

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS
E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS E TECNOLOGIAS

UTILIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE DE BIOMASSAS
RESIDUAIS DAS INDÚSTRIAS DO PAPEL E FUMAGEIRA COMO
ADJUVANTE NA PREPARAÇÃO DE GRANULADOS CONTENDO
TEOFILINA

Keth Ribeiro Garcia

Caxias do Sul, 2017

Keth Ribeiro Garcia

**UTILIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE DE BIOMASSAS
RESIDUAIS DAS INDÚSTRIAS DO PAPEL E FUMAGEIRA COMO
ADJUVANTE NA PREPARAÇÃO DE GRANULADOS CONTENDO
TEOFILINA**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de mestre em Engenharia de Processos, orientada por Dra. Rosmary Nichele Brandalise e coorientada por Dra. Venina dos Santos.

Caxias do Sul, 2017

Keth Ribeiro Garcia

**UTILIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE DE BIOMASSAS
RESIDUAIS DAS INDÚSTRIAS DO PAPEL E FUMAGEIRA COMO
ADJUVANTE NA PREPARAÇÃO DE GRANULADOS CONTENDO
TEOFILINA**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de mestre em Engenharia de Processos, orientada por Dra. Rosmary Nichele Brandalise e coorientada por Dra. Venina dos Santos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31 DE MARÇO DE DOIS MIL E DEZESSETE.

Orientadora: _____
Dra. Rosmary Nichele Brandalise

Co-orientadora: _____
Dra. Venina dos Santos

Banca Examinadora:

Dra. Letícia Scherer Koester

Dr. Matheus Poletto

Dra. Mirian Salvador

*« (...) on ne voit bien qu'avec le cœur.
L'essentiel est invisible pour les yeux.*

*(...) C'est le temps que tu a perdu pour ta rose qui fait ta rose si
importante».*

Le Petit Prince

Antoine de Saint-Exupéry

« (...) só se vê bem com o coração.

O essencial é invisível aos olhos.

*(...) Foi o tempo que perdeste com tua rosa que fez tua rosa tão
importante».*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente devo agradecer à Deus pela inspiração, coragem, paciência e iluminação para que eu pudesse encarar os desafios diários da pesquisa.

À minha família por estar sempre presente apoiando-me, amparando-me e torcendo pelo meu sucesso.

Às minhas professoras orientadoras Dra. Rosmary Nichele Brandalise, Dra. Venina dos Santos e Dra. Valeria Weiss Angeli, por auxiliarem-me a percorrer a sinuosa estrada do mestrado com maestria e paciência. Por suportarem as longas horas de orientação e leitura dos trabalhos. Por questionarem e me fazerem buscar a resposta, sempre. Meu muito obrigada.

À minha querida bolsista de iniciação científica Angela Maria Rotta, por me auxiliar nas atividades do laboratório.

Ao professor Dr. Thiago Barcellos da Silva pelas análises de RMN.

À professora Dra. Ana Paula Delamare pela realização da liofilização das amostras.

À UFRGS, nas pessoas da Dra. Letícia Koester, MSc. Sara Bianchi e doutoranda Mariana Colombo pelo apoio e realização dos ensaios de secagem por *spray-drying* e resistência à compressão.

Ao LACER-UFRGS pela realização do ensaio de determinação granulométrica à *laser*.

Ao Dr. Diogo Miron pelo auxílio em algumas análises estatísticas.

À empresa Abbott do Brasil pela gentileza da doação da teofilina, essencial para o desenvolvimento do trabalho.

À farmacêutica Maiara Rigotto pelo auxílio.

Aos colegas de mestrado pelos momentos de descontração e parceria nos estudos.

À Simone Pereira, técnica do laboratório de farmacotécnica pelos momentos de descontração e por não se importar que eu praticamente acampasse no laboratório.

Ao PGEPROTEC pelo apoio.

À CAPES pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo Geral	26
2.2 Objetivos Específicos	26
3 REFERENCIAL TEÓRICO	27
3.1 RESÍDUO DAS INDÚSTRIAS DO PAPEL E FUMAGEIRA	27
3.1.1 Nicotina	28
3.2 CELULOSE	29
3.3 NANOCELULOSE / NANOFIBRAS DE CELULOSE	32
3.4 REDUÇÃO DE TAMANHO DAS FIBRAS DE CELULOSE POR MOAGEM.....	33
3.5 SECAGEM DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE	35
3.5.1 Secagem por liofilização	36
3.5.2 Secagem por aspersão (<i>spray drying</i>)	38
3.6 EXCIPIENTES DE FORMAS FARMACÊUTICAS.....	41
3.7 GRANULAÇÃO	42
3.7.1 Granulação úmida	43
3.7.1.1 Aglutinantes.....	46
3.7.2 Granulação seca	47
3.8 TEOFILINA.....	50
4 MATERIAIS E MÉTODOS	52
4.1 MATERIAIS	53
4.2 MÉTODOS	54
4.2.1 Ensaio com as biomassas – Etapa 1	54
4.2.1.1 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por cromatografia em camada delgada	55
4.2.1.2 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por ressonância magnética nuclear de próton	56
4.2.1.3 Determinação do índice de espuma e pré-tratamento da biomassa de caule de tabaco.....	57
4.2.1.4 Fibrilação mecânica para obtenção de nanofibras de celulose	58
4.2.1.5 Determinação da perda por dessecação	60
4.2.1.6 Secagem das suspensões de celulose.....	60
4.2.1.7 Análise morfológica das nanofibras de celulose	61
4.2.1.8 Determinação dos constituintes lignocelulósicos	61

4.2.1.9 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> das nanofibras de celulose	62
4.2.1.10 Difração de raios X das nanofibras de celulose.....	63
4.2.1.11 Análises térmicas das nanofibras de celulose.....	63
4.3 UTILIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DAS BIOMASSAS PARA A PREPARAÇÃO DE GRANULADOS – ETAPA 2	64
4.3.1 Desenvolvimento dos granulados.....	64
4.3.2 Distribuição granulométrica por difração à <i>laser</i>	68
4.3.3 Análise morfológica dos granulados.....	68
4.3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo.....	68
4.3.3.2 Microscopia óptica	68
4.3.4 Porosidade e área superficial	69
4.3.5 Determinação da umidade e das propriedades de fluxo dos granulados	69
4.3.6 Friabilidade granular.....	71
4.3.7 Ensaio de resistência à compressão de múltiplos grânulos	72
4.3.8 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> dos granulados.....	73
4.3.9 Doseamento da teofilina nos granulados.....	74
4.3.10 Preparo das cápsulas contendo granulados de teofilina	75
4.3.11 Determinação do peso médio.....	75
4.3.12 Ensaio de dissolução dos granulados.....	76
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS – ETAPA 1	78
5.1.1 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por cromatografia em camada delgada.....	78
5.1.2 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por ressonância magnética nuclear de próton.....	79
5.1.3 Determinação do índice de espuma e pré-tratamento da biomassa de caule de tabaco.....	83
5.1.4 Fibrilação mecânica para obtenção de nanofibras de celulose	84
5.1.5 Secagem das amostras para análise morfológica após fibrilação mecânica	86
5.1.6 Determinação dos constituintes lignocelulósicos	89
5.1.7 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de <i>Fourier</i>	91
5.1.8 Difração de raios X.....	94
5.1.9 Análises térmicas	98
5.2 CONSIDERAÇÕES DA ETAPA 1	103
5.3 UTILIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DAS BIOMASSAS DE APARAS DE PAPEL E CAULE DE TABACO PARA O PREPARO DE GRANULADOS	105
5.3.1 Preparação dos grânulos	105

5.3.2 Distribuição granulométrica por difração à <i>laser</i>	110
5.3.3 Análise morfológica dos granulados	112
5.3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura de emissão por campo.....	112
5.3.3.2 Microscopia óptica	116
5.3.4 Porosidade e área superficial	117
5.3.5 Determinação da umidade e das propriedades de fluxo dos granulados	119
5.3.6 Friabilidade granular	124
5.3.7 Resistência à compressão de múltiplos grânulos	127
5.3.8 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> dos granulados	132
5.3.9 Doseamento da teofilina nos granulados	137
5.3.10 Ensaio de dissolução dos granulados	138
5.4 CONSIDERAÇÕES DA ETAPA 2.....	141
6 CONCLUSÃO	143
REFERÊNCIAS	144
ANEXOS	164

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Codificação e composição das amostras utilizadas para alimentação do moinho micronizador.....	59
Tabela 2. Classificação dos tipos de fluxo para pós e grânulos (USP 31, 2008; GARCIA, PEREIRA, DIAS, 2012).....	71
Tabela 3. Deslocamentos químicos (ppm) referente ao padrão de nicotina 99,1 %.....	80
Tabela 4. Deslocamentos químicos (ppm) obtidos nos espectros de RMN de ¹ H das amostras de caule de tabaco com extrativos (CTE) e sem extrativos (CTSE).	83
Tabela 5. Média das concentrações de perda por dessecação das amostras em suspensão e em gel das celulosas de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT).....	85
Tabela 6. Diâmetro médio das nanofibras de celulose (NFC) obtidas por liofilização.....	88
Tabela 7. Caracterização química das aparas de papel e caule de tabaco com e sem extrativos.	90
Tabela 8. Índice de cristalinidade (CrI) das amostras de celulose de aparas de papel (CAP) e caule de tabaco (NFCT) nas duas concentrações avaliadas (0,5 e 2,0 %, m/v).	96
Tabela 9. Principais eventos de perda de massa e as respectivas temperaturas máximas de degradação (T _{máx}) para as celulosas de aparas de papel (CAP) e caule de tabaco (NFCT). ..	102
Tabela 10. Distribuição granulométrica e índice de polidispersão (IP) dos granulados apresentando diâmetros a 10 % (d ₁₀), 50 % (d ₅₀) e 90 % (d ₉₀), além do diâmetro médio (d _{médio}).	110
Tabela 11. Porosidade e área superficial dos granulados contendo nanofibras de caule de tabaco (NFCT) com teofilina e Branco.....	118
Tabela 12. Umidade e propriedades de fluxo dos granulados contendo teofilina e Branco produzidos com diferentes apresentações de nanofibras de caule de tabaco (NFCT) nas concentrações de 0,5 e 2,0 % em massa, como aglutinante.	120
Tabela 13. Índice de friabilidade dos granulados com e sem teofilina produzidos com os aglutinantes derivados das nanofibras de caule de tabaco em comparação com granulado tendo PVP como líquido de granulação.	124

Tabela 14. Resistência à compressão dos granulados contendo teofilina e Branco preparados com aglutinantes derivados de nanofibras de celulose de caule de tabaco (NFCT) e PVP. ..128

Tabela 15. Teor médio de teofilina presente nos granulados contendo PVP e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 e 2,0 % obtidas por moagem micronizador..... 138

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Vantagens e desvantagens da secagem de nanocelulose (CNC e NFC) realizada por diferentes métodos como liofilização, secagem supercrítica, spray dryer e evaporação de solvente.....	40
Quadro 2. Resumo das novas técnicas e tecnologias de preparo de grânulos (Adaptado de SHANMUGAN, 2015).....	49
Quadro 3. Relação de materiais utilizados com suas respectivas marcas/fornecedor e país de origem.....	53
Quadro 4. Normas TAPPI para caracterização dos constituintes das biomassas de aparas de papel e caule de tabaco (Adaptado de TAPPI, 2014).....	62
Quadro 5. Formulação dos grânulos de teofilina com NFC como aglutinante.....	66
Quadro 6. Formulação dos grânulos controle (Branco) sem teofilina produzidos com NFC como aglutinante.	66
Quadro 7. Descrição, codificação e concentração dos aglutinantes contendo nanofibras de celulose (NFC) e PVP para desenvolvimento de granulados com teofilina.....	67

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação da planta de fumo (*Nicotiana tabacum* L.)27
- Figura 2.** Enantiômeros (S) e (R) da nicotina. (*) Indicação da posição do carbono 2 (C2). (Disponível em <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/nicotine/Eindex.html>) 29
- Figura 3.** Estrutura química da celulose com indicações da posição da ligação β -1,4 glicosídica e do dímero de glicose (celobiose) (n=DP, grau de polimerização) (Adaptado de KLEMM et al., 2005). 30
- Figura 4.** Estruturas cristalinas da celulose I β e II: a) projeção da unidade celular ao longo do plano a-b; b) projeção da unidade celular paralela aos planos cristalinos (1 0 0) - celulose I β - e (0 1 0) – celulose II (KLEMM et al., 2005). 31
- Figura 5.** Polimorfos da celulose e os principais métodos para obtenção das diferentes formas (LAVOINE et al., 2012). 32
- Figura 6.** Detalhe estrutural da fibra celulósica com ênfase nas microfibrilas de celulose (MFC), também chamadas de nanofibras de celulose, celulose nanofibrilar e nanofibrilas de celulose (Adaptado de LAVOINE et al., 2012)..... 33
- Figura 7.** Esquema do tratamento mecânico pelo método de moagem para isolamento de NFC. As setas indicam o fluxo da suspensão (VELÁSQUEZ-COCK et al., 2016). 34
- Figura 8.** Processo esquemático de secagem em estufa de suspensão de NFC (PENG, GARDNER, HAN, 2012). 36
- Figura 9.** Diagrama esquemático do possível mecanismo de formação da geometria lamelar e do alinhamento das fibras ultrafinas durante o processo de liofilização (Adaptado de HAN et al., 2013). 37
- Figura 10.** Representação dos tipos de gotículas formadas (a) gotícula de nanofibras de celulose (NFC) com fibrilas projetadas para fora do perímetro da gotícula (b) gotícula de NFC com fibrilas parcialmente projetadas além do perímetro da gotícula durante o processo de atomização de amostras contendo NFC (Adaptado de PENG, HAN, GARDNER, 2012). 39
- Figura 11.** Processo esquemático da produção de comprimidos contemplando a etapa de granulação por via úmida (Adaptado de VILA JATO, 2001). 42
- Figura 12.** Crescimento granular por nucleação e coalescência (Adaptado de HEIM et al., 2006). 43

