica, aglomerados poliméricos altamente ligados. O aquecimento em baixas temperaturas e pressões relativamente altas, as quais podem ter sido permitidas pela própria estrutura porosa, possivelmente decompuseram tais substâncias e permitiram o desenvolvimento de reações de polimerização, gerando núcleos esféricos, os quais crescem com o tempo (ZHANG; QIAO; DAI, 2015). Outra teoria encontrada sugere a formação, em altas temperaturas, de estruturas carbonosas de alta energia por meio do rearranjo de moléculas de massa molar relativamente baixas, sendo evidenciado em estudos realizados por grupos de pesquisa (ADEWUMI et al., 2017, 2018). Novos testes, no entanto, devem ser realizados em vista de uma melhor caracterização de tais estruturas, além da

produção de novas amostras devidamente lavadas em vista de se verificar a ocorrência ou não de tal fenômeno.

A ineficácia na extração dos hidróxidos e sais provindos da polpação kraft, além de permitir a presença destes na estrutura do biomaterial, afetou de modo significativo o desenvolvimento do tratamento de oxidação desenvolvido. Tal efeito pode ser claramente verificado com uma avaliação dos dados obtidos a partir da titulação de Boehm, os quais são amostrados a seguir. Procurou-se quantificar os grupos ácidos existentes na região superficial das amostras A0, AA2 e AA4, sendo que o primeiro tipo de amostra não sofreu qualquer modificação superficial, diferentemente de AA2 e AA4, as quais foram tratadas em soluções de ácido nítrico com concentrações de $3,418 \cdot 10^{-3}$ mol/mL e $1,709 \cdot 10^{-3}$ mol/mL, respectivamente.

Assim, tendo em mãos as equações apresentadas em Materiais e Métodos, tem-se os resultados apresentados na Tabela 10. Os valores de volumes, densidades e de pH aferidos durante os experimentos foram omitidos em vista de tornar a visualização dos resultados mais simples e os fenômenos verificados mais facilmente compreendidos. Tendo-se, ainda, tal objetivo, tais dados são expostos, também, na Figura 43. É importante, neste ponto, retomar que a avaliação por titulação de Boehm desenvolvida no trabalho em questão foi realizada a partir da aplicação de uma metodologia oriunda da escolha das melhores de processamentos, de acordo com os aparelhos disponíveis em laboratório. Sendo assim, há possibilidade de ocorrência de erros devido a quaisquer impurezas que possam ter adentrado os sistemas reativos – de tratamento com as bases – ou analíticos – nos quais realizou-se o processo de titulação de fato. Assim, os valores aqui avaliados devem ser tomados com certa cautela, uma vez que podem facilmente ser alterados por uma diversidade de fatores (BOEHM, 1966, 1994; GOERTZEN et al., 2010; OICKLE et al., 2010).

Tabela 10 - Avaliação da química de superfície: quantificação dos grupos ácidos (mol/g de biomaterial)

Amostra	Grupos carboxílicos		Lactonas		Grupos Fenólicos	
	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio
A0	1,78E-02	1,44E-03	-6,78E-03	3,76E-03	-1,67E-02	6,67E-03
AA2	7,42E-04	2,28E-03	-2,20E-03	8,42E-03	1,99E-02	8,72E-03
AA4	-1,88E-02	2,01E-03	2,34E-02	2,40E-03	1,29E-02	1,26E-02

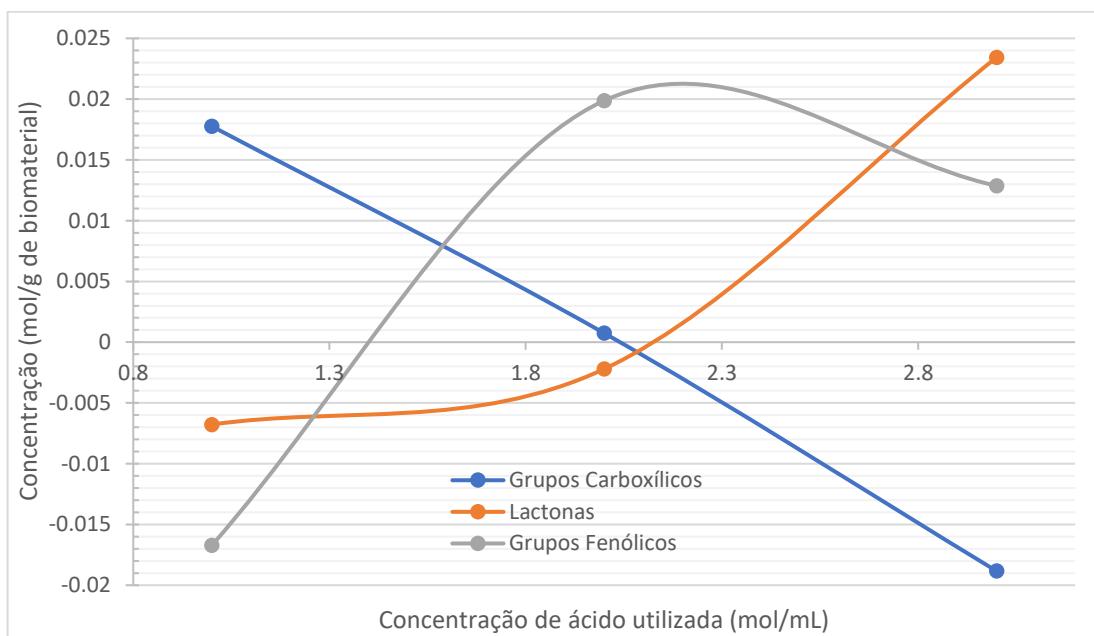


Figura 43 - Gráfico indicando a variação da concentração de grupos ácidos de acordo com o tratamento desenvolvido. Fonte: próprio autor.

Deste modo, com o uso de tal metodologia analítica, foi possível verificar-se um aumento na quantidade de grupos do tipo lactona e fenólicos conforme a intensidade do tratamento de oxidação foi incrementada, cuja detecção é realizada por meio do uso de carbonato de sódio e hidróxido de sódio, respectivamente. A detecção de grupos carboxílicos, no entanto, evidenciou um comportamento oposto, o que é incoerente com trabalhos realizados em tal campo (BOEHM, 1994; GORGULHO et al., 2008; KALIJADIS et al., 2011; OICKLE et al., 2010; SCHÖNHERR et al., 2018). Sendo detectados com o uso de soluções de bicarbonato de sódio, estas, possivelmente, sofreram influência significativa da presença dos sais de caráter básico presentes, o que ocorre visto sua força relativa a outras bases ser reduzida (GOERTZEN et al., 2010; OICKLE et al., 2010). Tal fenômeno pode, ainda, ter sido gerado por conta da

amostra a qual foi utilizada para o teste, lançando-se mão da aleatoriedade do processo de captação de amostras.

A adoção da metodologia de desenvolvimento de agitação por meio de agitador magnético, por sua vez, correspondeu a outra fonte de incertezas para o método. Conforme já descrito, a presença do bastão magnético desenvolve mecanismos de erosão e de produção de esforços mecânicos no particulado os quais tendem a fragmentá-lo com o tempo. Sendo assim, o uso prolongado de tal método, como ocorreu durante a titulação, faz com que o material seja cominuído, desenvolvendo-se novas superfícies as quais alterarão significativamente os resultados obtidos, ocasionando em uma mais comum redução da concentração de grupos funcionais na superfície da espuma analisada. Esse fenômeno pode ser observado na Figura 44, a qual apresenta um papel filtro utilizado para a filtração de uma das soluções utilizadas na titulação. Nota-se, a partir desta, que o particulado restante se encontra praticamente pulverizado, indicando o desenvolvimento de uma grande quantidade de superfície. Sendo assim, entrando em contato com uma área significativamente maior do que a originalmente tratada, a solução de análise poderá solubilizar quantidades consideravelmente maiores de sais ainda não extraídos, o que ocasionaria a diferença verificada.



Figura 44 - Fotografia obtida do papel filtro utilizado para filtração de solução de tratamento aplicada na titulação de Boehm. Nota-se o caráter diminuto do material, muito inferior ao tamanho original do biomaterial inicialmente inserido no sistema. Fonte: próprio autor.

A ocorrência de tais hidróxidos e sais é verificada, ainda, pelos valores negativos encontrados para a contabilização dos grupos fenólicos e do tipo lactona, fenômeno que já foi verificado em trabalhos os quais utilizaram a técnica em materiais carbonosos. Conforme descrito na Revisão Bibliográfica, quando gerados em atmosferas inertes, como a utilizada no processamento do biomaterial em questão, apresentam um caráter inicialmente básico, visto a manutenção de sítios ativos nas extremidades de folhas de grafeno, a qual decorre da inércia do gás presente. Tal situação não é mais verificada uma vez que a superfície da espuma carbonosa entra em contato com a atmosfera terrestre, de caráter oxidante, de modo a ser rapidamente modificada, sendo atestada a produção de grupos ácidos em tal região do material. Apesar das anomalias aferidas pela titulação desenvolvida, é importante mencionar que tal técnica indica possibilidade de mudança do caráter químico da superfície do biomaterial desenvolvido, que será evidenciado ainda posteriormente, a partir das análises de microscopia das amostras com quitosana.

Apesar de significativos, sendo tais resultados obtidos a partir de uma técnica de titulação, podem ser, ainda, consequência de um grande número de fatores interferentes. A temperatura local, bem como a umidade, não era controlada no ambiente, enquanto que as soluções de análise utilizadas podem ter adquirido quaisquer impurezas por meio do processo de realização da titulação ou mesmo da limpeza incorreta da vidraria. Desse modo, é importante ter-se em mente que a credibilidade destes, em termos quantitativos, é comprometida, sendo, no entanto, possível, ainda, estabelecerem-se relações qualitativas significativas. Assim, afirmar-se que a amostra AA4 consiste na mais oxidada dentre as avaliadas é aceitável, e coerente com o esperado, visto que passou pelo tratamento ácido mais intenso, o que é, em princípio, de grande relevância para o comportamento da espuma carbonosa quando em aplicação, o que será mais bem explorado ao serem apresentados os resultados biológicos.

5.2.2. Nova amostra de biomaterial

Em acordo com o que foi atestado a partir tanto da titulação de Boehm como a partir da análise de microscopia eletrônica, grande influência foi desenvolvida por

ocorrência da lavagem ineficaz. Valores negativos de grupos funcionais oxigenados, bem como a não ocorrência de pequenas modificações na morfologia da superfície tornaram, assim, duvidoso atestar a eficácia dos tratamentos ácidos, de modo a ter sido produzida uma nova amostra. Para tanto, utilizou-se a mesma metodologia aplicada para a obtenção do tipo AA1, incrementando-se o tempo de lavagem de uma para duas semanas. A Figura 45 apresenta imagens obtidas por microscopia eletrônica da nova amostra de biomaterial, sendo possível averiguar-se modificações significativas quando comparada com as amostras anteriormente tratadas.

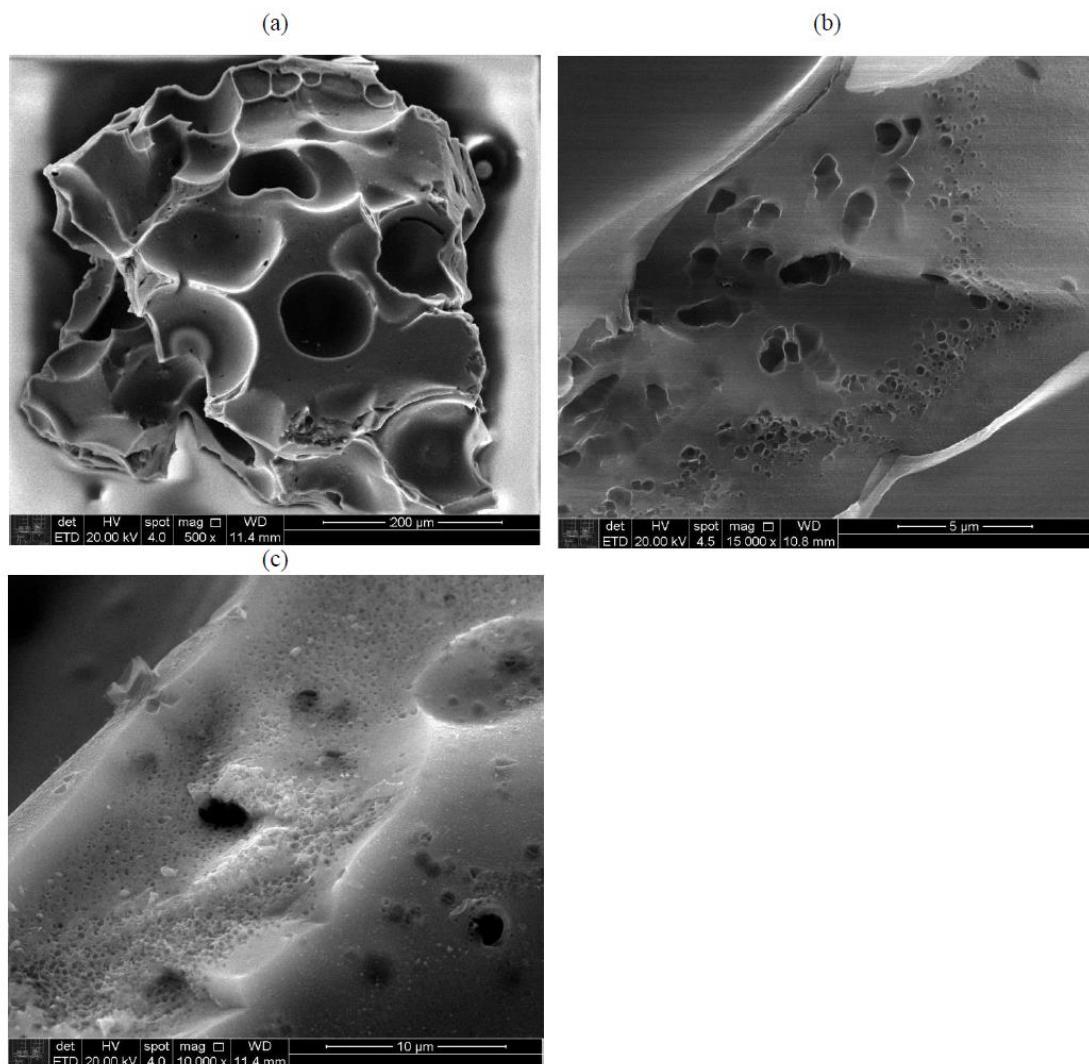


Figura 45 -Microscopias eletrônicas da nova amostra de biomaterial. É notável a melhor limpeza superficial pelo sistema soxhlet, além de apresentar estar mais atacada que as inicialmente produzidas, ou seja, A0 a AA4. Fonte: próprio autor.

É possível notar, pela Figura 45, que o particulado obtido apresenta um aspecto muito mais livre de particulados, o que indica uma eficácia muito mais significativa com relação à extração de hidróxidos e sais provindos da polpação kraft. Aumentos maiores são capazes, ainda, de detectar a presença de alguns cristalitos isolados, com tamanhos variando de 3 a 4 μm , sendo evidenciado por análise de EDS a presença de elementos químicos característicos de tais substâncias a serem extraídas. Isso evidencia uma possível necessidade de desenvolvimento de processamentos de lavagem ainda mais intensos, o que é de fundamental importância em vista de garantir-se maior desempenho do biomaterial gerado. Apesar da persistente presença das substâncias básicas, o tratamento ácido teve, em princípio, seu efeito morfológico atestado, conforme foi observado na Revisão Bibliográfica. É possível verificar-se, nas três imagens, a presença de porosidade macroscópica de tamanho reduzido, sendo esta de dois tipos distintos. A primeira, com tamanho médio entre 1,5 e 2,5 μm , é facilmente verificada na Figura 45 (c), enquanto que a segunda, com tamanhos médios entre 0,2 e 0,4 μm pode ser evidenciada na região amostrada na Figura 45 (b).

Tais estruturas podem ter origem, conforme atestado na Revisão Bibliográfica, no ataque à alcatrões e regiões de maior energia livre de Gibbs executado pelo ácido nítrico. É importante notar que tal processo tornou, aparentemente, acessíveis poros internos da espuma carbonosa, o que poderia ser ainda verificado a partir da realização de análises de BET, consistindo este em um passo para a continuidade da pesquisa em questão. Vale ressaltar, no entanto, que apenas repetidas reproduções da metodologia em diferentes bateladas de biomaterial poderiam fornecer dados e evidências gráficas suficientes para a confirmação das hipóteses expostas em todo o trabalho em questão, sendo tal fato também válido para o exposto na seção em questão.

5.2.3. Amostras tratadas com solução de quitosana

A avaliação das amostras tratadas também com quitosana, AQ0 a AAQ4, com microscopia eletrônica e análise de EDS foram de grande valia em vista de indicar as consequências microscópicas obtidas por meio de tal tratamento. Tal análise é ainda

complementada pela análise térmica, a qual foi aplicada para tais tipos de biomaterial em vista da quantificação de quitosana aderida na superfície da espuma carbonosa desenvolvida. Inicialmente, por avaliação preliminar das Figuras 46 (a), 47 (a), 48 (a), 50 (a) e 51 (a), pode-se concluir que o tratamento não desenvolveu grandes alterações morfológicas vinculadas à geometria dos grãos, apresentando-se, ainda, no seu formato ovalado, verificado para as amostras AA0 a AA4. Observando-se as imagens referentes a amostra AQ0, não tratada com ácido nítrico, é notável, conforme já citado, a presença de cristais dispostos ao longo da superfície do material, os quais apresentam, segundo avaliações de EDS, elementos químicos equivalentes àqueles verificados nos compostos extraídos pelo processo de lavagem. Percebe-se, no entanto, em aumentos mais intensos, que a presença alarmante, verificada na amostra A0, não é mais recorrente, o que indica certa eficácia do tratamento com relação a remoção dos hidróxidos e sais provindos do processo kraft, assim como o tratamento de oxidação da superfície. Nota-se, ainda, a presença de estruturas ainda não evidenciadas nas amostras A0 a AA4, especialmente em aumentos mais significativos, como as verificadas na Figura 46 (c), semelhante a uma folha rompida. Tal estrutura estaria associada a uma possível aglomeração de quitosana em tal região da espuma, não sendo esta presente em toda a superfície.

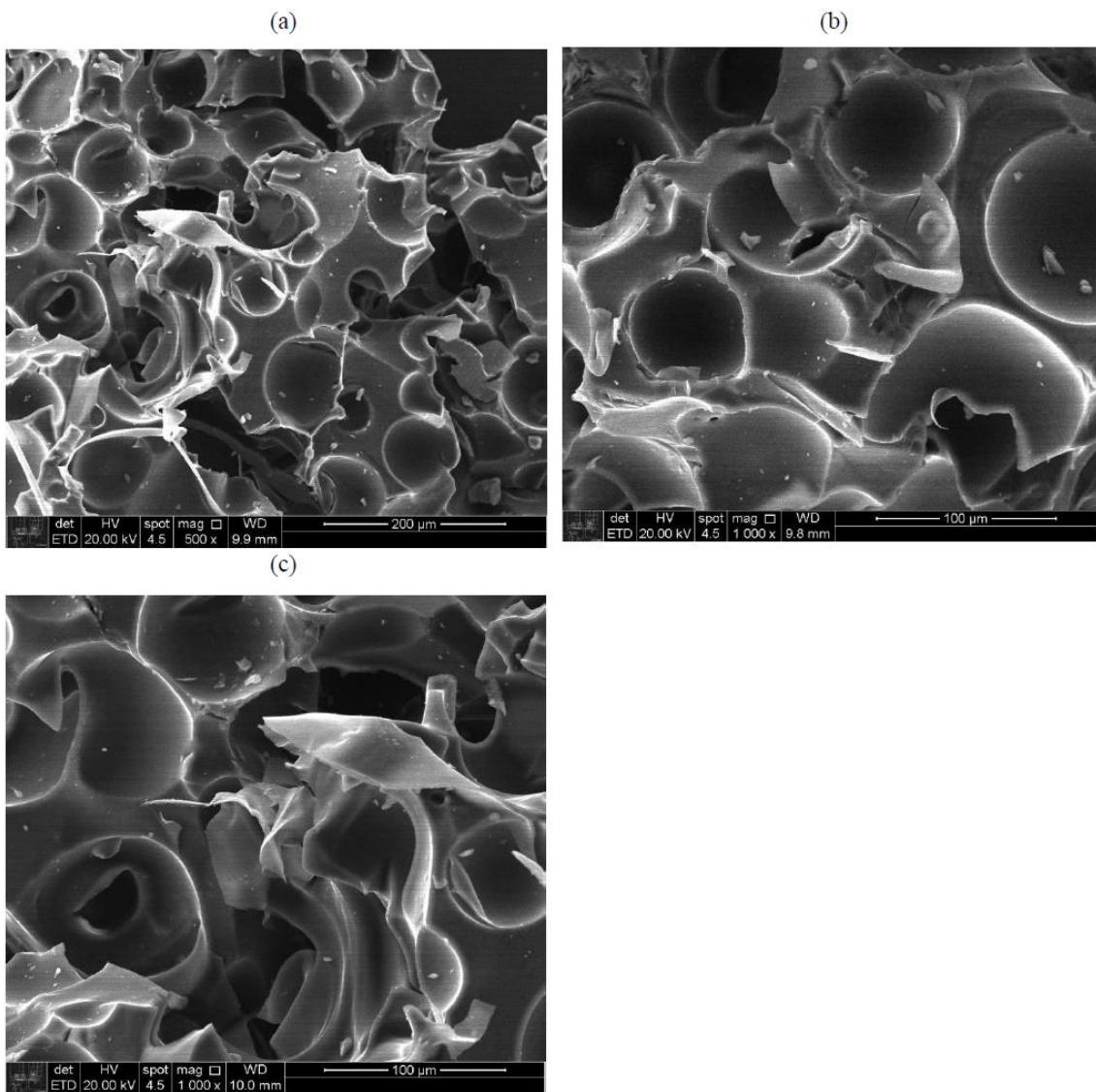


Figura 46 - Fotografias obtidas a partir de microscopia eletrônica da amostra AQ0. Nota-se, em (b) e (c), a presença de estruturas distintas das anteriormente verificadas. Fonte: próprio autor.

A amostra AAQ1, por sua vez, visualizada na Figura 47, apresenta uma morfologia de poros programados, ou seja, desenvolvidos pela adição de PMMA, em princípio, distinta da notada para as amostras verificadas até então. Como é facilmente observado na Figura 47 (c), determinados poros apresentam certa deformidade em sua borda, fenômeno o qual torna-se cada vez mais frequente conforme o tratamento de oxidação prévio foi intensificado. A análise de EDS de tal morfologia identificou a presença predominante de carbono e oxigênio na região, o que traz indícios de formação de filme de quitosana. Tal imagem, bem como a Figura 47 (d), evidenciam, ainda, a presença dos sais não extraídos pela lavagem,

especialmente em regiões no interior de macroporos, o que é também esclarecido por análises de EDS nos cristais identificados. Esta última imagem, no entanto, amostra os cristais com uma textura diferenciada, sendo possível associá-la à presença, novamente, de um filme recobrindo toda a zona de interesse.