Figura 13. Estados de distribuição de líquido em um aglomerado durante o processo de granulação por via úmida: a) estado pendular; b) estado funicular, c) estado capilar, d) estado de gota (drop-like) (Adaptado de AULTON & SUMMERS, 2013).	44
Figura 14. Estrutura química das metilxantinas (MONTEIRO et al., 2016).	50
Figura 15. Fluxograma dos processos desenvolvidos nas Etapas 1 (ensaios com as biomassas) e Etapa 2 (utilização das nanofibras de celulose como aglutinante para preparação de grânulos de teofilina).	52
Figura 16. Biomassa de (a) aparas de papel (<i>Eucalyptus</i> sp.) e (b) caule de tabaco (variedade Virgínia) antes do processo de secagem em estufa.	54
Figura 17. (a) Disposição dos caules de tabaco nas bandejas da estufa para secagem e, (b) moagem dos caules de tabaco em moinho de facas após secagem.	55
Figura 18. Esquema das etapas para obtenção de extrato metanólico para aplicação em placa cromatográfica e realização de CCD.	56
Figura 19. (a) Ensaio de determinação do índice de espuma com tubos de ensaio contendo a amostra com extrativos (CTE), (b) confirmação da formação de espuma (indicado pela seta) na amostra CTE; (c) pré-tratamento (mercerização) da amostra de caule de tabaco bruto, (d) celulose de caule de tabaco mercerizado e seco.	58
Figura 20. (a) Vista frontal do moinho micronizador, (b) Vista superior dos discos de pedra utilizados na desfibrilação.	58
Figura 21. Separação de fases das amostras de (a) Suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel (SNFCAP) e (b) Suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco (SNFCT).	59
Figura 22. Esquema das etapas do processo de granulação dos pós de teofilina e lactose utilizando nanofibras de celulose como aglutinante.	65
Figura 23. Aparato para determinação do ângulo de repouso (α).	71
Figura 24. Adaptação de metodologia de friabilidade para avaliação de granulados. (a) Exemplificação da fixação da proveta na cuba do equipamento utilizando fita adesiva e, (b) vista lateral do friabilômetro com a adaptação feita.	72
Figura 25. (a) Vista frontal do texturômetro e, (b) aparato utilizado para o ensaio de resistência à compressão com as setas indicando em (1) o probe cilíndrico contendo a amostra de granulado e em (2) a plataforma móvel.	73

- Figura 26.** (a) Encapsulação no tabuleiro, (b) Cápsulas de teofilina contendo granulado preparados com nanofibras de celulose de caule de tabaco (0,5 e 2,0 %, m/v) nas diferentes composições apresentadas no Quadro 7. 75
- Figura 27.** (a) Disposição das cápsulas de teofilina dentro do aparato (cesta) e, (b) visão das cestas submersas na cuba contendo o líquido dissolutor. 76
- Figura 28.** Placa cromatográfica com indicação do fator de retenção (Rf) das manchas (I) pó de caule de tabaco com extrativos, (II) pó de folhas de tabaco, (III) mistura para cigarro e (IV) padrão de nicotina 99,1%. 78
- Figura 29.** Estrutura molecular da nicotina e seus derivados – anabasina e nornicotina. 79
- Figura 30.** RMN de ^1H de (a) padrão de nicotina 99,1%; (b) caule de tabaco com extrativos (CTE) comparado com o padrão de nicotina; (c) caule de tabaco sem extrativos (CTSE) comparado com o padrão de nicotina. 82
- Figura 31.** Moagem da biomassa de caule de tabaco (a) formação de espuma no processamento do caule de tabaco com extrativos (CTE) e, (b) processamento no moinho do caule de tabaco (CTSE) após a mercerização. 84
- Figura 32.** (a) Suspensão de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v); (b) Suspensão de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v); (c) Suspensão de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v); (d) Suspensão de caule de tabaco 2,0 % (m/v). 85
- Figura 33.** Obtenção de gel de celulose após centrifugação (a) Gel de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v); (b) Gel de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v); (c) Gel de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v); (d) Gel de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v). 85
- Figura 34.** Micrografias eletrônicas no MEV-EC das amostras liofilizadas de gel de celulose de aparas de papel (GNFCAP) e caule de tabaco (GNFCT) nas duas concentrações avaliadas (0,5 e 2,0 %, m/v) com aumento de 100.000 x. (a) Gel liofilizado de celulose de aparas de papel a 0,5 %; (b) Gel liofilizado de celulose de aparas de papel a 2,0 %; (c) Gel liofilizado de celulose de caule de tabaco a 0,5 %; (d) Gel liofilizado de celulose de caule de tabaco a 2,0 %. As medidas foram obtidas com o auxílio do software ImageJ. 86
- Figura 35.** Micrografias eletrônicas no MEV-EC das amostras secas por spray-dryer de suspensão de celulose de caule de tabaco com aumento de 1000 x. (a) Suspensão de celulose de caule de tabaco a 0,5 %; (b) Suspensão de celulose de caule de tabaco a 2,0 % 87
- Figura 36.** Micrografias eletrônicas no MEV-EC das amostras secas em estufa de gel de celulose de aparas de papel e caule de tabaco com aumento de 30.000 x. (a) Gel de celulose de aparas de papel a 0,5 %; (b) Gel de celulose de aparas de papel a 2,0 %; (c) Gel de celulose de caule de tabaco a 0,5 %; (d) Gel de celulose de caule de tabaco a 2,0 % 87

Figura 37. Espectro no FTIR com bandas das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (CAP_05), celulose de aparas de papel a 2,0 % (CAP_2) após 5 horas de moagem utilizando como comparativo a celulose microcristalina (CMC). Os símbolos ν e δ significam estiramento e deformação, respectivamente..... 92

Figura 38. Espectro no FTIR das amostras de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (NFCT_05), nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (NFCT_2) após 5 horas de moagem utilizando como comparativo caule de tabaco bruto (CT). Os símbolos ν e δ significam estiramento e deformação, respectivamente. *(arom) = aromático..... 93

Figura 39. Difratoograma de raios X das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5% (CAP_05), celulose de aparas de papel a 2,0% (CAP_2) após 5 horas de moagem e liofilizadas utilizando a celulose microcristalina (CMC) como comparativo. 95

Figura 40. Difratoograma de raios X das amostras de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5% (NFCT_05), nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% (NFCT_2) após 5 horas de moagem e liofilizadas utilizando o caule de tabaco bruto (CT) como comparativo. 95

Figura 41. Curvas DSC das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (CAP_05) e celulose de aparas de papel a 2,0 % (CAP_2) após moagem e liofilização em comparação com a celulose microcristalina (CMC). 98

Figura 42. Curvas DSC das amostras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (NFCT_05) e celulose de caule de tabaco a 2,0 % (NFCT_2) após moagem e liofilização em comparação com o caule de tabaco em sua forma natural (CT). 99

Figura 43. Curva TG e DTG das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (CAP_05) e a 2,0 % (CAP_2) após processamento em moinho micronizador e liofilização comparando com celulose microcristalina (CMC). 100

Figura 44. Curva TG e DTG das amostras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (NFCT_05) e a 2,0 % (NFCT_2) após processamento em moinho micronizador e liofilização comparando com celulose de caule de tabaco bruto (CT). 101

Figura 45. Percentual da fração retida de granulados contendo polivinilpirrolidona (PVP) como aglutinante da amostra SPVP e das amostras contendo suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (SNFCAP_05) e a 2,0 % (SNFCAP_2) e suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (SNFCT_05) e a 2,0 % (SNFCT_2) como aglutinantes. 106

Figura 46. Percentual da fração retida de granulados contendo polivinilpirrolidona (PVP) como aglutinante da amostra SPVP e das amostras contendo gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (GNFCAP_05) e a 2,0 % (GNFCAP_2) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (GNFCT_05) e a 2,0 % (GNFCT_2) como aglutinantes. 106

Figura 47. Percentual da fração retida de granulados contendo polivinilpirrolidona (PVP) como aglutinante da amostra SPVP e das amostras contendo a mistura binária de gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % + PVP (GNFCAP_05 + PVP) e a 2,0 % (GNFCAP_2 + PVP) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % +PVP (GNFCT_05 + PVP) e a 2,0 % (GNFCT_2 + PVP) como aglutinantes. 107

Figura 48. Percentual da fração retida de granulados Branco (B) preparados com PVP (B_SPVP) e suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (B_SNFCAP_05) e a 2,0 % (B_SNFCAP_2) e suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (B_SNFCT_05) e a 2,0 % (B_SNFCT_2) como aglutinantes..... 108

Figura 49. Percentual da fração retida de granulados Branco (B) preparados com PVP (B_SPVP) e gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (B_GNFCAP_05) e a 2,0 % (B_GNFCAP_2) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (B_GNFCT_05) e a 2,0 % (B_GNFCT_2) como aglutinantes..... 108

Figura 50. Percentual da fração retida de granulados Branco (B) preparados com PVP (B_SPVP) e mistura binária de gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 %+PVP (GNFCAP_05+PVP) e a 2,0 % (GNFCAP_2+PVP) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 %+PVP (GNFCT_05+PVP) e a 2,0 % (GNFCT_2+PVP) como aglutinantes. . 109

Figura 51. Micrografias eletrônicas no MEV-EC das matérias-primas utilizadas para preparação dos granulados (a) teofilina, (b) lactose com aumento de 1000 x..... 112

Figura 52. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 60 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b) granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (SNFCT_05); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (GNFCT_05); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % + PVP (GNFCT_05+PVP)..... 113

Figura 53. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 60 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b) granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (SNFCT_2); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (GNFCT_2); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % + PVP (GNFCT_2+PVP)..... 113

Figura 54. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 250 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b) granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (SNFCT_05); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (GNFCT_05); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % + PVP (GNFCT_05+PVP)..... 115

Figura 55. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 250 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b)

granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% (SNFCT_2); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% (GNFCT_2); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2% + PVP (GNFCT_2+PVP).
..... 115

Figura 56. Micrografias no MO com aumento de 50 x dos granulados contendo teofilina preparados com os aglutinantes (a) SPVP, (b) SNFCT_05, (c) GNFCT_05, (d) GNFCT_05+PVP. A escala é de 500 μm 116

Figura 57. Micrografias no MO com aumento de 50 x dos granulados contendo teofilina preparados com os aglutinantes (a) SPVP, (b) SNFCT_2, (c) GNFCT_2, (d) GNFCT_2+PVP. A escala é de 500 μm e a seta amarela indica a coloração do aglutinante. 117

Figura 58. Gráficos das interações significativas ($\alpha < 0,05$) para ângulo de repouso. a) Dispersão das NFC x Concentração de NFC; b) Concentração de NFC x Teofilina. 122

Figura 59. Gráficos das interações significativas ($\alpha < 0,05$) para friabilidade. a) Dispersão da NFC x Concentração de NFC; b) Dispersão da NFC x Teofilina. 125

Figura 60. Friabilidade dos grânulos contendo teofilina preparados com os diferentes tipos de aglutinantes. As letras sobre as barras estabelecem as diferenças e representam o resultado do pós-teste de Tukey para alfa = 0,05. 126

Figura 61. (a) Registro fotográfico de grânulos compactados de teofilina preparados com derivados de nanofibras de caule de tabaco (NFCT) como aglutinante em comparação com (b) comprimidos produzidos com grânulos de celulose microcristalina (seção transversal) e (c) comprimidos produzidos com pó de celulose microcristalina (seção transversal) (Imagens (b – c) adaptadas de NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015). 130

Figura 62. Espectro no FTIR com bandas e respectivos grupamentos funcionais da teofilina. O símbolo ν significa estiramento. 132

Figura 63. Espectro no FTIR com bandas e respectivos grupamentos funcionais da lactose. Os símbolos ν e δ significam estiramento e deformação, respectivamente. 133

Figura 64. Espectro no FTIR com bandas e respectivos grupamentos funcionais da polivinilrolidona (PVP). O símbolo ν significa estiramento. 134

Figura 65. Espectros no FTIR das misturas (a) contendo nanofibras de caule de tabaco a 0,5 % como aglutinante, sendo (I) teofilina, (II) lactose, (III) PVP e (IV) NFCT_05 e (b) contendo nanofibras de caule de tabaco a 2,0 %, sendo (i) teofilina, (ii) lactose, (iii) PVP e (iv) NFCT_2.
..... 135

Figura 66. Espectros no FTIR dos granulados produzidos com (a) nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5% em que (I) SPVP; (II) SNFCT_05; (III) GNFCT_05; (IV)

GNFCT_05+PVP e (V) sem teofilina e (b) nanofibras de celulose de tabaco a 2,0% em que (i) SPVP; (ii) SNFCT_2; (iii) GNFCT_2; (iv) GNFCT_2+PVP e (v) sem teofilina. 136

Figura 67. Curva padrão de teofilina obtida em espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 271 nm apresentando coeficiente de correlação (r^2) de 0,9999. 137

Figura 68. Curva padrão de teofilina obtida em espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 271 nm apresentando coeficiente de correlação (r^2) de 0,9997 e equação da reta para realização dos cálculos de dissolução. 139

Figura 69. Análise da dissolução dos granulados contendo teofilina e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5% como aglutinante. 139

Figura 70. Análise da dissolução dos granulados contendo teofilina e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% como aglutinante. 140

Figura 71. Registro fotográfico da celulose retida no aparato (cesto) do dissolutor após o ensaio. 141

LISTA DE ABREVIações

α : ângulo de repouso

ANOVA: análise de variância

AP: aparas de papel

B_GNFCT_05: branco (sem teofilina) do gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v)

B_GNFCT_05+PVP: branco (sem teofilina) do gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v) com adição de polivinilpirrolidona

B_GNFCT_2: branco (sem teofilina) do gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v)

B_GNFCT_2+PVP: branco (sem teofilina) do gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v) com adição de polivinilpirrolidona

B_SNFCT_05: branco (sem teofilina) da suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v)

B_SNFCT_2: branco (sem teofilina) da suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v)

B_SPVP: branco (sem teofilina) da solução etanólica de polivinilpirrolidona

BET: Brunauer, Emmet e Teller

CAP_05: celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v)

CAP_2: celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v)

CCD: cromatografia em camada delgada

CDCl₃: clorofórmio deuterado

CDTF: Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

CMC: celulose microcristalina

CNC: celulose nanocristalina

CNF: celulose nanofibrilada

CrI: índice de cristalinidade

CT: caule de Tabaco

CTE: caule de tabaco com extrativos

CTSE: caule de tabaco sem extrativos

da: densidade aparente

dc: densidade compactada

DP: desvio padrão da média

DRX: difração de raios X

DSC: calorimetria exploratória diferencial

DTG: derivada da análise termogravimétrica

E: estufa

EC: etilcelulose

FCOG: Laboratório de Farmacognosia

FTIR: espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier*

GNFCAP_05: gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v) com teofilina

GNFCAP_05+PVP: gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v) com adição de polivinilpirrolidona com teofilina

GNFCAP_2: gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v) com teofilina

GNFCAP_2+PVP: gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v) com adição de polivinilpirrolidona com teofilina

GNFCT_05: gel de nanofibras de caule de tabaco a 0,5 % (m/v) com teofilina

GNFCT_05+PVP: gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v) com adição de polivinilpirrolidona com teofilina

GNFCT_2: gel de nanofibras de caule de tabaco a 2,0 % (m/v) com teofilina

GNFCT_2+PVP: gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v) com adição de polivinilpirrolidona com teofilina

HCl: ácido clorídrico

HPC: hidroxipropilcelulose

HPMC: hidroxipropilmetilcelulose

IC%: índice de compressibilidade

IP: índice de polidispersão

KBr: brometo de potássio

L: liofilização

LACER: Laboratório de Materiais Cerâmicos

LBIOP: Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos

LCMEC: Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos

LCMic: Laboratório Central de Microscopia Professor Israel Baumvol

LPOL: Laboratório de Polímeros

MEV-EC: microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo
MFC: celulose microfibrilada
MO: microscopia óptica
N₂: nitrogênio
NaOH: hidróxido de sódio
NFC: nanofibras de celulose
NFCT_05: nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v)
NFCT_2: nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v)
nm: nanômetros
NREL: *National Renewable Energy Laboratory*
PEG: polietilenoglicol
PH: proporção de Hausner
PVP: polivinilpirrolidona
qsp: quantidade suficiente para
Rf: fator de retenção
RMN de ¹H: ressonância magnética nuclear de próton
rpm: rotações por minuto
SD: *spray-drying*
SNFCAP_05: suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v)
SNFCAP_2: suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v)
SNFCT_05: suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v)
SNFCT_2: suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v)
SPVP: solução etanólica de polivinilpirrolidona com teofilina
TAPPI: *Technical Association of Pulp and Paper Industry*
TG: análise termogravimétrica
TU%: teor de umidade
UCS: Universidade de Caxias do Sul
UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
USP 31: *United States Pharmacopoeia* 31st ed.

RESUMO

Nanofibras de celulose (NFCs) derivadas de tabaco e aparas de papel podem ter distintas aplicações que incluem compósitos poliméricos, tecidos, cosméticos e medicamentos. Considerando esta ampla aplicabilidade e destacando, sobretudo, a aplicação desta biomassa na produção de medicamentos, a avaliação da presença de nicotina e de resíduos tóxicos é importante. Neste estudo, as NFCs foram obtidas por fibrilação mecânica variando-se a concentração de celulose (0,5 e 2,0 %, m/v) obtendo-se suspensões, dos quais apenas as suspensões de caule de tabaco foram tratadas por mercerização. Posteriormente, as suspensões das duas biomassas foram secas por diferentes métodos (liofilização, *spray-drying* e estufa) para caracterização. As NFCs foram denominadas de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 e 2,0 % (CAP_05 e CAP_2) e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 e 2,0 % (NFCT_05 e NFCT_2). As NFCs foram caracterizadas por cromatografia em camada delgada (CCD), ressonância magnética nuclear de próton (RMN ¹H), análise morfológica, determinação de α -celulose, espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR), difração de raios X (DRX) e análises térmicas. As NFCs obtidas das duas biomassas e a polivinilpirrolidona (PVP) foram utilizadas como aglutinante e grânulos de teofilina foram preparados por granulação via úmida e avaliados em relação à friabilidade, resistência à compressão, porosidade e área superficial, distribuição granulométrica, teor de fármaco e perfil de dissolução. Os resultados demonstram a ausência de nicotina no caule de tabaco. O processo de moagem foi eficiente na produção de NFCs e a liofilização foi o método de secagem mais apropriado permitindo a obtenção de diâmetros médios das CAP_05 de $67,0 \pm 2$ nm, e para CAP_2 de $40,0 \pm 2$ nm. Para as amostras NFCT_05 e NFCT_2 o diâmetro médio obtido foi de $32,8 \pm 0,3$ nm e $34,3 \pm 6,2$ nm, respectivamente. A concentração das nanofibras de celulose influencia no diâmetro das fibrilas obtidas, pois quanto maior a concentração, menor o diâmetro. A estabilidade térmica da NFCT_05 aumentou e a cristalinidade diminuiu quando realizado tratamento com álcalis na amostra de celulose de caule de tabaco. As técnicas de caracterização utilizadas permitiram avaliar o caule de tabaco e ampliar sua utilização. O uso das nanofibras mostrou-se viável como aglutinante no preparo de granulados contendo teofilina. Os granulados preparados com as nanofibras de aparas de papel apresentaram mais finos do que os granulados produzidos com nanofibras de caule de tabaco como aglutinante. Os granulados contendo nanofibras de caule de tabaco apresentaram propriedades de fluxo entre bom e excelente e a maior força de compactação foi obtida para os granulados GNFC_05+PVP ($3,79 \pm 0,17$ kg) e GNFC_2+PVP ($3,51 \pm 0,06$ kg). A análise morfológica permitiu evidenciar a presença de porosidades nos granulados, confirmados pelo ensaio de porosidade e área superficial. O ensaio de dissolução demonstrou que os granulados preparados com NFCs como aglutinante apresentaram comportamento semelhante ao do PVP, no que diz respeito à liberação da teofilina.

Palavras-chave: Caule de tabaco, Nanofibras de celulose, Caracterização, Aglutinante, Granulação.

ABSTRACT

Cellulose nanofibers (CNFs) derived from tobacco and paper chips may have different applications including polymer composites, fabrics, cosmetics and medicines. Considering this wide applicability and emphasizing, above all, the application of this biomass in medicines development, the evaluation of nicotine presence and toxic wastes are important. In this study, the CNFs were obtained by mechanical fibrillation by varying the cellulose concentration (0.5 and 2.0%, w/v), obtaining suspensions, in which only tobacco's stalk suspensions were treated by mercerization. After that, the suspensions of both biomass were dried by different methods (freeze-drying, spray-drying and oven-drying) for characterization. CNFs were denominated as paper chips cellulose nanofibers at 0.5 and 2.0 % (CAP_05 and CAP_2) and tobacco stalk cellulose nanofibers at 0.5 and 2.0 % (NFCT_05 and NFCT_2). CNFs were characterized by thin layer chromatography (TLC), proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR), morphological analysis, α -cellulose determination, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, X-ray diffraction (XRD) and thermal analysis. CNFs obtained from both biomass and polyvinylpyrrolidone (PVP) were used as binders and theophylline granules were prepared by wet granulation and evaluated for friability, compressive strength, porosity and surface area, particle size distribution, drug content and dissolution profile. The results demonstrate the absence of nicotine in tobacco stalk. The grinding process was efficient in the production of CNFs and freeze-drying was the most appropriate drying method to obtain the average diameters of CAP_05 of 67.0 ± 2 nm and CAP_2 of 40.0 ± 2 nm. For NFCT_05 and NFCT_2 the mean diameter obtained was 32.8 ± 0.3 nm and 34.3 ± 6.2 nm, respectively. The concentration of cellulose nanofibers influences the obtained fibrils diameter, because the higher the concentration, the smaller the diameter. NFCT_05 thermal stability increased and crystallinity decreased with alkali treatment in the tobacco stalk sample. The characterization techniques used allowed to evaluate the tobacco stalk and to increase its use. The use of CNFs proved to be feasible as binder in the granules preparation containing theophylline. The granules prepared with paper chips nanofibers had more fines than granulates prepared with tobacco stalk nanofibers as a binder. The granules containing the tobacco stalk nanofibers presented good to excellent flow properties and the highest compaction force was obtained for the granules GNFCT_05 + PVP (3.79 ± 0.17 kg) and GNFCT_2 + PVP (3.51 ± 0.06 kg). The morphological analysis showed the presence of porosities in granulates, confirmed by the porosity and surface area assay. The dissolution assay showed that granules prepared with CNFs as binder exhibited a behavior similar to that of PVP on theophylline release.

Keywords: Tobacco stalk, Cellulose nanofibers, Characterization, Binder, Granulation.

1 INTRODUÇÃO

A preocupação com o meio ambiente tem sido tema de inúmeros trabalhos acadêmicos nos últimos anos, principalmente quanto ao interesse em substituir o petróleo, entre outros recursos esgotáveis, por matérias-primas de fontes renováveis (ABDUL KHALIL, BHAT, IREANA YUSRA, 2012; ABDUL KHALIL et al., 2013; BRINCHI et al., 2013). Dentre essas fontes renováveis, as biomassas de origem vegetal estão sendo amplamente pesquisadas por sua origem natural e, por serem derivados lignocelulósicos, podendo apresentar altos teores de celulose em sua composição (WONGSIRIAMNUAY & TIPPAYAWONG, 2010; POLETTO, et al., 2012a). A celulose é considerada o composto orgânico derivado de biomassa mais abundante na superfície do planeta Terra, com produção anual estimada em $7,5 \times 10^{10}$ toneladas (HABIBI, LUCIA, ROJAS, 2010; JIA et al., 2014).

Alguns estudos têm utilizado outras fontes, além da madeira, tais como resíduos da agricultura (cascas de arroz e trigo, fibras da folha de abacaxi, cana-de-açúcar, algodão, entre outros) como biomassa para a obtenção de polpa de celulose para a produção de papel (MOHANTY, MISRA, DRZAL, 2002; GANI & NARUSE, 2007; ENAYATI et al., 2009; SCHALL et al., 2009; CHERIAN et al., 2010). Contudo, poucos estudos têm aproveitado biomassas residuais de fontes não convencionais, como o tabaco, para a obtenção de celulose (AGRUPIS et al., 1999; AGRUPIS, MAEKAWA, SUZUKI, 2000; SHAKHES et al., 2011; KULIĆ & RADOJIČIĆ, 2011; LI, WU, YU, 2013; TUZZIN et al., 2016). O resíduo gerado da produção de tabaco é considerado uma biomassa rica em celulose. No Brasil são produzidas 650 a 800 milhões de toneladas por ano de tabaco seco, sendo 5% o percentual de resíduo gerado durante o beneficiamento, ou seja, entre 30 a 40 milhões de toneladas/ano de resíduo de tabaco são descartados (AFUBRA, 2016).