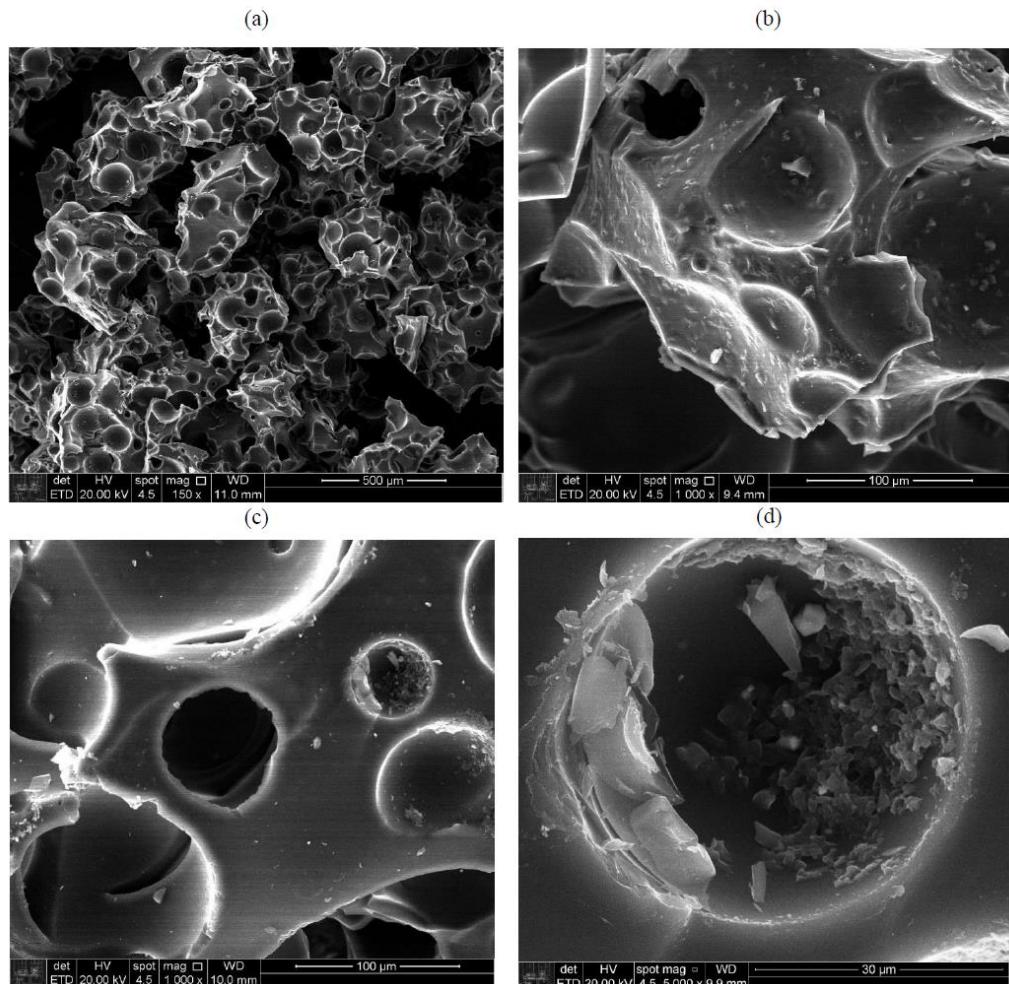


Figura 47 - Microscopias eletrônicas obtidas a partir da avaliação da amostra AAQ1. Nota-se deformação no poro central em (c). Fonte: próprio autor.

A Figura 48, obtida pela observação da amostra AAQ2, por sua vez, torna evidente a presença de um filme, muito provavelmente de quitosana, recobrindo grande parte da zona estudada, o que é muito claro na região onde o filme foi rompido, apresentadas nas duas últimas imagens citadas, respectivamente. Nota-se a presença, no filme, de pequenos poros, os quais foram atestados, ainda em outras regiões do biomaterial, não apresentadas no trabalho em questão.

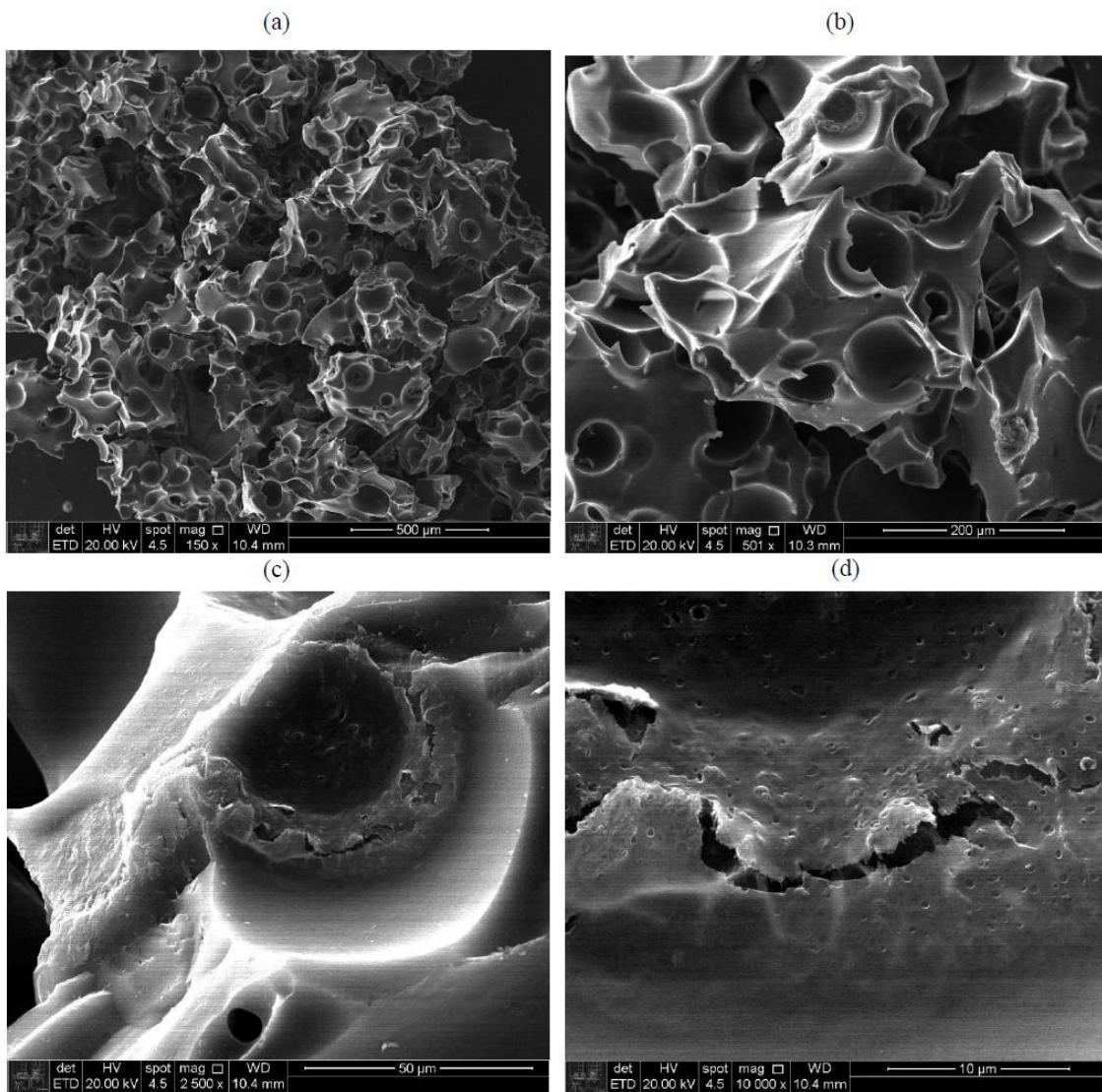


Figura 48 - Microscopias eletrônicas obtidas pela avaliação da amostra AAQ2. As imagens (c) e (d) tornam visíveis o filme de material orgânico formado. Fonte: próprio autor.

Tais pontuações são muito semelhantes às verificadas na amostra de filme de quitosana produzido com a mesma metodologia aplicada no tratamento do biomaterial gerado, conforme se verifica pela avaliação da Figura 49. Tal fato corresponde a mais uma evidência a qual correlaciona a quitosana ao filme identificado. Em tais zonas, análises de EDS detectaram a presença majoritária de carbono e oxigênio, apesar de ser verificada a presença de hidróxidos e sais não desejáveis ainda presentes em certas regiões da amostra AAQ3, na qual é ainda presente quantidades consideráveis de tais impurezas, conforme se atestou pela visualização da Figura 53. Tal filme polimérico poderia formar-se em espessura suficiente para redução do sinal obtido

por elétrons retroespalhados, suposição a qual deve ainda ser confirmada por testes futuros.

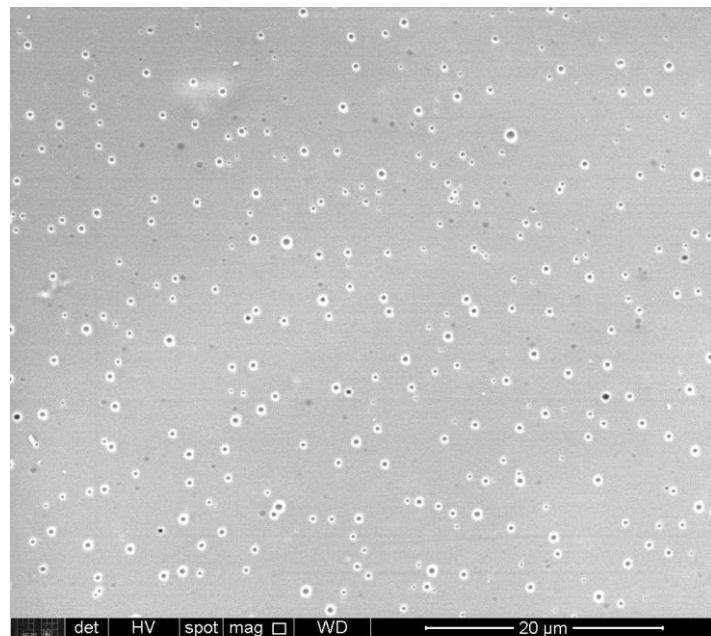


Figura 49 - Imagem obtida por microscopia eletrônica de filme de quitosana, o qual foi gerado por secagem em placa de petri e estufa a 60°C. Fonte: próprio autor.

Em regiões de borda de poros ou de paredes dos grânulos carbonosos da amostra AAQ4, foi observada a ocorrência de vilosidades em sua superfície, conforme pode ser verificado na Figura 54 (d). Tais zonas, estando em posições de natural maior energia livre de Gibbs, uma vez que são verificadas mudanças bruscas no sentido da superfície do material, e assim, contendo um grande número de defeitos, possivelmente foram mais intensamente atacadas durante o tratamento de oxidação, o que levou a uma maior adesão da quitosana, substância de caráter levemente básico, à superfície, promovendo a formação de vilosidades. As Figuras 53 (a) e (c), vinculadas à amostra AAQ3, apresentam, além de regiões com presença de cristais indesejados, estruturas ainda não verificadas, na zona superior central, cuja natureza torna-se mais clara com a análise das imagens obtidas com a avaliação da amostra AAQ4. Nesta, verificou-se a presença de estruturas amorfas, como aferido na Figura 55, além de filme claramente formados, como na Figura 54 (b). A análise por EDS confirmou a presença predominante de carbono e oxigênio, o que indicaria a presença de acúmulos de quitosana na região.