A celulose e seus derivados possuem aplicação na tecnologia farmacêutica como excipientes na produção de comprimidos. A separação de nanofibras de celulose a partir de fibras microscópicas de celulose desperta interesse para aplicação na área farmacêutica por sua aparente não toxicidade, biocompatibilidade, boas propriedades mecânicas, elevada área superficial e potencial versatilidade em relação às modificações estruturais, além de possuir potencial aplicação como agente na liberação de fármacos (KOLAKOVIC et al., 2011; KOLAKOVIC et al., 2012; ABDUL KHALIL et al., 2013; PLACKETT et al., 2014). Atualmente, a celulose microcristalina é um adjuvante amplamente utilizado na compressão e

desagregação de comprimidos (ABUSHAMMALA et al., 2012). Por adjuvante compreende-se as substâncias quimicamente inertes, sem ação farmacológica (DEMERLIS, 2009), que auxiliam na melhoria das características do medicamento e contribuem para o processamento da formulação farmacêutica (PATEL, SHAH, UPADHYAY, 2011a).

Em relação ao desenvolvimento de medicamentos, estudos recentes têm utilizado filmes de nanocelulose para recobrimento de comprimidos a fim de estudar a liberação modificada de fármacos (KOLAKOVIC et al., 2012; KOLAKOVIC et al., 2013). Além disso, há também, estudos referentes a modificação da superfície das nanoceluloses com o intuito de alterar o tempo de desintegração de comprimidos ou de melhorar a afinidade com fármacos hidrófobos (CARLSSON et al., 2014; PACHUAU, 2015). Por outro lado, não há relatos de estudos realizados no que corresponde à utilização da nanocelulose como aglutinante.

Os aglutinantes são constituídos de substâncias voláteis de origem natural (água, etanol, isopropanol) ou polímeros naturais (celulose), sintéticos (polivinilpirrolidona – PVP) ou semissintéticos (carboximetilcelulose) (LI et al., 2011a; AULTON & SUMMERS, 2013) que auxiliam no aumento da coesão entre as partículas formando um aglomerado (CANTOR et al., 2008). A utilização de agentes aglutinantes pode melhorar a resistência à compactação e reduzir a friabilidade de granulados ou comprimidos preparados a partir de grânulos (CANTOR et al., 2008).

Um fármaco que tem sido amplamente utilizado em estudos como modelo no desenvolvimento de formulações é a teofilina (MA et al., 2016; MONTEIRO et al., 2016). A teofilina é um alcaloide da classe das xantinas que apresenta ação broncodilatadora, sendo utilizada como fármaco modelo devido ao seu conhecido perfil farmacocinético (GLYNN-BARNHART, HILL, SZEFLER, 1988).

Este trabalho visa estudar o emprego de nanofibras de celulose, a partir de celulose oriunda da biomassa residual das indústrias do papel e do fumo, como potencial adjuvante para a preparação de granulados para compressão em relação a adjuvantes tradicionalmente utilizados, como a celulose microcristalina e a polivinilpirrolidona, tornando-se essa proposta, um dos diferenciais deste estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Preparar e caracterizar granulados contendo teofilina utilizando nanofibras de celulose (NFC) obtidas de biomassas do resíduo de papel e de tabaco como aglutinantes.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos da presente proposta consistem em:

- Otimizar os parâmetros processuais da moagem de biomassas de papel e tabaco de forma a produzir NFC em maior quantidade;
- Secar as NFC, por meio de diferentes técnicas de secagem (liofilização, *spray-drier* e estufa) utilizando como critérios seletivos destes métodos os parâmetros de aglomeração, individualização e dimensão das fibras;
- Preparar grânulos de teofilina utilizando as NFC oriundas das aparas de papel e caule de tabaco como solução aglutinante em granulação via úmida e avaliar a influência da adição de diferentes quantidades de NFC na preparação do granulado de teofilina, considerando as características físicas do produto final obtido;
- Comparar os grânulos de NFC contendo teofilina com grânulos controle preparados com o aglutinante polilvinilpirrolidona (PVP) (solução etanólica a 7,5 %); por meio das técnicas de friabilidade, resistência à compressão, distribuição granulométrica, porosidade, área superficial, teor de fármaco e dissolução.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 RESÍDUO DAS INDÚSTRIAS DO PAPEL E FUMAGEIRA

A crescente demanda por produtos provenientes da indústria de papel e celulose é responsável pelo aumento na produção de celulose e, conseqüentemente, pela geração de resíduos com alto percentual de matéria orgânica.

No Brasil, as duas principais fontes de madeira utilizadas para a produção de celulose são as árvores plantadas das espécies *Pinus* sp. e *Eucalyptus* sp., responsáveis por mais de 98% do volume produzido. A celulose também pode ser obtida de outros tipos de plantas, não-madeiras, como bambu, babaçu, sisal e resíduos agrícolas (bagaço de cana-de-açúcar). O país ocupa o quarto lugar no ranking dos países produtores de celulose de todos os tipos e como primeiro produtor mundial de celulose de eucalipto (IBÁ, 2017).

As fibras de celulose derivadas da espécie *Eucalyptus* sp. possuem baixa resistência, alta maciez e boa absorção, sendo destinadas à produção de papéis para impressão, cadernos, papel higiênico, papel toalha e guardanapos (IBÁ, 2017).

O tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Figura 1), pertence à família das Solanaceas é uma planta anual nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas que, dependendo da espécie, pode atingir de 0,8 a 2,5 metros de altura (SHAKHES et al., 2011).



Figura 1. Representação da planta de fumo (*Nicotiana tabacum* L.)

É uma cultura de grande importância para o Brasil e, especialmente para o Rio Grande do Sul, que nos últimos 20 anos, tem recebido a instalação de empresas do setor (DUTRA & HILSINGER, 2013). O país tem liderado o mercado internacional e, mais de 85% do tabaco produzido no Brasil é negociado para exportação (MENDES et al., 2015).

Devido ao alto nível de qualidade das folhas de tabaco, seu cultivo possui como principal propósito a produção de cigarros e charutos (AGRUPIS et al., 1999; MENDES et al., 2015). De acordo com a Associação Brasileira dos Fumicultores (AFUBRA, 2016), na safra do período 2015/2016, aproximadamente 4% das 607 mil toneladas de tabaco colhido eram resíduos, sendo parte constituído de folhas, talos (nervura central das folhas) e poeira oriunda do processamento. Estes produtos podem retornar ao processo de produção de cigarro como constituintes menos nobres chamados de tabaco reconstituído (PEŠEVSKI et al., 2010).

Entretanto, após a colheita das folhas, permanece na lavoura o caule, que, de um modo geral é considerado um resíduo sendo incorporado ao solo. Todavia, os caules de tabaco podem conter até 40% em massa de celulose, sendo classificados como resíduo verde, propiciando sua aplicação para outros fins como produção de papel, tecidos, móveis, e, também, para uso cosmético (AGRUPIS et al., 2000; AKPINAR et al., 2010; SHAKHES et al., 2011; KULIĆ & RADOJIĆIĆ, 2011; LI, WU, YU, 2014).

Não obstante, considerando que os caules podem conter nicotina, o modo de descarte se torna um problema (WANG et al., 2004). De acordo com a regulamentação da União Europeia (2001/37/EC), se a quantidade de nicotina presente no resíduo for maior do que 500 ppm, este é considerado tóxico (PEŠEVSKI et al., 2010). Contudo, no Brasil não existe regulamentação em relação à presença de nicotina no solo e a prática de incorporação de resíduos do tabaco ao solo tem sido rotineira (SINDITABACO, 2017).

3.1.1 Nicotina

A nicotina é um alcaloide derivado da piridina que se apresenta em maior quantidade nas folhas do tabaco. Possui a capacidade biológica de atuar como herbicida, além de causar dependência pelo ato de fumar cigarros e charutos (CAI et al., 2013).

A nicotina é uma substância quiral e, conseqüentemente existe em duas formas enantioméricas (Figura 2) as quais diferem uma da outra na posição C2 do anel pirrolidínico.

A forma predominante na natureza é a (S)-nicotina, sendo que a forma (R)-nicotina representa apenas 0,2% do total de nicotina presente nas folhas curadas de tabaco (CAI et al., 2013).

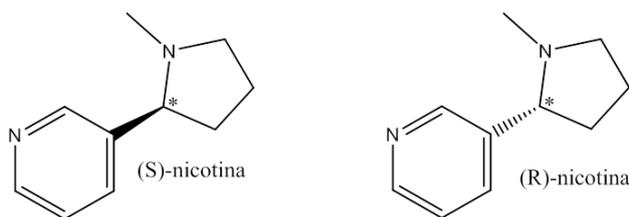


Figura 2. Enantiômeros (S) e (R) da nicotina. (*) Indicação da posição do carbono 2 (C2).
(Disponível em <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/nicotine/Eindex.html>)

A nicotina é um líquido oleoso amarelo claro que, em contato com o ar se oxida ficando da cor marrom clara. Possui odor pungente, é muito solúvel em água e em solventes orgânicos como álcool, éter e clorofórmio (MERCK INDEX, 2001).

A nicotina é uma substância considerada essencial para a determinação da qualidade do tabaco no mercado, entretanto, alíquotas entre 40-60 mg podem ser letais para animais e seres humanos (TASSEW & CHANDRAVANSI, 2015).

A cotinina é o principal metabólito da nicotina e pode causar diarreia, tontura, cefaleia, vômito, náusea e alteração na frequência cardíaca. Esses sintomas são conhecidos como doença da folha verde do tabaco, o qual é uma intoxicação aguda provocada pela absorção dérmica da nicotina da folha do tabaco e pode ser detectada em diferentes fluidos corporais como urina, saliva e sangue (MARTINS et al., 2016).

3.2 CELULOSE

A celulose é o polímero natural, biodegradável e renovável mais abundante no mundo (ZIMMERMANN, BORDEANU, STRUB, 2010; KOLAKOVIC et al., 2011; LAVOINE et al., 2012; BRINCHI et al., 2013), sendo amplamente distribuída em plantas superiores, principalmente madeiras, que contêm mais de 50% de celulose (BRINCHI et al., 2013). Além disso, também está presente em plantações anuais e em alguns animais marinhos como tunicatos, e em menor quantidade em algas, fungos, bactérias, invertebrados, inclusive em amebas (KLEMM et al., 2011).

Independente das fontes, a celulose pode ser encontrada em folhas, frutos ou nos caules, consistindo em uma estrutura homopolissacarídica linear, altamente hierarquizada, composta de unidades de D-glicopiranosose unidas por ligações β -1,4 (Figura 3). A unidade de repetição é um dímero de glicose chamado de celobiose. Cada monômero, chamado de anidroglicose possui três grupos hidroxila os quais são responsáveis por formar ligações de hidrogênio direcionando o empacotamento dos cristais e também regulando as propriedades físicas da celulose, conferindo-lhe características como: estrutura microfibrilada; organização hierárquica (regiões cristalinas e amorfas) e natureza altamente coesiva, apresentando temperatura de transição vítrea maior do que sua temperatura de degradação (LAVOINE et al., 2012; BRINCHI et al., 2013).

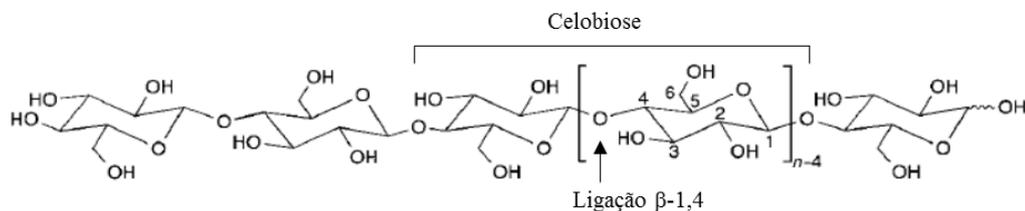


Figura 3. Estrutura química da celulose com indicações da posição da ligação β -1,4 glicosídica e do dímero de glicose (celobiose) ($n=DP$, grau de polimerização) (Adaptado de KLEMM et al., 2005).

A morfologia hierárquica é definida por fibrilas elementares as quais são empacotadas em unidades maiores chamadas microfibrilas com diâmetros na escala nanométrica que, por sua vez, são organizadas em feixes (LAVOINE et al., 2012; BRINCHI et al., 2013; ABDUL KHALIL et al., 2013; KOLAKOVIC et al., 2013).

As microfibrilas que compõem as fibras, resultantes do arranjo das moléculas de celulose, são constituídas de regiões cristalinas e amorfas. As regiões cristalinas são resultado da ação combinada da biopolimerização e cristalização da celulose comandada por processos enzimáticos. As regiões amorfas são resultado da má formação da estrutura devido à alteração no processo de cristalização (KLEMM et al., 2011; LAVOINE et al., 2012). Nas regiões cristalinas existe um arranjo geométrico que se repete nos eixos principais da estrutura cristalina para formar o volume total do cristal. Conforme o tratamento a que a celulose é submetida, ocorrem alterações na sua estrutura cristalina, o que resulta em polimorfos da celulose (LIMA & BORSALI, 2004). A forma polimórfica encontrada na natureza é a celulose I (nativa) constituída de duas formas cristalinas diferentes: I_{α} e I_{β} , podendo ser encontrados juntos na

mesma amostra de celulose e ao longo da microfibrila e, sua proporção entre as formas α e β depende da origem da celulose (LIMA & BORSALI, 2004; HABIBI et al., 2010; LAVOINE et al., 2012).