Trabalhos desenvolvidos utilizando quitosana de modo análogo ao verificado na presente pesquisa não utilizaram materiais carbonosos como substrato de crescimento. Isso torna a comparação de tal estrutura com o verificado em microscopias eletrônicas apresentadas nesses trabalhos um exercício cujos resultados devem ser tomados com cautela. A Figura 50 apresenta uma microscopia eletrônica obtida de espuma carbonosa desenvolvida a partir de quitosana e negro de fumo, sendo utilizada, no entanto, para aplicação como sensor de tensão (LIU; ZHENG; LIU, 2018). Estruturas de filme são, também, verificadas, o que, do mesmo modo, consiste em mais uma evidência vinculada à possibilidade de formação de tais estruturas. Substratos obtidos a partir da união de quitosana a hidroxiapatita (CHIONO et al., 2008; PALLELA et al., 2012) apresentaram estruturas de filmes com grande semelhança às verificadas nas amostras tratadas com quitosana, como pode ser verificado nas Figuras 51 e 52. A evidência de ocorrência de formações de tal tipo em superfícies de materiais inorgânicos consiste em uma evidência da possibilidade de formação de tais estruturas na espuma carbonosa desenvolvida. Contudo, a realização de testes os quais possam tornar clara a identidade de tais estruturas é fundamental, consistindo em uma etapa a ser realizada em trabalhos subsequentes.

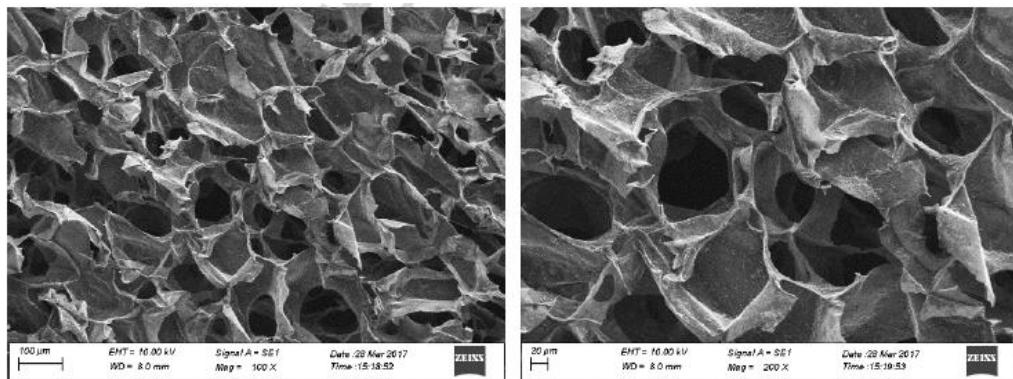


Figura 50 - Microscopias eletrônicas obtidas de amostra de sensor formado por negro de fumo e quitosana, a partir de liofilização após contato entre tais substâncias. Fonte: (LIU; ZHENG; LIU, 2018).

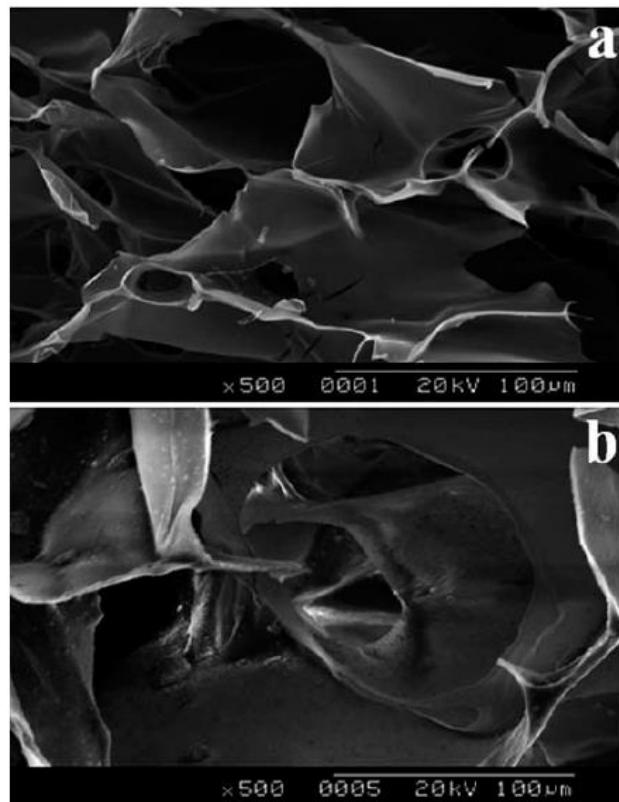


Figura 51 - Microscopias eletrônicas obtidas de: (a) - solução de quitosana lyofilizada; (b) - compósito de quitosana e hidroxiapatita. Fonte: (PALLELA et al., 2012).

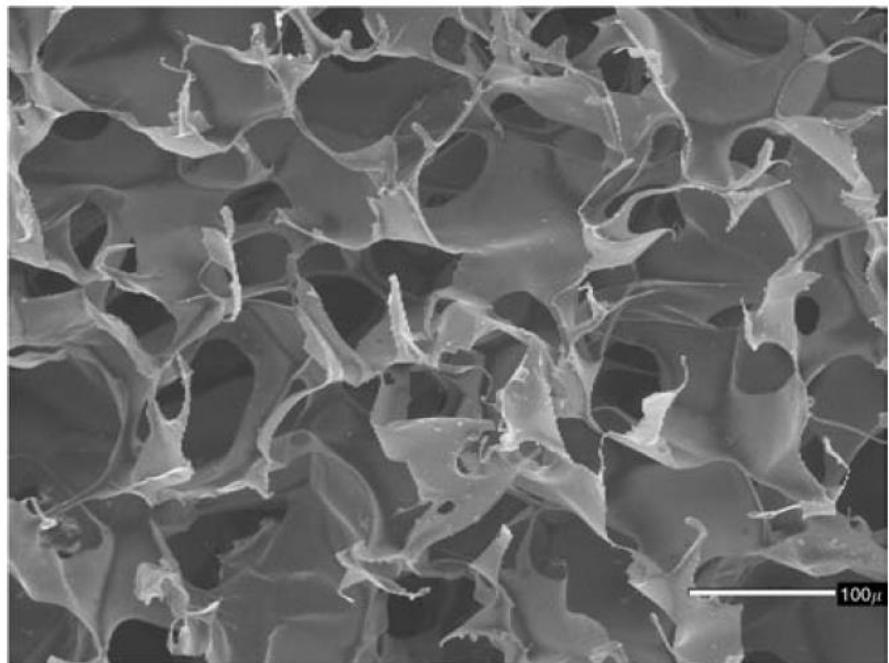


Figura 52 - Microscopia eletrônica obtida de substrato de hidroxiapatita e quitosana. Fonte: (CHIONO et al., 2008).

Tendo-se, em mente, a hipótese de serem de fato formadas por quitosana, supõe-se que tais estruturas seriam fundamentais para a ocorrência de ligação entre o particulado, fenômeno de grande importância à aplicação do material como biomaterial, e que será exposto a seguir.

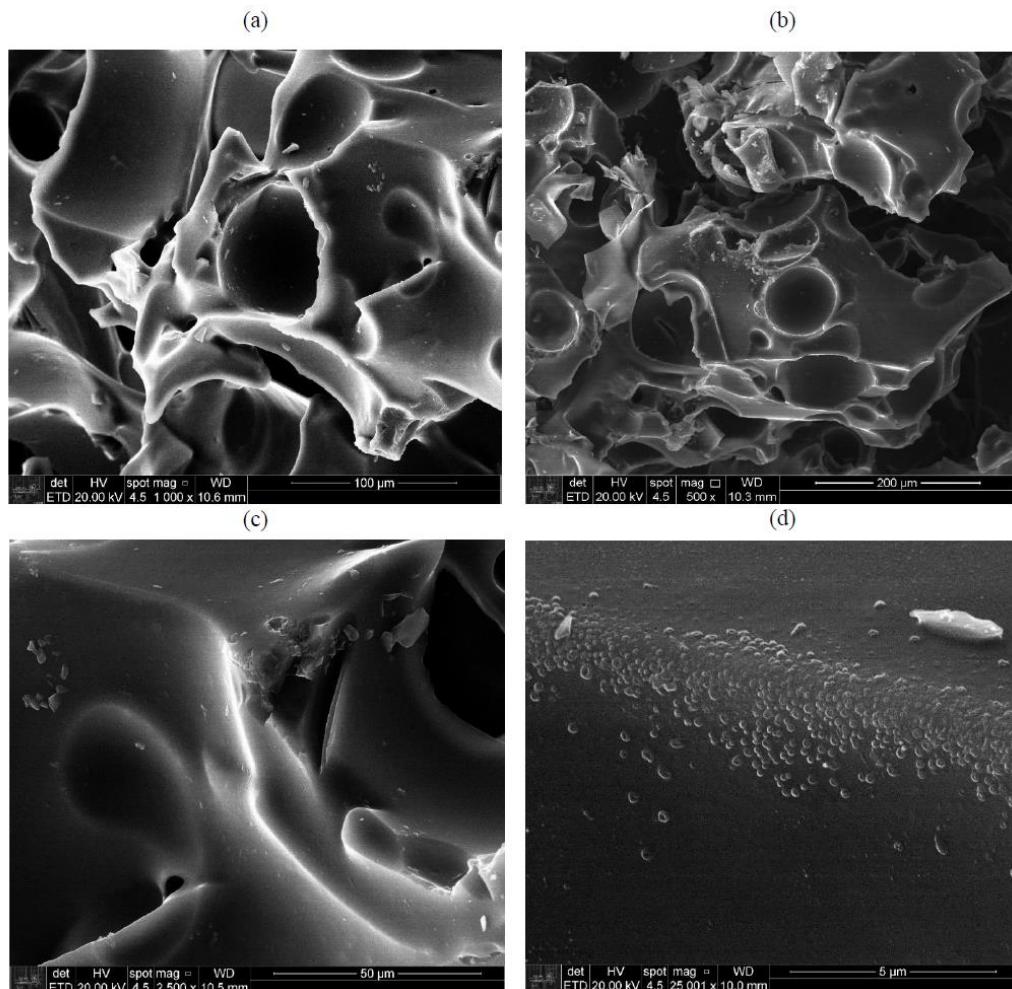


Figura 53 - Microscopias eletrônicas obtidas da Amostra AAQ3. Nota-se a grande presença do filme, especialmente em regiões geometricamente mais instáveis. Fonte: próprio autor.

Durante o processo de secagem da espuma carbonosa tratada com quitosana, foi percebida a ocorrência de um fenômeno ainda não verificado para as amostras sem tal tratamento: capacidade de moldagem a partir de certo período de tempo passado pelo biomaterial em estufa. Ao utilizar-se a luva nitrílica em vista de se extrair do papel filtro os grânulos tratados, estes se movimentavam muitas vezes em conjunto uns dos outros com facilidade, mantendo-se na forma final atingida. A Figura 56 apresenta um exemplo de uma das amostras tratadas a qual foi conformada na própria placa de petri, assumindo, ao final do processo, formato de bastonete, o qual foi mantido

mesmo após a secagem, o que supostamente ocorreria pela existência de estruturas como as verificadas nas Figuras 55. Tal comportamento, tendo origem, conforme suposto, na adição de solução de quitosana ao sistema, que permite a aplicação da espuma carbonosa em questão como um material moldável e adaptável as necessidades de cada paciente, sendo possível produzirem-se formas das mais diversas possíveis.