Investigações realizadas com difração de micro feixes de elétrons (SUGIYAMA, VUONG, CHANZY, 1991) com raios X combinados com difração de nêutrons (FINKENSTADT & MILLANE, 1998) revelaram que as estruturas cristalinas são triclinicas para I_α e monoclinica para I_β (Figura 4).

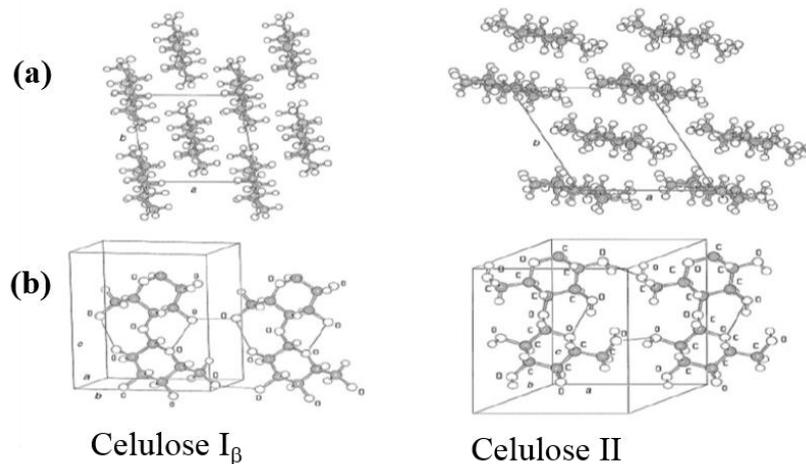


Figura 4. Estruturas cristalinas da celulose I_β e II: a) projeção da unidade celular ao longo do plano a-b; b) projeção da unidade celular paralela aos planos cristalinos (1 0 0) - celulose I_β - e (0 1 0) - celulose II (KLEMM et al., 2005).

Além da celulose estar presente na celulose I, no qual é termodinamicamente menos estável, a celulose também pode ocorrer em outras estruturas cristalinas como as celulosas II, III e IV (KLEMM et al., 2005; PACHUAU, 2015). Todavia, a celulose II é a forma cristalina mais estável (KLEMM et al., 2005; LAVOINE et al., 2012), sendo considerada uma celulose regenerada, pois é obtida a partir da mercerização, método que consiste no tratamento da celulose com solução aquosa de hidróxido de sódio. As celulosas III_I e III_{II} são obtidas a partir do tratamento com amônia da celulose I e II, respectivamente, e com a modificação da celulose III, a celulose IV é obtida (LAVOINE et al., 2012). Os polimorfos IV_I e IV_{II} podem ser obtidos com o aquecimento das celulosas III_I e III_{II} , respectivamente, em temperaturas acima de 260 °C em glicerol (HABIBI et al., 2010).

Na Figura 5 são apresentados os polimorfos da celulose e suas diferentes formas de obtenção.

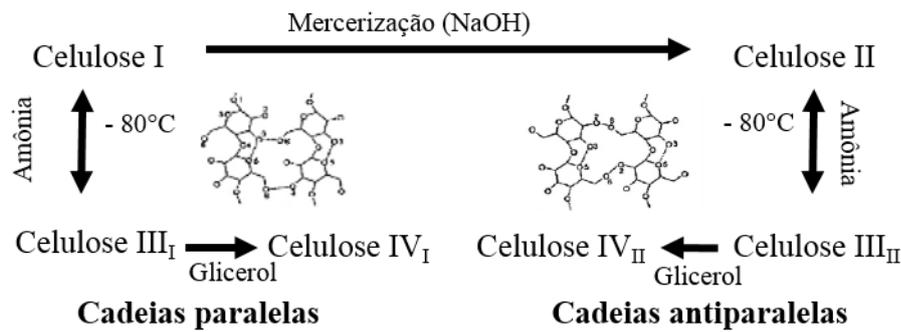


Figura 5. Polimorfos da celulose e os principais métodos para obtenção das diferentes formas (LAVOINE et al., 2012).

3.3 NANOCELULOSE / NANOFIBRAS DE CELULOSE

O termo “nanocelulose” geralmente é utilizado para se referir a materiais celulósicos que contenham pelo menos uma dimensão na escala nanométrica e pode ser produzida por diferentes métodos sendo dividida em três categorias de acordo com o método empregado: a) celulose bacteriana, obtida utilizando-se cepas de *Acetobacter xylinum*; b) nanocristais de celulose (também chamados de *nanowhiskers* ou celulose nanocristalina (CNC), obtida por hidrólise ácida e, c) celulose nanofibrilada (CNF), obtidas empregando-se métodos mecânicos tais como moagem micronizadora, microfluidização, *cryocrushing*, ultrasonificação a alta intensidade e homogeneização a alta pressão (KLEMM et al., 2011; LAVOINE et al., 2012; ABDUL KHALIL et al., 2013; ABDUL KHALIL et al., 2014; PACHUAU, 2015).

A celulose microfibrilada (MFC) é frequentemente produzida de diferentes fontes celulósicas, no entanto, a madeira é obviamente a fonte industrial mais importante de fibras de celulose, sendo assim, a principal matéria-prima para a produção de MFC (LAVOINE et al., 2012). Para se referir a MFC, alguns termos são utilizados como sinônimos, como: celulose nanofibrilar (CNF) (AHOLA, OSTERBERG, LAINE, 2008; STENSTAD et al., 2008), nanofibras de celulose (NFC) (ABE, IWAMOTO, YANO, 2007) e nanofibrilas de celulose (HENRIKSSON et al., 2008). Sendo a menor estrutura de uma fibra vegetal, a celulose nanofibrilada consiste em um feixe de moléculas de celulose esticadas, com longas, flexíveis e emaranhadas nanofibras de celulose com tamanhos aproximados de 1-100 nm (Figura 6) (ABDUL KHALIL et al., 2014).

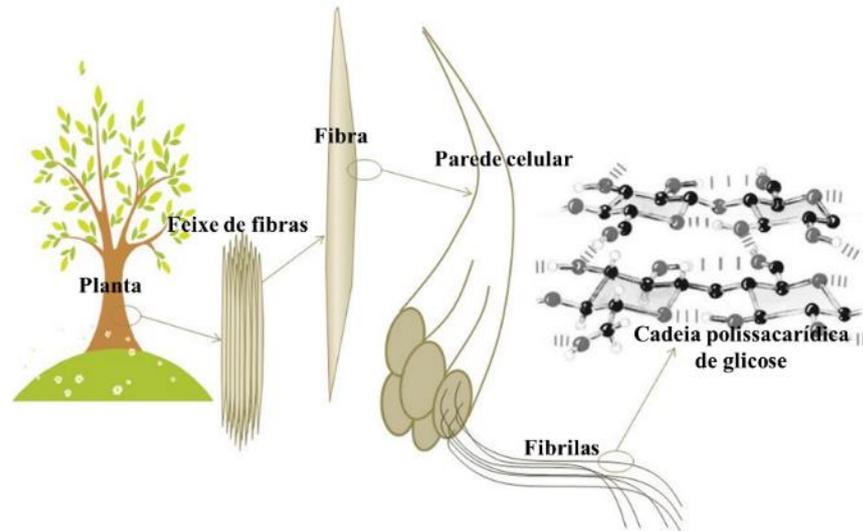


Figura 6. Detalhe estrutural da fibra celulósica com ênfase nas microfibrilas de celulose (MFC), também chamadas de nanofibras de celulose, celulose nanofibrilar e nanofibrilas de celulose (Adaptado de LAVOINE et al., 2012).

As fibras de celulose na escala nanométrica podem ser separadas da estrutura altamente organizada por processos mecânicos e assim, o produto resultante desse processamento passa a ser chamado de nanofibras de celulose (NFC) (LAVOINE et al., 2012; KOLAKOVIC et al., 2013). Diferentemente da madeira, no qual as fibras de celulose estão presentes na parede celular secundária da célula vegetal, as microfibrilas de celulose de fibras agrícolas são mais fáceis de separar da parede celular primária e a fibrilação dessa polpa demanda menor utilização de energia (LAVOINE et al., 2012).

Independentemente da fonte vegetal utilizada a NFC é geralmente produzida por fibrilação das fibras sob alta compressão e força de cisalhamento (KLEMM et al., 2011; VARTIAINEN et al., 2011; LAVOINE et al., 2012; ABDUL KHALIL et al., 2013; BRINCHI et al., 2013; PACHUAU, 2015).

3.4 REDUÇÃO DE TAMANHO DAS FIBRAS DE CELULOSE POR MOAGEM

A maneira mais comum de diminuir o tamanho de fibras celulósicas da escala micro para a nano de modo a aumentar a conectividade entre os nano-componentes da celulose, mais especificamente, aumentando a área superficial, é aplicando um tratamento mecânico por moagem ou homogeneização à alta pressão (VARTIAINEN et al., 2011; AFRA et al., 2013;

ABDUL KHALIL et al., 2014), no entanto, alguns autores (KLEMM et al., 2011; ABDUL KHALIL et al., 2014; VELÁSQUEZ-COCK et al., 2016) citam que a produção de NFC geralmente utiliza processos com uma sequência de vários passos abrangendo etapas químicas e enzimáticas, concluindo com o tratamento mecânico.

A moagem é um dos processos mais comuns na obtenção de NFC, por ser um método simples, de fácil aplicação. O princípio do funcionamento do moinho baseia-se na quebra da estrutura da parede celular vegetal devido à força de cisalhamento aplicada por discos de pedra não porosas (Figura 7). A polpa passa entre um disco estático e outro rotatório com velocidades de rotação que variam entre 750 e 3000 rpm. O contato com as superfícies duras dos discos e as repetidas tensões cíclicas resulta na desfibrilação das fibras (SIRÓ & PLACKETT, 2010; SPENCE et al., 2011; LAVOINE et al., 2012; VELÁSQUEZ-COCK et al., 2016).

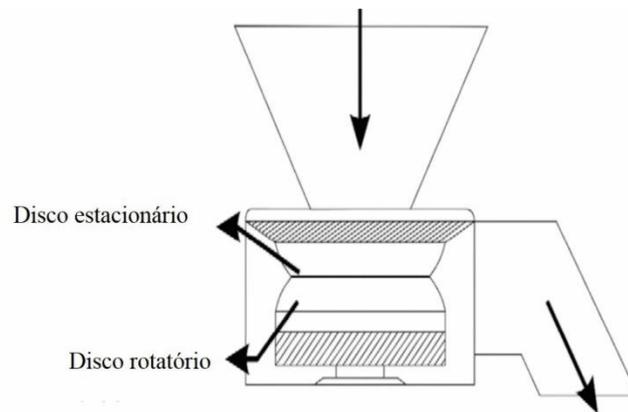


Figura 7. Esquema do tratamento mecânico pelo método de moagem para isolamento de NFC. As setas indicam o fluxo da suspensão (VELÁSQUEZ-COCK et al., 2016).

Os discos podem ter diferentes configurações de sulcos para alterar os padrões de fluxo durante o processamento. O grau de fibrilação depende da distância entre os discos, da morfologia dos canais de disco e do número de passagens através do moinho (KALIA et al., 2014) contudo, o tamanho das fibrilas obtidas após a moagem é maior do que a obtida quando utilizado outros métodos tais como a homogeneização a alta pressão (IWAMOTO et al., 2007).

No estudo realizado por Tuzzin et al. (2016), os diâmetros médios encontrados para as nanofibras de celulose de talo de tabaco obtidas por moagem micronizadora foram entre 20-70 nm, enquanto que Lavoratti, Scienza e Zattera (2016) utilizando o mesmo moinho encontraram diâmetros médios entre 70-90 nm para as nanofibras de eucalipto. Entretanto, no estudo conduzido por Chandra, George e Narayanankutty (2016) obtendo nanofibras de

celulose a partir de folhas de palmeira por homogeneização a alta pressão, o diâmetro médio das nanofibras ficou entre 3-5 nm.

A manutenção e substituição do disco pode ser um inconveniente do uso do moinho, pois as fibras de celulose de madeira acabam desgastando os sulcos (KALIA et al., 2014). A obtenção do material na forma de gel com grande porcentagem de água, pode tornar mais difícil sua aplicabilidade e funcionalização, constituindo uma desvantagem da técnica (VARTIAINEN et al., 2011).

No entanto, a principal vantagem do processamento com o moinho micronizador é que não necessita de outras técnicas de processamento auxiliares como o encurtamento mecânico e o pré-tratamento nas fibras (KALIA et al., 2014).

3.5 SECAGEM DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE

Todos os processos mecânicos com os quais a biomassa de celulose é submetida para a produção de NFC levam à produção de uma suspensão aquosa com aparência gelificada sendo considerado um sistema coloidal (KOLAKOVIC et al., 2011; PENG, GARDNER, HAN, 2012). A secagem dessa suspensão é uma etapa necessária para facilitar o transporte e manuseio das NFC (PENG, GARDNER, HAN, 2012; BRINCHI et al., 2013). No entanto, a secagem das fibrilas do material nanocelulósico disperso e de forma individualizada é um desafio na sua aplicação, uma vez que é um processo muito delicado em função das possíveis aglomerações de fibras que podem ocorrer (PENG, GARDNER, HAN, 2012; ABDUL KHALIL et al., 2014).