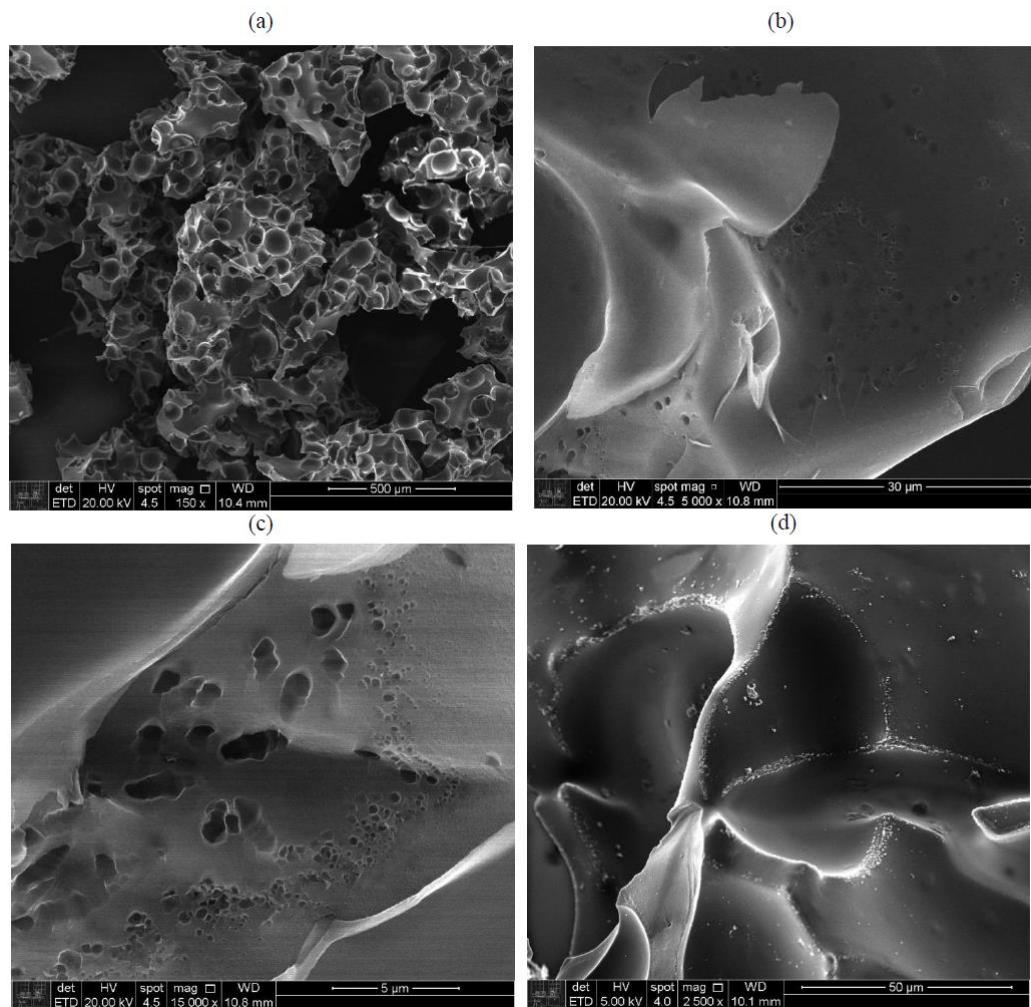


Figura 54 - Microscopias eletrônicas vinculadas à amostra AAQ4. É possível notar a presença clara de filmes ao longo da superfície dos grânulos, bem como clara porosidade, a qual pode ser devida ao ataque ácido. Fonte: próprio autor.

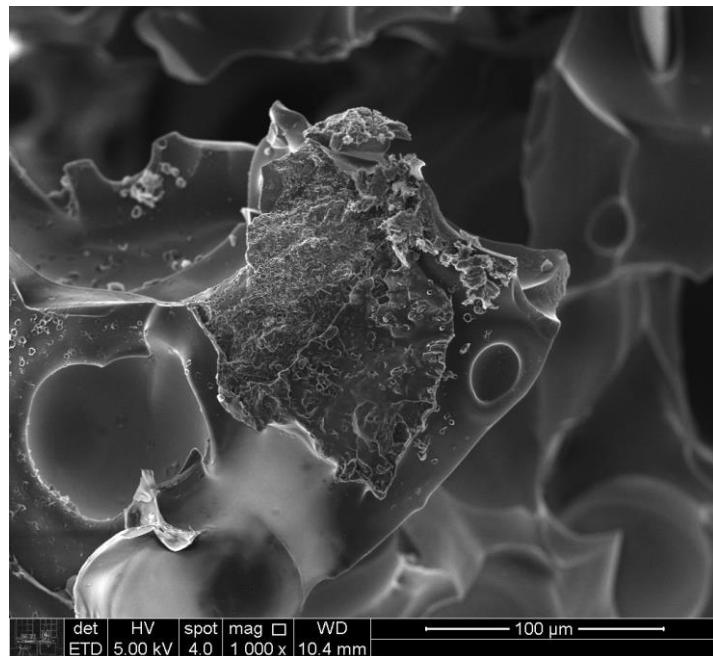


Figura 55 - Microscopia eletrônica apresentando a estrutura amorfa verificada em grande densidade na amostra AAQ4. Fonte: próprio autor.

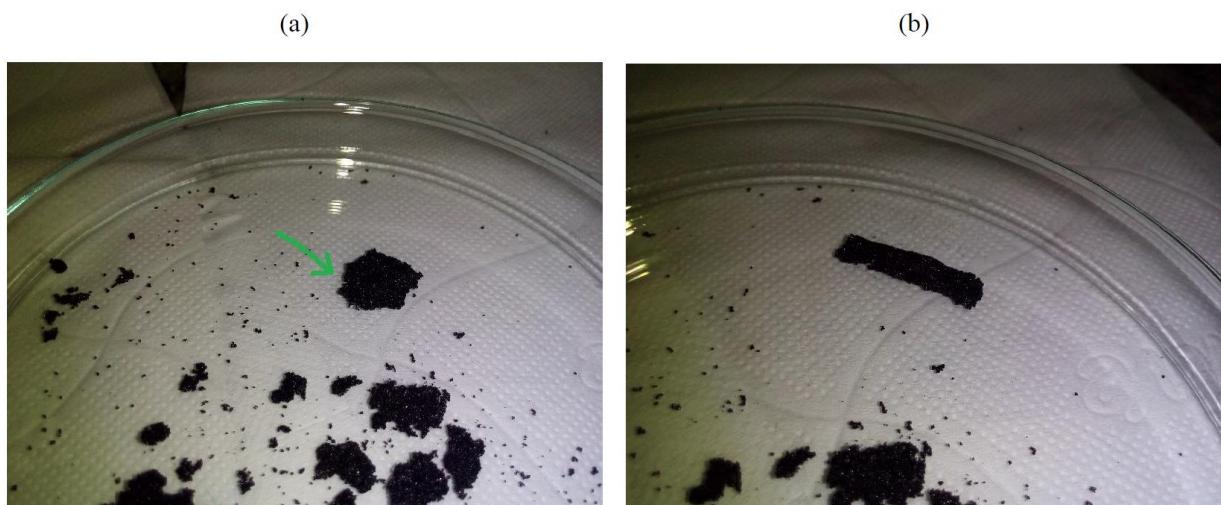


Figura 56 - Simples teste realizado com o biomaterial durante o processo de secagem após tratamento para fixação de quitosana. (a) - parcela sem conformação; (b) - parcela após conformação. Fonte: próprio autor.

O fato de a quitosana, sem qualquer outro componente, ser capaz de desenvolver tal aspecto é positivo ainda uma vez que não são utilizados para tanto quaisquer agentes de cura ou catalisadores de caráter possivelmente tóxicos aos usuários. Tais características garantem uma melhor aceitação de implantes ao organismo, além de maior processabilidade do biomaterial. Conforme novas metodologias de tratamento para aplicação de implantes têm sido desenvolvidas, é

cada vez mais comum a produção de tais elementos durante o momento da operação e aplicação. Tal fato exige, além de facilidade no manuseio e velocidade no preparo da peça, baixa toxicidade dos reagentes, bem como rápida eliminação de espécies instáveis as quais possam surgir. Caso aplicado de tal modo, o processo de produção do biomaterial em questão deverá ser modificado, visando-se maiores rendimentos, reproduzibilidade e desempenho. Além disso, a solução utilizada para adesão de quitosana na espuma carbonosa deveria passar por otimização, de modo a garantir boa conformabilidade e rápido tempo de evaporação do solvente, uma vez que tal mecanismo físico garante ganho de resistência mecânica pelo particulado. Deste modo, seriam essenciais, para tanto, estudos de cinética de evaporação do solvente em soluções de quitosana, sendo estes vinculados ao ganho de resistência obtido com a aplicação de tal polímero de origem natural.

A avaliação feita até este ponto, levando em conta apenas as avaliações por microscopia eletrônica e por EDS, sugerem um aumento da concentração de quitosana aderida ao biomaterial em questão. Contudo, tal suposição é parcialmente desfeita ao verificar-se os resultados obtidos por análise de DSC. Tais testes encontram-se resumidos na Figura 57, em que se observam calculados valores de energia relativos a um dos processos de decomposição exotérmica desenvolvidos pela quitosana, a partir de 274°C. Tal processo foi utilizado para a quantificação em massa da macromolécula aderida na superfície da espuma carbonosa em estudo, sendo inicialmente desenvolvido, com o auxílio do software Star^e SW 12.10, integração dos valores de potência mensurados no tempo de análise, obtendo-se, assim, a energia total do fenômeno de interesse. A avaliação da curva de quitosana pura foi desenvolvida com o uso de uma linha base do tipo Spline, sendo aferido, assim, um valor de 143,13 J/g de quitosana. Com tal dado em mãos, e, desenvolvendo-se o processo de integração no mesmo intervalo utilizado para a curva da substância pura, foi possível obter-se os valores de energia os quais estariam associados à massa de quitosana presentes nas amostras. A Tabela 11 apresenta, de modo resumido, as informações aferidas, além das estimativas obtidas.

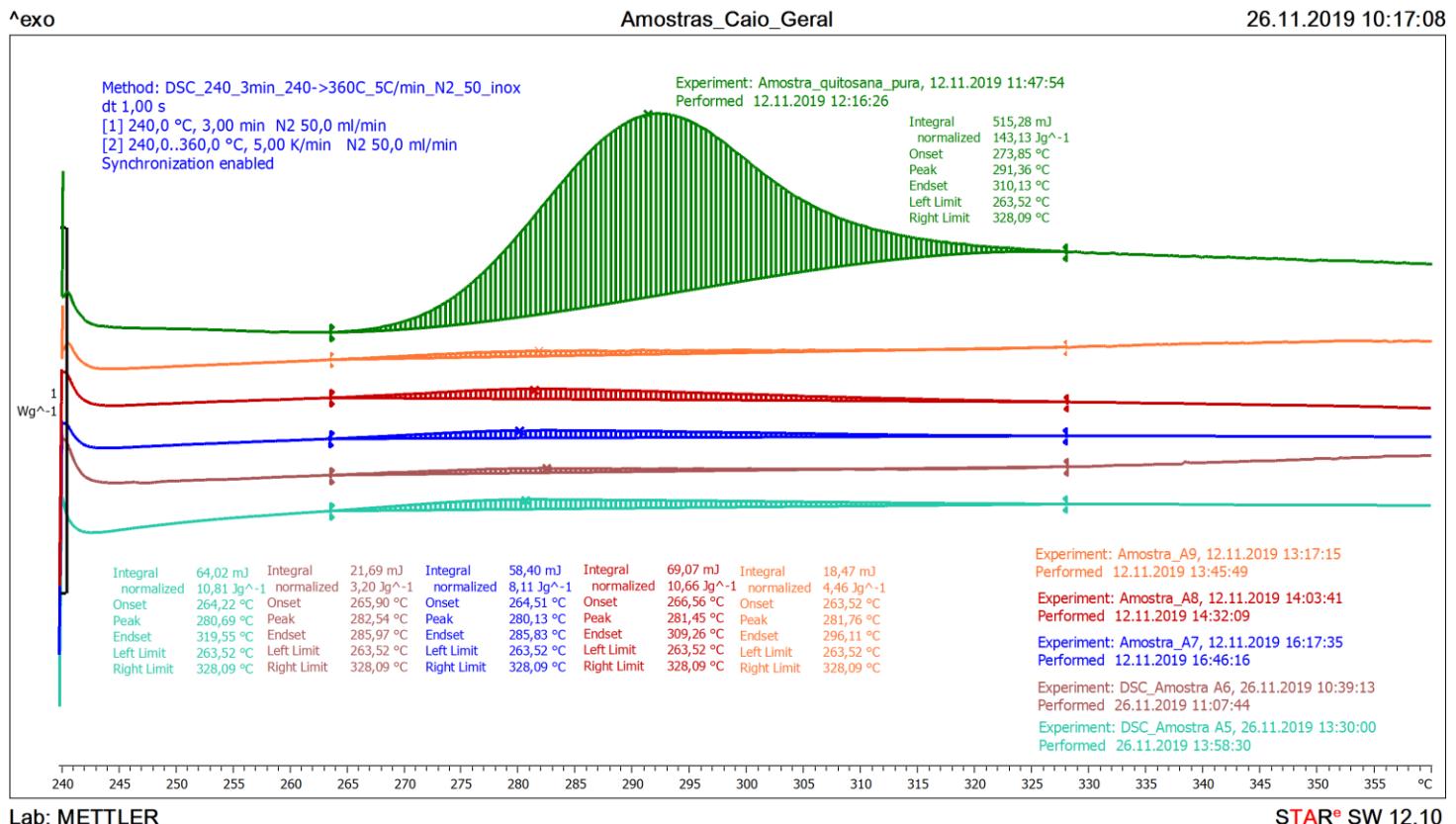


Figura 57 - Composição de curvas de DSC obtidas para quitosana pura e para amostras de AQ0 a AQ4. Para correta compreensão da imagem, o leitor deve associar as denominações A5, A6, A7, A8 e A9 a, respectivamente, AQ0, AAQ1, AAQ2, AAQ3 e AAQ4. Fonte: próprio autor.

Tabela 11 - avaliação das curvas de Análise Térmica - DSC

Amostra:	Energia associada (integral) (mJ):		Massa estimada (g de quitosana/g de biomaterial):
	Total (mJ):	Normalizada (J/g):	
Quitosana Pura	515,28	143,13	
AQ0	64,02	10,81	7,55E-02
AAQ1	21,69	3,2	2,24E-02
AAQ2	58,4	8,11	5,67E-02
AAQ3	69,07	10,66	7,45E-02
AAQ4	18,47	4,46	3,12E-02
	Média:		5,20E-02
	Desvio:		2,19E-02

A partir de tais resultados, não é possível, em princípio, obter-se quaisquer relações entre intensidade de tratamento de oxidação por ácido nítrico e quantidade de quitosana aderida na superfície do biomaterial. Verifica-se, assim, a ocorrência, em

média, de 0,052 g de quitosana por grama de biomaterial, quantidade a qual estaria associada, em princípio, a dois fenômenos vinculados à adesão da molécula orgânica à espuma: a adsorção física e a fixação por meio da secagem da solução na superfície do biomaterial. Tendo, em sua superfície, grupos oxigenados de caráter ácido e negativos, conforme aferido pela titulação de Boehm, o material carbonoso seria capaz de adsorver a partir de forças de atração físicas, moléculas de quitosana, de caráter básico e levemente positiva, de acordo com o observado na Revisão Bibliográfica. Apresentando intensidade significativamente mais baixa que interações de caráter físico, as ligações físicas presentes permitiriam rápida liberação, no meio, das moléculas de quitosana, o que permitiria rápida interação das moléculas desta com a matriz extracelular presente no ambiente e com células de defesa do organismo. Conforme citado anteriormente, parcela da quitosana contida foi fixada pela secagem da solução na superfície da espuma carbonosa, sendo responsável, provavelmente, pela maior fração da massa orgânica aderida.

Após o tratamento em solução de quitosana, conforme já exposto, os grânulos de biomaterial mostravam-se totalmente molhados pela fase fluida, sendo possível observar-se a olho nu a presença de filmes – ainda úmidos – de solução, os quais ocupavam um volume significativo, especialmente em aglomerados de partículas, como o apresentado na Figura 56. Assim, é razoável supor-se que, devido à grande massa de quitosana aderida por tal via, a fixada por mecanismos puramente físicos eletrostáticos foi mascarada, não sendo, assim, possível verificar-se quaisquer relações entre intensidade do tratamento oxidativo e capacidade de captura de tais moléculas orgânicas. É importante notar, no entanto, que a técnica de oxidação utilizada foi parcialmente comprometida pela extração pouco eficaz dos sais originários do processo de polpação, fator o qual pode ter sido preponderante, gerando-se, ao fim, capacidades de adsorção aleatórias. Novos estudos, com espumas limpas de modo mais eficaz, seriam, fundamentais para a suposição de explanações mais bem fundamentadas nos efeitos observados, o que consiste em etapas futuras do projeto.

5.3. Avaliação de desempenho como biomaterial

Tendo-se como objetivo principal o desenvolvimento de um biomaterial o qual pudesse ser aplicado como substrato de crescimento para células ósseas, a realização de testes biológicos os quais avaliassem o desempenho da espuma carbonosa desenvolvida em tal quesito foi fundamental para a caracterização desta. Conforme descrito na Revisão Bibliográfica, uma grande quantidade de fatores influencia no modo como as células de dado tecido interagem com um material exógeno, sendo a resposta destas a tal agente também diversificada. Assim, são extensos os estudos desenvolvidos para uma detalhada caracterização de tal interação, sendo necessários experimentos e metodologias diversificadas, as quais permitem avaliar tanto a influência de aspectos químicos e físicos no contato entre tecido e biomaterial.

Os testes de viabilidade aqui desenvolvidos tiveram como objetivo indicar, em termos gerais, o caráter da interação biológica entre as diferentes espumas carbonosas geradas e células osteoblasto de roedores. Assim, o teste pelo uso de MTT, é possível verificar-se o nível de atividade mitocondrial, referenciando, assim, à atividade metabólica desenvolvida pelos espécimes celulares (FRANCO et al., 2016). O teste de cristal violeta, por sua vez, está diretamente ligado à concentração de material nuclear, estando vinculado, assim, a mecanismos relacionados à reprodução celular. Utilizando ambas as metodologias, é possível, assim, verificar-se a toxicidade do biomaterial testado, bem como a capacidade deste de permitir e incentivar a recuperação do tecido em tratamento. No entanto, não é possível, por este, verificar-se diretamente as causas para as respostas verificadas. As Figuras 58 e 59 apresentam os resultados obtidos para a ensaios de MTT e cristal violeta, respectivamente.

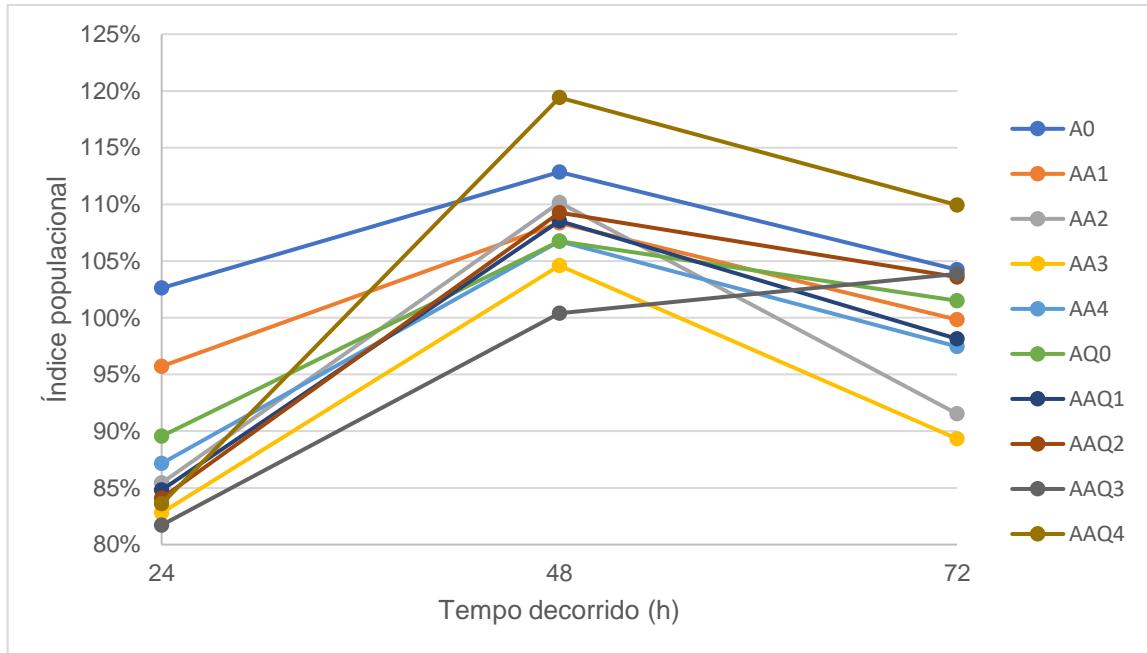


Figura 58 - Gráfico indicando a viabilidade celular testada por MTT apresentada pelas diferentes amostras desenvolvidas. Fonte: próprio autor.

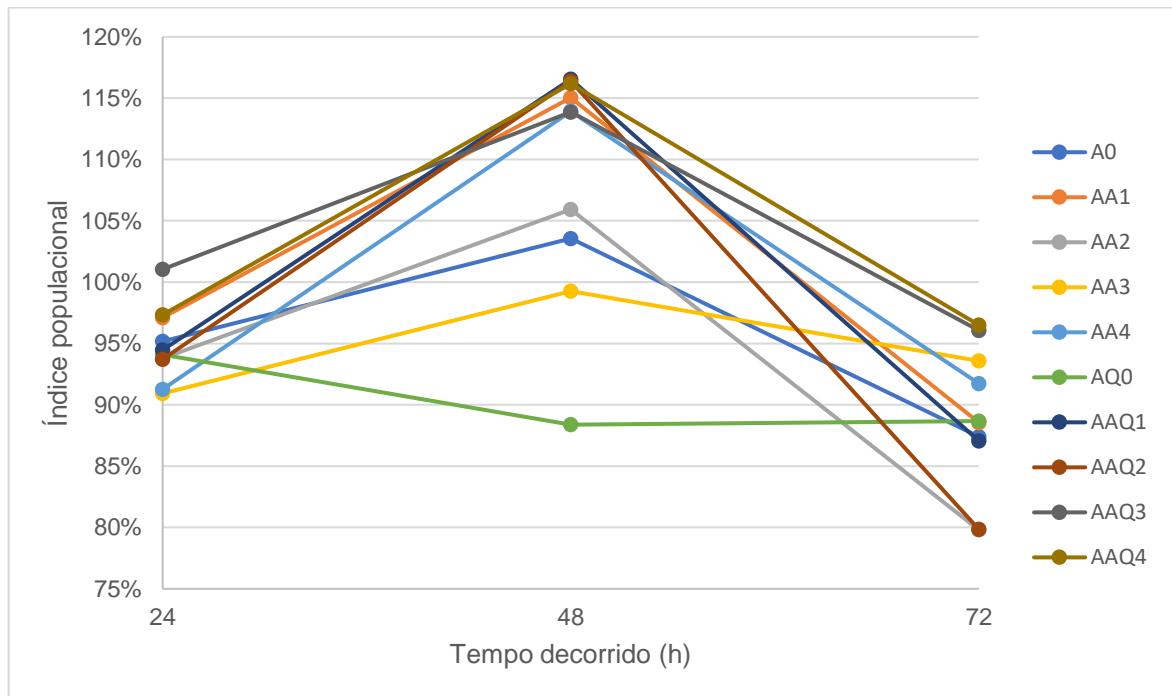


Figura 59 - Gráfico apresentando a viabilidade celular gerada pela metodologia por Cristal Violeta. Fonte: próprio autor.

Como é possível notar-se, ambas as metodologias aplicadas desenvolveram resultados muito semelhantes em termos de comportamento do sistema com o tempo.