Durante a secagem das nanofibras de celulose podem ocorrer aglomerações irreversíveis que afetam as dimensões da nanofibra, influenciando em propriedades únicas, como o aumento da razão de aspecto (relação comprimento/diâmetro) que desempenha um importante papel na determinação da capacidade de reforço das nanofibras (BECK, BOUCHARD, BERRY, 2012; CHANDRA, GEORGE, NARAYANANKUTTY, 2016).

Segundo Peng, Gardner e Han (2012), a existência de uma interface ar-água com o tamanho da curvatura da fibrila na suspensão pode exercer pressões capilares suficientes para deslocar as fibrilas de suas posições originais. Ao mesmo tempo em que uma difusão mútua das nanofibrilas em superfície de interface pode levar a aglomeração das NFC. Os segmentos moleculares das fibrilas de celulose que estão parcialmente dissolvidas em água tendem a se

misturar resultando em interpenetração e emaranhamento entre as nanofibrilas de celulose. Além disso, ligações de hidrogênio e forças de van der Waals são esperadas para manter as fibrilas unidas após a remoção da água (KLEMM et al., 2011; ABDUL KHALIL et al., 2014).

A Figura 8 apresenta o esquema do processo de secagem de suspensão de NFC realizado em estufa. Nota-se que com a remoção da água, nas etapas II e III, a distância entre as nanofibrilas torna-se mínima e o contato molecular é alcançado devido aos efeitos combinados das forças de difusão e capilaridade. Nessa situação, fortes ligações de hidrogênio intermoleculares são desenvolvidas para formar uma rede de fibras contínuas com uma massa relativamente sólida (PENG, GARDNER, HAN, 2012).

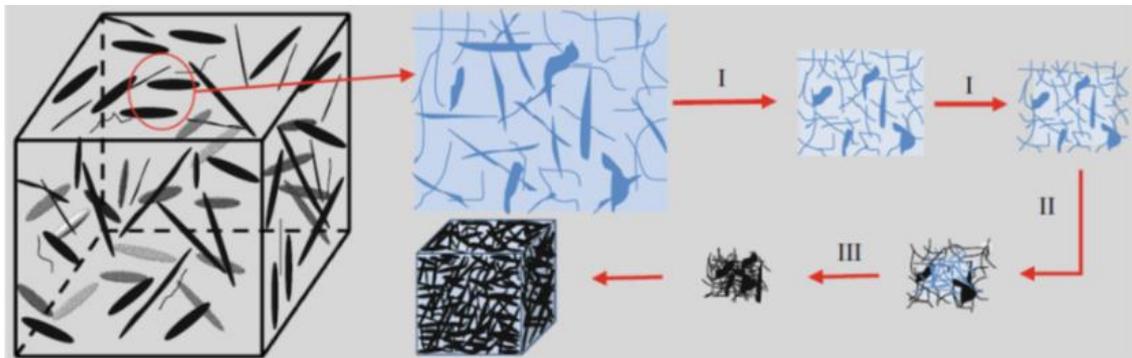


Figura 8. Processo esquemático de secagem em estufa de suspensão de NFC (PENG, GARDNER, HAN, 2012).

3.5.1 Secagem por liofilização

Dentre os métodos de secagem disponíveis, a liofilização tem se apresentado como uma técnica versátil, de baixo custo e uma alternativa para a utilização em nanofibras de celulose sem comprometimento do volume inicial da suspensão e da estrutura das NFC (PENG, GARDNER, HAN, 2012; HAN et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2016). No entanto, o bom desempenho da liofilização depende do processo de congelamento (PENG, GARDNER, HAN, 2012; TERRONI et al., 2013).

Segundo Peng, Gardner e Han (2012), o processo de liofilização é composto por três estágios: (1) congelamento, (2) secagem primária, e (3) secagem secundária. O estágio de congelamento é o primeiro passo para separar as NFC da água que está na forma de cristais de gelo. Na secagem primária os cristais de gelo são sublimados enquanto que na etapa de secagem

secundária, a água que reagiu com as hidroxilas da molécula de celulose é removida. No terceiro estágio pode ocorrer aglomeração das fibrilas de celulose. Nessa terceira etapa, a água absorvida pelas NFC é removida por aquecimento com aplicação de vácuo. O vapor de água se difunde e pode induzir a mudanças estruturais e deslocamento das NFC (HAN et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2016). Outro fator que pode levar a aglomeração das NFC no processo de secagem é a ocorrência de fortes ligações de hidrogênio que podem se formar entre as nanofibrilas de celulose (PENG, GARDNER, HAN, 2012; ZIMMERMANN et al., 2016).

Na secagem por liofilização, além das condições de congelamento, o tamanho da partícula, a carga superficial, a concentração de sólidos em suspensão e o comportamento de auto-organização das partículas de celulose são, também, fatores que influenciam a morfologia e as propriedades mecânicas da celulose seca (HAN et al., 2013).

A Figura 9 apresenta um modelo proposto por Han et al. (2013), de um possível mecanismo de formação da geometria lamelar e do alinhamento de fibras ultrafinas durante o processo de liofilização.

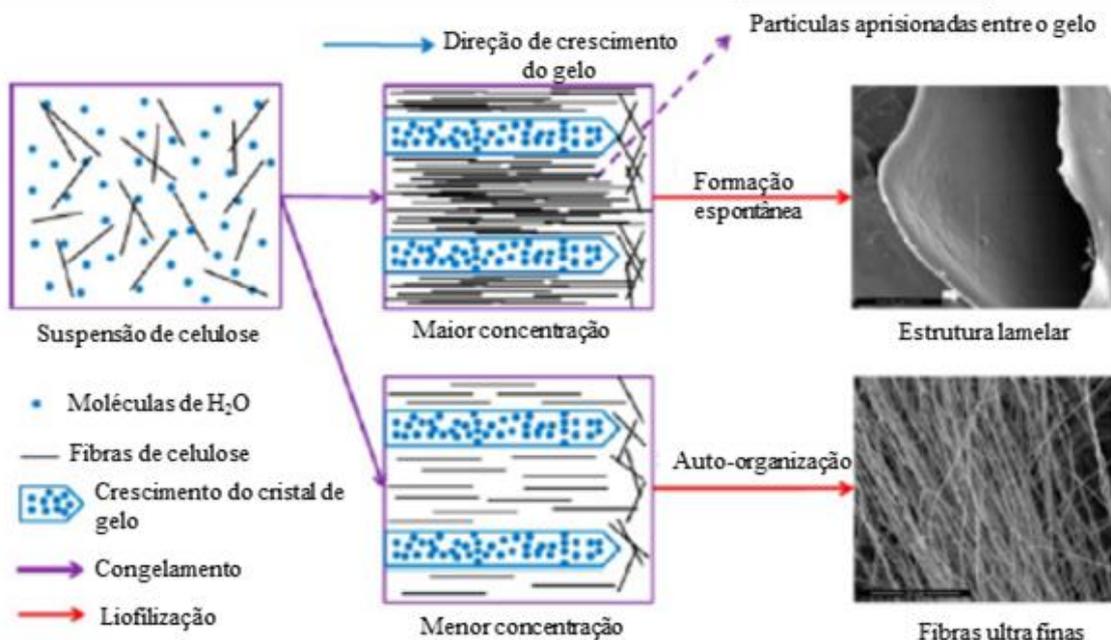


Figura 9. Diagrama esquemático do possível mecanismo de formação da geometria lamelar e do alinhamento das fibras ultrafinas durante o processo de liofilização (Adaptado de HAN et al., 2013).

O mecanismo proposto por Han et al. (2013) sugere que uma vez que a suspensão de celulose é congelada em condições de *steady state*, os cristais de gelo crescem gradualmente na

mesma direção, conforme o gradiente de temperatura, formando uma microestrutura lamelar orientada na direção paralela ao congelamento. Simultaneamente, as partículas de celulose são impelidas para dentro dos espaços vazios criados entre os cristais de gelo. Durante o processo de secagem, os cristais de gelo são sublimados resultando em um concentrado de partículas de celulose na forma congelada. A formação de um rearranjo de celulose comprimida ao longo do eixo longitudinal em direção às microfibrilas de celulose é realizada por ligações de hidrogênio e forças de van de Waals (HAN et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2016).

3.5.2 Secagem por aspersão (*spray drying*)

A secagem de suspensões aquosas por *spray drying* é uma técnica amplamente utilizada nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, de cerâmica, de polímeros e produtos químicos (PENG, GARDNER, HAN, 2012). Consiste em uma operação no qual os sólidos dispersos em um sistema fluido são secos dividindo-os em gotículas (KHOSHKAVA & KAMAL, 2014; ZIMMERMANN et al., 2016) e, conforme as gotículas passam pela câmara de secagem (atomizador), sofrem evaporação do solvente e, em seguida, são separadas em um ciclone e a partícula sólida é formada (PENG, GARDNER, HAN, 2012). Essa técnica permite a obtenção de produtos como pós finos, grânulos ou *pellets*, que podem variar em dimensão (KHOSHKAVA & KAMAL, 2014; ZIMMERMANN et al., 2016).

A técnica de secagem por aspersão permite uma rápida transferência de calor e massa de modo contínuo. Uma das vantagens da aplicação da técnica é o tempo de contato extremamente curto entre a suspensão e a fonte de calor, tornando esta técnica ideal para substâncias sensíveis ao calor (OLIVEIRA & PETROVICK, 2010). Outra vantagem em relação ao processo é a eliminação de etapas subsequentes para a separação das fibras, como por exemplo a moagem (ZIMMERMANN et al., 2016).

Para suspensões de nanofibras de celulose (NFC) dois tipos diferentes de gotículas podem ser formados durante o processo de atomização: (a) gotículas de NFC com fibrilas salientes e (b) gotículas de NFC com fibrilas parcialmente salientes (Figura 10) (PENG, GARDNER, HAN, 2012). Para a primeira situação, Figura 10(a), o comprimento original da fibrila de NFC encontra-se maior do que o diâmetro da gotícula formada e, ao mesmo tempo, a fibrila de NFC apresenta-se suficientemente rígida para se projetar para fora da gotícula. No

segundo tipo de gotícula, Figura 10(b), uma porção das fibrilas de NFC pode ter se apresentado mais compridas do que o diâmetro da gotícula, porém, estas fibrilas podem se apresentar demasiadamente macias para ultrapassar a tensão superficial da água e foram dobradas dentro da gotícula (PENG, HAN, GARDNER, 2012).

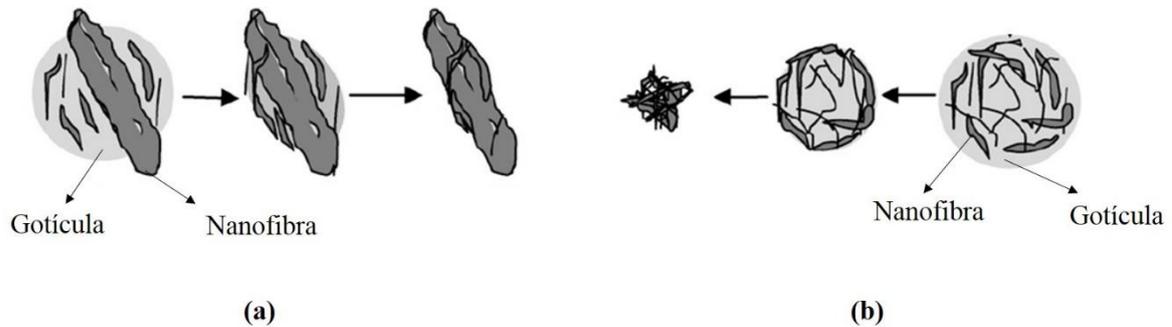
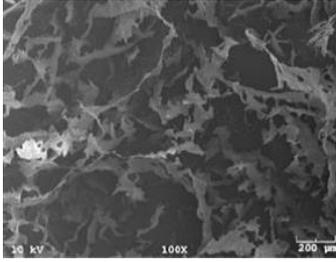
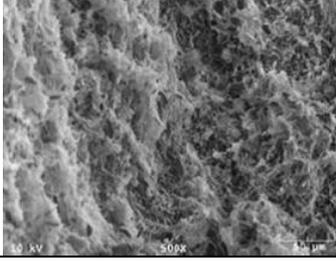
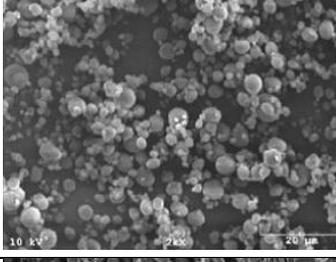
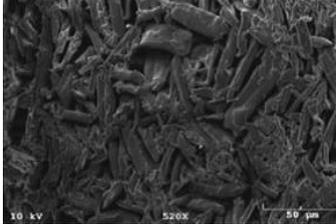


Figura 10. Representação dos tipos de gotículas formadas (a) gotícula de nanofibras de celulose (NFC) com fibrilas projetadas para fora do perímetro da gotícula (b) gotícula de NFC com fibrilas parcialmente projetadas além do perímetro da gotícula durante o processo de atomização de amostras contendo NFC (Adaptado de PENG, HAN, GARDNER, 2012).