É observado, de 24 a 48 horas de teste, um incremento populacional significativo de até 19 %, para a amostra AAQ4, cenário o qual é alterado para uma tendência decrescente para o próximo dia de testes, em que se observa uma redução de até 20 % da cultura padrão, o que foi observado para a amostra AA2. Não foi possível encontrar-se qualquer padrão o qual fosse característico de biomateriais com ou sem quitosana, ou mesmo estando este vinculado à intensidade do tratamento ácido desenvolvido. Tal efeito decorre especialmente da grande variabilidade dos dados obtidos, os quais implicam em valores de desvio padrão os quais não permitem validar qualquer comportamento verificado. É importante ter-se em mente, no entanto, que os índices verificados para o teste com MTT permaneceram acima de 70 % para todas as amostras desenvolvidas, o que, por parâmetros europeus, é característico de substâncias não tóxicas (CALASANS MD, 2010). Verifica-se, no entanto, uma queda mais acentuada de tais valores para o teste de cristal violeta, o que indica influência negativa relativamente maior para a capacidade de reprodução celular dos espécimes utilizados.

Apesar do caráter não descritivo da metodologia gerada, ou seja, da incapacidade de descobrir-se diretamente o modo como o biomaterial em questão interage com o tecido orgânico, certas suposições foram desenvolvidas no intuito de explanar os comportamentos verificados nos diferentes experimentos. Conforme já descrito, percebe-se um aumento significativo na densidade de células viáveis entre 24 e 48 horas, o que é reduzido, entre 48 e 72 horas, o que sugere que, com o tempo, determinado fator deletério torna-se significativamente influente a ponto de superar aquele que era predominante inicialmente, e que promovia um crescimento e reprodução celulares mais intensos. As hipóteses criadas para a explanação de tais efeitos levo em conta, assim, tanto o que está contido na Revisão Bibliográfica como o que foi verificado com os testes de caracterização química e física das espumas de carbono.

Como visto em tal seção, as macromoléculas de quitosana, tendo grande verossimilhança com componentes da matriz extracelular, consistem em um agente modificador de grande potencial. Uma vez que, como já descrito na Revisão Bibliográfica, os fenômenos de fixação, reprodução e entre outros estão intimamente ligados à relação de células com a matriz extracelular, tornar o biomaterial aplicado envolto por uma camada de dada substância a qual mimetize com grande eficácia tal

aglomerado orgânico consiste em uma tática favorável para melhora de seu desempenho, conforme foi observado em outros trabalhos com tal substância (AGUILAR et al., 2019; LAN LEVENGOOD; ZHANG, 2015). Sendo assim, o crescimento inicial observado nas curvas pode, com certa cautela, estar relacionado à presença em grandes concentrações das moléculas de quitosana à superfície em questão, bem como uma boa verossimilhança geométrica.

Conforme foi verificado na avaliação com microscopia eletrônica, tais grânulos apresentavam formato relativamente irregular, com grande quantidade de poros, no entorno de 40%. Tal estrutura, sendo semelhante à estrutura trabecular existente em ossos, possibilitou, possivelmente, uma maior adaptação das células ao substrato, visto a maior verossimilhança geométrica com o ambiente no qual normalmente osteoblastos se encontram. Além disso, a grande porosidade é responsável por um valor de área superficial maior, garantindo tanto maior facilidade para expansão do tecido – a competição entre as células por espaço ao crescimento e reprodução é menor – como maior capacidade de armazenamento de quitosana, a qual, como já discutido, traz grande verossimilhança química ao biomaterial em estudo.

Contudo, conforme também com o que já foi explanado, tal macromolécula, de caráter levemente básico, acaba por diluir-se no meio de cultura. Isso ocorre uma vez que a metodologia de fixação da camada de quitosana às espumas carbonosas apresentavam apenas um mecanismo físico, de baixa energia associada. Assim, especialmente em ambientes levemente ácidos, os quais favorecem a dissolução da macromolécula (CHEN; LIN; LIN, 1994), o efeito benéfico desta tende a possuir um curto período de duração. Sendo assim, seria de grande valia procurar desenvolver-se, em momentos futuros, metodologias as quais permitam uma fixação química das moléculas de quitosana. Deste modo, o efeito benéfico gerado por tais moléculas seria prolongado, tendo-se sua redução de acordo com a cinética de decomposição de al molécula no meio orgânico em que é testada, a qual varia de acordo com condições químicas e físicas deste.

Aliado a isso, foi verificado por microscopia eletrônica e EDS a presença em concentrações significativas de sais básicos, originários do processo de polpação kraft. A ineficácia no processo de lavagem pode, assim, ter grande impacto nos testes biológicos, uma vez que permite a existência de substâncias potencialmente tóxicas no meio de cultura. Assim, conforme as camadas de quitosana eram, aos poucos,

solubilizadas no meio, cristas de sais os quais estivesse inacessíveis pela presença do filme polimérico tornam-se aptos a se solubilizarem no meio de cultura, de modo a alterar significativamente condutividade da solução, pH, e entre outros, em regiões microscópicas. Tais mudanças seriam suficientes para o desenvolvimento de alterações significativas no metabolismo celular, o que se daria por modificações na morfologia da matriz extracelular inicialmente desenvolvida (THEOCHARIS et al., 2016), reduzindo significativamente a capacidade do biomaterial criado de ser aplicado como substrato de crescimento ósseo. Desse modo, seria possível explanar a queda de viabilidade a qual foi atestada em ambos experimentos.

É importante mencionar, no entanto, que tais explicações, baseando-se em testes físicos e químicos de precisão baixa, consistem em hipóteses, e não devem ser tidas como verdades absolutas. A aferição elementar por EDS, ou mesmo a análise por titulação de Boehm, do modo como foi executada, não são capazes de prover dados quantitativos de grande credibilidade, tornando a compreensão da interação entre grau de oxidação ou presença de quitosana com o desempenho das espumas carbonosas. Baseando-se na intensidade de picos de radiação desenvolvida pela excitação de elétrons presentes em camadas eletrônicas mais internas, a caracterização elementar quantitativa por EDS não pode ser utilizada com grande confiança, visto a existência de uma grande quantidade de fenômenos secundários os quais influenciam a precisão da análise. A titulação de Boehm, conforme já explanado, consiste em uma metodologia química a qual exige grande rigor aplicado à limpeza de equipamentos e vidrarias, bem como à pureza dos reagentes utilizados. Visto a realização do processamento em um ambiente utilizado para pesquisas em outras áreas do conhecimento, a probabilidade de ocorrência de interferência por contaminantes ou variação de condições ambientais do meio é alta, o que influencia na qualidade final dos dados gerados a partir desta.

Seria, assim, fundamental o uso de técnicas quantitativas mais precisas em vista de uma melhor caracterização da química de superfície, como a espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X, XPS, ou mesmo análises térmicas vinculadas a espectroscopia, ou espectroscopia por dessorção térmica, TPD. Aliado a isso, o uso de reagentes padronizados, de metodologias de degasagem eficientes e o uso de agitadores orbitais de baixa rotação são fundamentais para melhora na precisão obtida com a titulação de Boehm. A primeira medida, respectivamente estaria

associada à melhor precisão relacionada à concentração das soluções básicas utilizadas, as quais são geralmente alteradas pelo caráter hidrofílico dos reagentes aplicados. A degasagem de soluções seria fundamental, por sua vez, em vista de eliminar-se o efeito da dissolução de CO₂, gás que desenvolve, como já explanado na Revisão Bibliográfica, uma maior acidez no meio, podendo ser eliminado pelo borbulhamento, na solução, de gás N₂. O uso de agitadores orbitais, por sua vez, permitiria homogeneização da solução sem o uso de bastões magnéticos ou hélices, o que garante eliminação de riscos de contaminação pela presença dos elementos agitadores e de cominuição dos grânulos por estes componentes. A aplicação de tais melhorias técnicas seria fundamental em vista de uma melhor caracterização químico-física do biomaterial em questão. Deste modo, resultados de experimentações biológicas poderiam ser mais bem compreendidas, sendo possível, assim, estabelecer-se relações entre tipo e intensidade de tratamento realizado e resposta biológica.

É fundamental ter-se em mente, ainda, que sistemas biológicos, independentemente de seu tamanho e tipo, apresentam grande complexidade, sendo comum o desenvolvimento de comportamentos de ordem caótica. Sendo assim, uma grande quantidade de experimentações, as quais sejam capazes de descrever de modo mais preciso como o biomaterial estudado interage com o tecido em que é implantado, são necessárias. Tal necessidade é engrandecida ainda pelo fato de pequena quantidades de biomaterial serem utilizadas por teste realizado, de modo a tornar a aleatoriedade na escolha do volume de amostra um efeito essencial, evitando-se obtenção de resultados enviesados, os quais possam mascarar o real caráter do biomaterial desenvolvido. Deste modo, escorado por uma base estatística sólida, o estudo realizado poderia tornar mais clara a compreensão das causas do desempenho verificado ao biomaterial em estudo.

6. Conclusões

Ao desenvolver-se o estudo em questão, tanto experiências anteriores como conhecimentos adquiridos ao longo de sua realização foram essenciais para sua realização. Conforme foi descrito na seção Objetivos, buscou-se, utilizando licor negro de indústria papeleira, produzir-se, com baixo custo, uma espuma carbonosa a qual pudesse ser aplicada como biomaterial de alto desempenho, devendo atuar como substrato de crescimento de tecido ósseo. A metodologia aplicada foi capaz de gerar uma estrutura porosa com características relativamente estáveis em termos geométricos, visto a utilização da técnica de moldagem da porosidade a partir do uso de grânulos de PMMA. É significativo, ainda, o desenvolvimento de tal material a partir de um resíduo de alta toxicidade sem a necessidade de realização prévia de tratamentos de extração ou purificação da lignina, substância a qual é responsável pela formação de cadeias tridimensionais no sistema resol desenvolvido.

A posterior realização de tratamentos químicos de acidificação da superfície carbonosa por meio da oxidação do biomaterial com ácido nítrico, por sua vez, não se mostrou significativamente eficaz. A lavagem realizada, executada de forma insuficiente, foi, provavelmente a causa de tal resultado, sendo tal efeito ampliado pelas baixas concentrações de ácido nítrico utilizadas nas soluções de tratamento, sendo a causa da presença de cristais de sais provindos do processo kraft, bem como dos resultados obtidos na titulação de Boehm. A fixação de quitosana, por sua vez, foi gerida, principalmente, pela metodologia de secagem do biomaterial tratado, a qual consistiu, provavelmente, na relativa constância de tal valor. Além disso, é notável o comportamento observado no biomaterial quando em conjunto da solução de quitosana: sua maleabilidade, aliado a uma rápida secagem, dão luz a próximos passos vinculados à pesquisa desenvolvida, possibilitando a produção de substratos de formatos diversos e adaptáveis a cada caso.

Os resultados obtidos nos testes biológicos, por sua vez, demonstram certo potencial de aplicação do material em estudo como biomaterial. O comportamento observado, no entanto, não pode ser tomado como fixo para tal espuma, uma vez que a presença dos sais alcalinos pode ter sido a razão para os efeitos observados após 72 horas de desenvolvimento dos testes, uma vez que são pouco coerentes com o encontrado na literatura. Estudos mais profundos são, no entanto, fundamentais para

a avaliação da viabilidade de produção em larga escala de tal composto, sendo necessária a realização de avaliações químicas mais precisas, além de um maior número de ensaios biológicos. Apenas assim, seria possível estabelecer-se explicações e relações entre intensidade e tipos de tratamento realizados com a resposta verificada nos sistemas orgânicos de interesse, ou seja, os tecidos ósseos em geral.