Na literatura são citados alguns métodos de secagem utilizados para nanofibras de celulose como liofilização, *spray drying*, secagem supercrítica e evaporação de solvente (PAKOWSKI, 2007; PENG, GARDNER, HAN, 2012; BRINCHI et al., 2013; PENG et al., 2013; ABDUL KHALIL et al., 2014). No Quadro 1 é apresentado um resumo comparativo dos diferentes métodos de secagem.

Quadro 1. Vantagens e desvantagens da secagem de nanocelulose (CNC e NFC) realizada por diferentes métodos como liofilização, secagem supercrítica, *spray dryer* e evaporação de solvente.

Método de secagem	Morfologia da fibra	Vantagens	Desvantagens	Referência
Liofilização		<ul style="list-style-type: none"> - Obtenção de parte das fibras na escala nanométrica; - Processo relativamente estável; - Aplicável para celulose nanocristalina (CNC) e nanofibras de celulose (NFC). 	<ul style="list-style-type: none"> - Processo lento; - Pode ocorrer aglomeração; - Processo de desorção da água descongelada influencia na estabilidade do produto seco. 	<p>PENG, GARDNER, HAN, 2012; PENG et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2016.</p>
Secagem supercrítica		<ul style="list-style-type: none"> - Boa eficiência de secagem mantendo as fibrilas de celulose em escala nanométrica; - Utilizada principalmente para secagem de NFC. 	<ul style="list-style-type: none"> - Alto custo; - Processo complexo com utilização de grandes quantidades de solventes; - Não recomendado para nanocristais de celulose (CNC). 	<p>PENG, GARDNER, HAN, 2012; PENG et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2016.</p>
<i>Spray dryer</i>		<ul style="list-style-type: none"> - Processo contínuo; - Baixo custo operacional; - Utilizado principalmente para secagem de polpa de nanocristais. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pode formar aglomerados; - O tamanho das partículas pode variar de nanômetros a micrometros; - O uso de materiais em maior concentração pode causar entupimento do sistema nebulizador. 	<p>PENG, GARDNER, HAN, 2012; PENG, HAN, GARDNER, 2012 ; PENG et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2016.</p>
Evaporação de solvente		<ul style="list-style-type: none"> - Baixo custo; - Processo rápido. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aglomeração; - Perda da escala nanométrica. 	<p>PENG, GARDNER, HAN, 2012; PENG et al., 2013; ZIMMERMANN et al., 2016.</p>

3.6 EXCIPIENTES DE FORMAS FARMACÊUTICAS

O conceito tradicional de excipiente farmacêutico como sendo um simples adjuvante farmacêutico, quimicamente inerte, sem ação farmacológica vem sendo alterado (DEMERLIS, 2009) e entendido não apenas como meras substâncias capazes de facilitar a administração e proteger o fármaco, mas sim como elementos de elevado destaque na formulação dos medicamentos, uma vez que exercem efetivo papel na garantia de obtenção da forma farmacêutica adequada ao uso e ao efeito terapêutico desejado, regendo e influenciando de maneira significativa a cedência do princípio ativo ao sítio de ação (PATEL, SHAH, UPADHYAY, 2011a; RAMOS & MORAIS, 2013).

Estes desempenham importante papel no manuseio, bem como auxiliam na melhoria das características do medicamento contribuindo para o processamento da formulação farmacêutica e podendo interferir nas propriedades farmacológicas ou farmacocinéticas (MORETON, 1997; KALÁSZ & ANTAL, 2006; PATEL, SHAH, UPADHYAY, 2011a).

Os adjuvantes farmacêuticos desempenham múltiplas funções nos medicamentos atuando como estabilizantes químicos ou físicos, conservantes e tampões (KALÁSZ & ANTAL, 2006). Com o objetivo de preservar e proteger algumas características do fármaco (princípio ativo), os excipientes também atuam auxiliando na modulação da solubilidade e biodisponibilidade do fármaco, aumentam a estabilidade da forma farmacêutica, auxiliam na manutenção da forma polimórfica do fármaco, previnem agregação ou dissociação das partículas, entre outros (PATEL, SHAH, UPADHYAY, 2011a).

Nesse sentido, as nanofibras de celulose surgem como uma alternativa para substituir o uso da celulose microcristalina no desenvolvimento de formas farmacêuticas. A celulose microcristalina (CMC) é um derivado da celulose, utilizada como excipiente na indústria farmacêutica no processo de obtenção de comprimidos como material de enchimento e compressão, aglutinante na granulação seca e, como desintegrante de comprimidos. Para o preparo de *pellets*, a CMC é um dos adjuvantes mais utilizados (BUILDERS et al., 2010). A utilização de CMC na produção de comprimidos justifica-se pela sua biocompatibilidade, valor comercial e por suas características como diluente e aglutinante (ABUSHAMMALA et al., 2012).

3.7 GRANULAÇÃO

O processo de granulação é um recurso amplamente utilizado na indústria farmacêutica para a produção de comprimidos (LAMOLHA & SERRA, 2007; FONTEYNE et al., 2014; HANSULD & BRIENS, 2014). É uma técnica de ampliação de tamanho de partículas, no qual partículas finas ou grossas de pó são convertidas em grandes aglomerados chamados grânulos. A aglomeração é uma das operações unitárias mais importantes na produção de formas farmacêuticas sólidas, principalmente de comprimidos e cápsulas (Figura 11) (SHANMEGAM, 2015). No entanto, a produção de grânulos também pode ser uma alternativa utilizada para a dispensação do produto farmacêutico na forma granulada, como chás e pós granulados (OULAHNA et al., 2003; GARCIA, PEREIRA, DIAS, 2012).

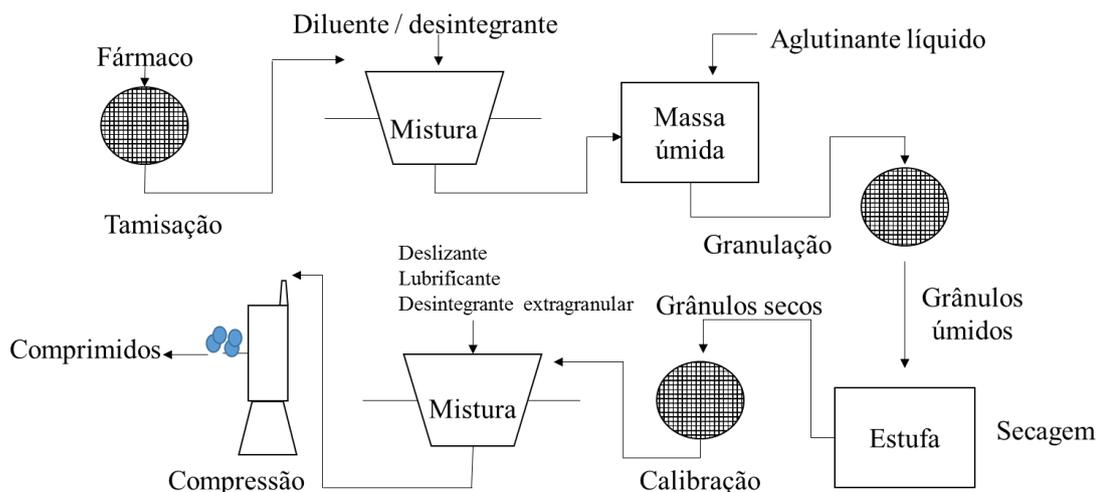


Figura 11. Processo esquemático da produção de comprimidos contemplando a etapa de granulação por via úmida (Adaptado de VILA JATO, 2001).

A granulação geralmente começa após a mistura inicial dos componentes secos em pó, juntamente com a substância ativa de modo que seja obtida uma distribuição homogênea dos pós na mistura (SHANMEGAM, 2015).

A obtenção do granulado visa melhorar o fluxo de uma mistura de pós por minimizar as variações de granulometria de diferentes lotes de matérias-primas, reduzir os riscos à saúde do manipulador em função da inalação de pós finos, prevenir a segregação da mistura de pós, melhorar a uniformidade de conteúdo do fármaco (LAMOLHA & SERRA, 2007; OSEI-YEBOAH, FENG, SUN, 2014; NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015).

Os grânulos possuem formato irregular, porém, também podem apresentar-se na forma esférica (LEUENBERGER, 2001). Devem apresentar coloração homogênea, estreito grau de distribuição granulométrica, boa fluidez e resistência mecânica (NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015) e podem ser preparados por método úmido ou seco (LI et al., 2011a; PATEL et al., 2011b).

3.7.1 Granulação úmida

A granulação por via úmida é um dos processos mais utilizados na indústria farmacêutica. O processo consiste na aglomeração de partículas de pó utilizando um líquido de granulação, com ou sem aglutinante, de modo a formar uma massa úmida, seguido de secagem para remoção da umidade e, obtendo-se assim, os grânulos secos (OULAHNA et al., 2003; AGRAWAL & NAVEEN, 2011).

Para formar grânulos, é necessário que haja ligações entre as partículas de modo que o grânulo formado possua força suficiente para suportar subsequente manipulação (NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015). Sendo assim, o líquido adicionado liga as partículas de pó por uma combinação de forças capilares e viscosas no estado úmido. Em seguida, são formadas ligações mais permanentes durante a subsequente secagem, conduzindo à formação de aglomerados (AGRAWAL & NAVEEN, 2011).

De acordo com Iveson et al (2001), existem três estágios fundamentais do processo que determinam o comportamento úmido da aglomeração: umidificação e nucleação; consolidação e crescimento e; quebra e atrito. A Figura 12 ilustra o fenômeno de crescimento granular.

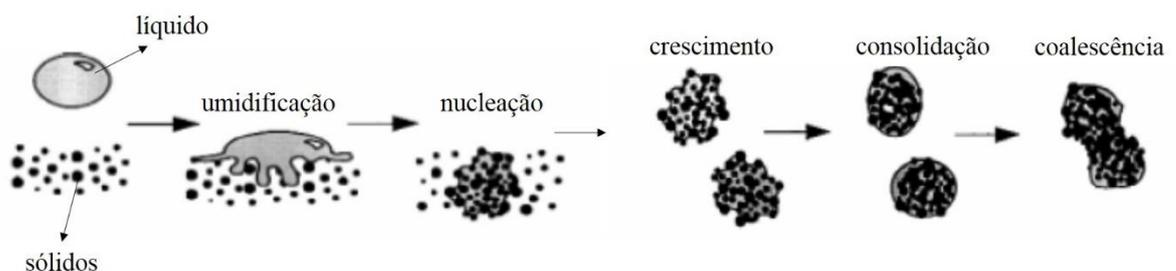


Figura 12. Crescimento granular por nucleação e coalescência (Adaptado de HEIM et al., 2006).

Estes fenômenos geralmente acontecem simultaneamente durante o processo de granulação, dificultando a investigação do efeito de um fenômeno individual sobre as propriedades do aglomerado. A umidificação das partículas é necessária para a nucleação, ou seja, a formação inicial dos aglomerados. A força coesiva que opera durante o processo de aglomeração úmida é, principalmente, devido às pontes líquidas que se desenvolvem entre as partículas sólidas, embora forças intermoleculares atrativas, forças de van der Waals e forças eletrostáticas também desempenhem um papel inicial (AGRAWAL & NAVEEN, 2011).

A teoria da granulação úmida foi descrita pela primeira vez por Newitt e Conway-Jones (1958), a qual é aceita até a atualidade, e identificou quatro principais estados de distribuição de líquido no processo de granulação, sendo eles: a) estado pendular: com a formação de pontes líquidas entre as partículas; b) estado funicular: no qual o grânulo se apresenta parcialmente preenchido com ar; c) estado capilar: com a presença de espaços livres entre os grânulos que se apresentam parcialmente preenchidos com líquido, no entanto, apresentam a superfície externa seca; d) estado de gota (*drop-like*): as partículas se apresentam completamente envolvidas pelo líquido (Figura 13).

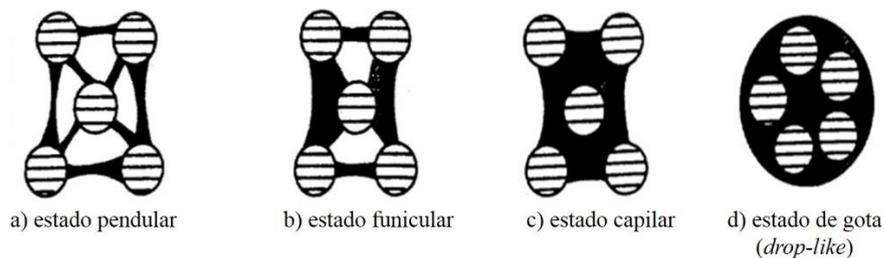


Figura 13. Estados de distribuição de líquido em um aglomerado durante o processo de granulação por via úmida: a) estado pendular; b) estado funicular, c) estado capilar, d) estado de gota (*drop-like*) (Adaptado de AULTON & SUMMERS, 2013).