REFERÊNCIAS

- ADEWUMI, G. A. et al. A facile low-cost synthesis of carbon nanosphere from coconut fibre. **Lecture Notes in Engineering and Computer Science**, v. 2, p. 577–582, 2017.
- ADEWUMI, G. A. et al. Synthesis of Carbon Nanotubes and Nanospheres from Coconut Fibre and the Role of Synthesis Temperature on Their Growth. **Journal of Electronic Materials**, v. 47, n. 7, p. 3788–3794, 2018.
- AGARWAL, R.; GARCÍA, A. J. Surface Modification of Biomaterials. **Principles of Regenerative Medicine**, p. 651–660, 2019.
- AGUILAR, A. et al. Dental Engineering. p. 1–17, 2019.
- ANSELME, K.; PLOUX, L.; PONCHE, A. Cell/material interfaces: Influence of surface chemistry and surface topography on cell adhesion. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 24, n. 5, p. 831–852, 2010.
- AZADI, P. et al. Liquid fuels, hydrogen and chemicals from lignin: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 506–523, 2013.
- BAJPAI, P. **Pulping Fundamentals**. [s.l: s.n.].
- BAJPAI, P. Kraft Spent Liquor Recovery. **Biermann's Handbook of Pulp and Paper**, p. 425–451, 2018b.
- BAZAKA, O.; BAZAKA, K. **Surface modification of biomaterials for biofilm control**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2015.
- BOEHM, H. P. Chemical Identification of Surface Groups. **Advances in Catalysis**, v. 16, n. C, p. 179–274, 1966.
- BOEHM, H. P. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. **Carbon**, v. 32, n. 5, p. 759–769, 1994.
- Boehm Titration Revisited (Part I): Practical Aspects for Achieving a High Precision in Quantifying Oxygen-Containing Surface Groups on Carbon Materials. **C**, v. 4, n. 2, p. 21, 2018.
- CALASANS MD, G. J. Avaliação multiparamétrica da citotoxicidade in vitro de um fio ortodôntico à base de resina polimérica reforçada com fio bra de vidro. p. 35–40, 2010.

CARDOSO, M.; DE OLIVEIRA, É. D.; PASSOS, M. L. Chemical composition and physical properties of black liquors and their effects on liquor recovery operation in Brazilian pulp mills. **Fuel**, v. 88, n. 4, p. 756–763, 2009.

CHEN, R. H.; LIN, W. C.; LIN, J. H. Effects of pH, ionic strength, and type of anion on the rheological properties of chitosan solutions. **Acta Polymerica**, v. 45, n. 1, p. 41–46, 1994.

CHIONO, V. et al. **Polysaccharides in tissue engineering applications**. [s.l: s.n.]. v. 4

Comparison of world population projections. Disponível em: <https://ourworldindata.org/grapher/comparison-of-world-population-projections?time=1750..2100&country=OWID_WRL>. Acesso em: 13 dez. 2019.

CRESTINI, C. et al. On the structure of softwood kraft lignin. **Green Chemistry**, v. 19, n. 17, p. 4104–4121, 2017.

DASTGHEIB, S. A.; KARANFIL, T. Adsorption of oxygen by heat-treated granular and fibrous activated carbons. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 274, n. 1, p. 1–8, 2004.

Facts and Statistics | International Osteoporosis Foundation. Disponível em: <<https://www.iofbonehealth.org/facts-statistics#category-16>>. Acesso em: 13 dez. 2019.

FAO. Pulp and Paper Capacities Capacités De La Pâte Et Du Papier Capacidades De Pasta Y Papel-Survey Enquête Estudio 2013-2018. [s.l: s.n.].

FRANCO, A. T. B. et al. Effect of photobiomodulation on endothelial cell exposed to Bothrops jararaca venom. **Lasers in Medical Science**, v. 31, n. 5, p. 1017–1025, 2016.

GARDZIELLA, A.; PILATO, L. A.; KNOP, A. **Phenolic Resins: Chemistry, Applications, Standardization, Safety and Ecology (Google eBook)**. [s.l: s.n.].

GHIASI, M. S. et al. Bone fracture healing in mechanobiological modeling: A review of principles and methods. **Bone Reports**, v. 6, p. 87–100, 2017.

Global plastics production. Disponível em:

<<https://ourworldindata.org/grapher/global-plastics-production>>. Acesso em: 13 dez. 2019.

GOERTZEN, S. L. et al. Standardization of the Boehm titration. Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination. **Carbon**, v. 48, n. 4, p. 1252–1261, 2010.

GORGULHO, H. F. et al. Characterization of the surface chemistry of carbon materials by potentiometric titrations and temperature-programmed desorption. **Carbon**, v. 46, n. 12, p. 1544–1555, 2008.

Human Development Index, 2017. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/grapher/human-development-index>>. Acesso em: 14 dez. 2019.

IBEH, C. C. Phenol-Formaldehyde Resins. n. 1, 1939.

INAGAKI, M. Carbon foam : Preparation and application. **Carbon**, v. 87, p. 128–152, 2015.

KALIJADIS, A. M. et al. Characterisation of surface oxygen groups on different carbon materials by the Boehm method and temperature-programmed desorption. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 76, n. 5, p. 757–768, 2011.

KIM, I. Y. et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 1, p. 1–21, 2008.

KINSELLA, S. et al. The State of the Global Paper Industry. **Environmental Paper Network**, p. 1–90, 2018.

KUMAR, M. N. S. et al. Lignin and its applications with polymers. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 3, n. 1, p. 1–24, 2009.

L19-Stereology-21Apr14. , [s.d.]

LAN LEVENGOOD, S.; ZHANG, M. Chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering. **J Mater Chem B Mater Biol Med.**, v. 2, n. 21, p. 3161–3184, 2015.

LEE, J.; KIM, J.; HYEON, T. Recent progress in the synthesis of porous carbon materials. **Advanced Materials**, v. 18, n. 16, p. 2073–2094, 2006.

LI, H. et al. Chitosan composite scaffolds for articular cartilage defect repair: A review. **RSC Advances**, v. 8, n. 7, p. 3736–3749, 2018.

LI, J. et al. Effect of nitric acid pretreatment on the properties of activated carbon and supported palladium catalysts. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 44, n. 15, p. 5478–5482, 2005.

LI, T. et al. Mechanism of base-catalyzed resorcinol-formaldehyde and phenol-resorcinol-formaldehyde condensation reactions: A theoretical study. **Polymers**, v. 9, n. 9, 2017.

Life expectancy. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/grapher/life-expectancy>>. Acesso em: 14 dez. 2019.

LIU, Y.; ZHENG, H.; LIU, M. High performance strain sensors based on chitosan/carbon black composite sponges. **Materials and Design**, v. 141, p. 276–285, 2018.

MARSELL, R.; EINHORN, T. A. The biologi. **Injury**, v. 42, n. 6, p. 551–555, 2012.

MARSH, H.; RODRÍGUEZ-REINOSO, F. **Activated Carbon**. [s.l: s.n.].

MENÉNDEZ, J. A. et al. On the difference between the isoelectric point and the point of zero charge of carbons. **Carbon**, v. 33, n. 11, p. 1655–1657, 1995.

MENÉNDEZ, J. A. et al. On the modification and characterization of chemical surface properties of activated carbon: In the search of carbons with stable basic properties. **Langmuir**, v. 12, n. 18, p. 4404–4410, 1996a.

MENÉNDEZ, J. A. et al. Low-temperature generation of basic carbon surfaces by hydrogen spillover. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 43, p. 17243–17248, 1996b.

MORIARTY, T. F. et al. Bacterial adhesion and biomaterial surfaces. **Comprehensive Biomaterials**, v. 4, p. 75–100, 2011.

NAGEL, B.; PUSZ, S.; TRZEBICKA, B. Review: Tailoring the properties of macroporous carbon foams. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 1, p. 1–17, 2014.

NORGREN, M.; EDLUND, H. Lignin: Recent advances and emerging applications. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 409–416, 2014.

OICKLE, A. M. et al. Standardization of the Boehm titration: Part II. Method of agitation, effect of filtering and dilute titrant. **Carbon**, v. 48, n. 12, p. 3313–3322, 2010.

PALLELA, R. et al. Biophysicochemical evaluation of chitosan-hydroxyapatite-marine sponge collagen composite for bone tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 100 A, n. 2, p. 486–495, 2012.

Plastic waste generation by industrial sector, 2015. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/grapher/plastic-waste-by-sector>>. Acesso em: 13 dez. 2019.

PRZEKORA, A. Current trends in fabrication of biomaterials for bone and cartilage regeneration: Materials modifications and biophysical stimulations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 2, 2019.

RADOVIC, L. R. et al. An experimental and theoretical study of the adsorption of aromatics possessing electron-withdrawing and electron-donating functional groups by chemically modified activated carbons. **Carbon**, v. 35, n. 9, p. 1339–1348, 1997.

RANA, D. et al. **Surface Functionalization of Biomaterials**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.

SCHÖNHERR, J. et al. Boehm Titration Revisited (Part II): A Comparison of Boehm Titration with Other Analytical Techniques on the Quantification of Oxygen-Containing Surface Groups for a Variety of Carbon Materials. **C**, v. 4, n. 2, p. 22, 2018.

SHEN, W.; LI, Z.; LIU, Y. Surface Chemical Functional Groups Modification of Porous Carbon. **Recent Patents on Chemical Engineeringe**, v. 1, n. 1, p. 27–40, 2012.

SHORROCKS, A.; DAVIES, J.; LLUBERAS, R. Global Wealth Report 2018. **Credit Suisse Reserach Institute**, n. October, p. 232, 2018.

SIDDQUI, H.; CHARLES XU, S.; SUPERVISOR AJAY RAY, J. Production of Lignin-Based Phenolic Resins Using De-Polymerized Kraft Lignin and Process Optimization Recommended Citation Siddiqui, Homaira, “Production of Lignin-Based Phenolic Resins Using De-Polymerized Kraft Lignin and Process Optimization” (2013). E. n. December, 2013.

STOJANOVSKA, E. et al. **Carbon-based foams: Preparation and applications**. [s.l.] Elsevier Ltd., 2019.

TEIXEIRA, A. I. et al. Epithelial contact guidance on well-defined micro- and nanostructured substrates. **Journal of Cell Science**, v. 116, n. 10, p. 1881–1892, 15 maio 2003.

The extracellular matrix and cell wall (article) | Khan Academy. Disponível em: <<https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/cell-structure-and-function/membrane-permeability/a/the-extracellular-matrix-and-cell-wall>>. Acesso em: 14 dez. 2019.

THEOCHARIS, A. D. et al. Extracellular matrix structure. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 97, p. 4–27, 2016.

TRAN, H.; VAKKILAINEN, E. K. The Kraft Chemical Recovery Process. **TAPPI Kraft Recovery Course**, p. 1–8, 2012.

TSVETKOV, M. V.; SALGANSKII, E. A. Lignin: Applications and Ways of Utilization (Review). **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 91, n. 7, p. 1129–1136, 2018.

VINKE, P. et al. Modification of the surfaces of a gasactivated carbon and a chemically activated carbon with nitric acid, hypochlorite, and ammonia. **Carbon**, v. 32, n. 4, p. 675–686, 1994.

WANG, Q.; HUANG, Y.; QIAN, Z. Nanostructured surface modification to bone implants for bone regeneration. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 14, n. 4, p. 628–648, 2018.

WIBOWO, N. et al. Adsorption of benzene and toluene from aqueous solutions onto activated carbon and its acid and heat treated forms: Influence of surface chemistry on adsorption. **Journal of Hazardous Materials**, v. 146, n. 1–2, p. 237–242, 2007.

WU, S. et al. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering. **Materials Science and Engineering R: Reports**, v. 80, n. 1, p. 1–36, 2014.

ZDRAVKOV, B. D. et al. Pore classification in the characterization of porous materials: A perspective. **Central European Journal of Chemistry**, v. 5, n. 2, p. 385–395, 2007.

ZHANG, P.; QIAO, Z. A.; DAI, S. Recent advances in carbon nanospheres: Synthetic routes and applications. **Chemical Communications**, v. 51, n. 45, p. 9246–9256, 2015.