No início do processo de granulação, ao adicionar o líquido aglutinante, as partículas primárias formam um núcleo e são mantidas unidas por pontes líquidas formando o estado pendular (pontes líquidas), Figura 13(a). Conforme o líquido aglutinante vai sendo adicionado à formulação, mais núcleos são formados ocorrendo a passagem do estado pendular para o estado capilar (estado saturado), Figura 13(c), passando por um estado intermediário funicular, Figura 13(b). O quarto estado identificado foi o estado de gota, Figura 13(d). Baseado nesta teoria, a formação de pontes líquidas e a pressão capilar no estado pendular são os principais responsáveis pela formação dos grânulos. No estado capilar o volume total do poro é preenchido com líquido e as forças interfaciais e a pressão capilar estão envolvidas. No estado de gota todos

os poros, incluindo os vazios inter e intra particular estão preenchidos e ainda há a presença de uma quantidade extra de líquido ao redor da partícula sólida (PETROVICK, PETROVICK, BASSANI, 2006; AGRAWAL & NAVEEN, 2011; LI et al., 2011a; AULTON & SUMMERS, 2013).

As pontes líquidas formadas são estruturas temporárias cujos grânulos úmidos são posteriormente secos, contudo, essas pontes são necessárias para a formação de pontes sólidas, que podem ser formadas pelo aglutinante presente no líquido ou por substâncias dissolvidas no líquido de granulação (BIKA et al., 2005; EMERY et al., 2009; AGRAWAL & NAVEEN, 2011; CROUTER & BRIENS, 2014).

Bika et al. (2005) mencionaram que a descrição da morfologia e das propriedades das pontes sólidas, que são formadas entre as partículas primárias durante a granulação, não são bem estabelecidas na literatura. No entanto, segundo Aulton e Summers (2013), as pontes sólidas podem ser formadas por fusão parcial, endurecimento, cristalização ou dissolução de substâncias.

A fusão parcial é um mecanismo que pode ocorrer principalmente, na granulação por via seca, no qual as pressões utilizadas para granular podem causar a fusão de materiais com baixo ponto de fusão. Com a retirada ou alívio da pressão, ocorre a cristalização, a qual acaba unindo as partículas novamente (AULTON & SUMMERS, 2013).

O endurecimento é um dos mecanismos mais comuns na granulação por via úmida, no qual a adição de um aglutinante com características adesivas é incorporado ao líquido de granulação. O líquido formará as pontes líquidas, conforme citado anteriormente, e o aglutinante irá endurecer ou cristalizar durante a secagem do granulado de modo a formar as pontes sólidas para ligar as partículas. A polivinilpirrolidona (PVP) e a carboximetilcelulose, um derivado celulósico, são exemplos de substâncias aglutinantes com capacidade adesiva que atuam dessa forma (AULTON & SUMMERS, 2013).

Já a cristalização ou dissolução de substâncias atua de modo semelhante ao endurecimento, no entanto, o solvente utilizado para formar a massa úmida para posterior granulação pode parcialmente dissolver algum componente em pó da formulação. Quando os grânulos são secos ocorre a cristalização deste material e a substância dissolvida acaba atuando como uma pasta de endurecimento. Qualquer material solúvel ao líquido de granulação poderá funcionar deste modo. Um exemplo é o uso de lactose incorporada à mistura de pós utilizando água como líquido de granulação (AULTON & SUMMERS, 2013).

A granulação úmida é um processo flexível e versátil comparado a outras tecnologias de aglomeração de partículas, como a granulação seca. Entretanto, o processo de granulação por via úmida requer mais etapas de obtenção do granulado do que a granulação por via seca (SHANMUGAM, 2015). Geralmente os grânulos preparados com granulação úmida possuem melhor distribuição do tamanho de partícula em relação à granulação seca (LI et al., 2011a).

3.7.1.1 Aglutinantes

Também chamado de líquido de granulação, os aglutinantes são basicamente constituídos de solventes voláteis, facilmente removidos no processo de secagem dos grânulos, e não tóxicos. Os líquidos incluem água, etanol e isopropanol utilizados isoladamente ou em combinação (AULTON & SUMMERS, 2013).

Os aglutinantes são utilizados no preparo de grânulos com o objetivo de aumentar a coesão entre as partículas e atuar como um facilitador dos fenômenos de nucleação e crescimento granular. Sendo assim, o ligante pode melhorar a resistência à compactação e reduzir a friabilidade, tanto do granulado, quanto do comprimido preparado a partir dos grânulos contendo o agente aglutinante (CANTOR et al., 2008).

A água é comumente utilizada por razões econômicas e ecológicas, porém, seu uso apresenta algumas desvantagens, como a alteração na estabilidade do fármaco, a hidrólise de fármacos hidrossolúveis e a necessidade de maior tempo de secagem dos grânulos formados (AULTON & SUMMERS, 2013).

Por outro lado, também se utilizam polímeros de origem sintética, semissintética e natural como aglutinante (LI et al., 2011a). Dentre os agentes aglutinantes de origem sintética destaca-se a polivinilpirrolidona (PVP), também chamado de povidona pela farmacopeia americana (USP 31, 2008), um aglutinante frequentemente utilizado na indústria farmacêutica (OSEI-YEBOAH, FENG, SUN, 2014; FONTEYNE et al., 2014).

O PVP é um polímero utilizado como agente ligante no qual pode existir com diversos graus de viscosidade (WALKING, 1994), que estão compreendidos entre K-12 e K-120 (massa molar entre 2500 e 3000000). Na maioria dos estudos o PVP mais utilizado em dispersões é o PVP K-30 (MONEGHINI *et al.*, 1998; AHMAD-FATTAH, BHARGAVA, 2002;

PARADKAR *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2011a; OSEI-YEBOAH, FENG, SUN, 2014; FONTEYNE *et al.*, 2014).

Em relação aos aglutinantes de origem natural, pode-se citar os derivados celulósicos como a etilcelulose (EC), a hidroxietilcelulose (HPMC), a carboximetilcelulose, dentre outros (VILLANOVA, ORÉFICE, CUNHA, 2010).

3.7.2 Granulação seca

A granulação seca envolve a formação do grânulo sem a utilização do líquido aglutinante, uma vez que o produto pode ser sensível à umidade e temperatura (AGRAWAL & NAVEEN, 2011; NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015; SHANMUGAN, 2015). Nesse processo, as partículas de pó seco podem ser unidas por alta pressão. Existem dois métodos usuais: a produção de briquetes (grandes comprimidos) em uma prensa de alta carga ou o esmagamento dos pós entre dois rolos (compressão por rolos) produzindo fitas do material que deve ser posteriormente moído para a obtenção dos grânulos (AULTON & SUMMERS, 2013; NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015).

De acordo com Nordström e Alderborn (2015), um dos problemas relacionados com a compactação por rolos é a variação na obtenção das fitas e, conseqüentemente, a variação no aspecto final dos comprimidos produzidos com esses grânulos. Uma outra questão que preocupa, dentro do contexto da granulação seca, é a perda da capacidade de compactação dos granulados em relação à matéria-prima original (NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015), ou seja, comprimidos produzidos a partir de granulados preparados por granulação seca possuem menor resistência à tração do que comprimidos produzidos por compressão direta (PATEL *et al.*, 2011b; NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015). A ocorrência desse fenômeno foi explicada por Herting e Kleinebudde (2008) como sendo um resultado do aumento do tamanho do grânulo durante a granulação ou também, que a resistência dos granulados durante a deformação plástica foi aumentada.

Segundo Shanmugan (2015), não houveram muitos progressos a respeito das técnicas de granulação seca em comparação com a granulação úmida, com exceção de um novo sistema patenteado por Politi e Heilakka (2008) e (2010) como granulação seca pneumática. Esse método utilizou compactação por rolos juntamente com a classificação pneumática de modo a

produzir grânulos com parâmetros de fluidez e compressibilidade considerados ótimos. De acordo com os autores, o método foi capaz de aumentar a velocidade de processamento, diminuir o custo da produção e o desperdício de material, além de diminuir a produção de poeira em função da utilização da câmara de ar.

O Quadro 2 sumariza os recentes progressos de técnicas e tecnologias utilizadas no preparo de grânulos por via úmida e seca.

Quadro 2. Resumo das novas técnicas e tecnologias de preparo de grânulos (Adaptado de SHANMUGAN, 2015).

Técnica/ Tecnologia	Descrição	Características do grânulo	Vantagens	Limitações	Equipamento
Granulação seca pneumática	Granulação seca Suave compactação e classificação pneumática de granulometria	✓ Poroso, altamente compressível ✓ Rápida desintegração	✓ Fármacos termolábeis e sensíveis à umidade ↑ Estabilidade do produto ↓ Custos e resíduos	× Qualidade de grânulos reciclados × Potencial de segregação × Friabilidade	Compactação por rolos com corrente de ar ou vácuo
Granulação úmida reversa	Granulação úmida Líquido de granulação: água ou solvente	✓ Umedecimento uniforme ✓ Erosão uniforme	↓ Tamanho de partícula ✓ Forma esférica ✓ Fármacos pouco solúveis em água	× Partículas grandes × Baixa porosidade × Problemas semelhantes à granulação convencional	Misturador de alta velocidade
Granulação a vapor	Granulação úmida Líquido de granulação: vapor	↑ Taxa de difusão ↑ Distribuição uniforme ↑ Área superficial ✓ Forma esférica	✓ Ambientalmente correto ✓ Estéril ✓ Sem uso de solventes ✓ Sem danos à saúde	✓ Superaquecimento/ umedecimento × Alto consumo de energia × Fármacos termolábeis	Misturador de alta velocidade com gerador de vapor
Granulação seca ativada por umidade	Granulação úmida Líquido de granulação água (1-4 %) e material absorvente de umidade	✓ Tamanho uniforme ↑ Fluxo ↑ Compressibilidade	✓ Menor gasto de energia ✓ Sem processo de secagem ✓ Ampla aplicação ✓ Processo contínuo ↓ Tempo de processamento	× Fármacos sensíveis à umidade × Impossível alta carga de fármaco × Absorventes limitados	Misturador de alto cisalhamento acoplado a pulverizador
Granulação de aderência térmica	Granulação úmida Pouca água/solvente como líquido de granulação e aquecimento entre 30-130 °C	✓ Fluxo ✓ Friabilidade Resistência à tração	↑ Carregamento de fármaco ✓ Sem processo de secagem Poeira	× Alto consumo de energia × Fármacos termolábeis e sensíveis à umidade × Aglutinantes limitados	Misturador acoplado com sistema de aquecimento
Freeze granulation	Granulação úmida Spray congelante e subsequente liofilização para obtenção de pasta ou suspensão	✓ Tamanho uniforme ✓ Fluidez ✓ Forma esférica	↑ Homogeneidade granular ✓ Fármacos termolábeis ✓ Controle da densidade granular ↓ Desperdício	× Somente para transformação de pasta e suspensão em grânulos	Spray congelante acoplado a liofilizador
Granulação por fusão (melt granulation)	Granulação úmida Aglutinante fundível como líquido granulador a temperatura de 50-90 °C	✓ Liberação modificada ↑ Dissolução	✓ Sem água ou solvente ✓ Sem processo de secagem ↓ Custo energético ↓ Custo e tempo de processo ✓ Fármacos solúveis em água	× Fármacos termolábeis × Aglutinantes limitados	Misturador de alto cisalhamento Leito fluidizado
Granulação com espuma (foam granulation)	Granulação úmida Espuma como aglutinante	✓ Distribuição uniforme do aglutinante ✓ Sem excesso de umidade ↑ Área superficial	↓ Água ↓ Custo e tempo de processo ✓ Fármacos solúveis em água	× Aglutinantes limitados	Misturador de alto cisalhamento; Leito fluidizado acoplado com gerador de espuma

↑ aumento ou maior; ↓ diminuição ou redução; ✓ possibilidade ou disponibilidade; × não aplicável, inadequado ou não recomendado.

3.8 TEOFILINA

As metilxantinas compreendem um grupo de substâncias derivadas das xantinas que pertencem ao grupo dos alcaloides os quais podem ser encontrados na natureza, particularmente no chá (*Camellia sinensis* L.), café (*Coffea* sp.) e cacau (*Theobroma cacao* L.), cujos principais representantes são cafeína, teobromina e teofilina (Figura 14) (BUENO, 2003).

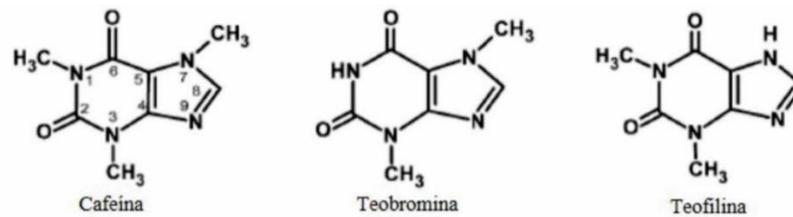


Figura 14. Estrutura química das metilxantinas (MONTEIRO et al., 2016).

A teofilina é a 1,3-dimetilxantina, um fármaco bem conhecido e utilizado como modelo no desenvolvimento de formulações (MONTEIRO et al., 2016) em função de seu conhecido perfil farmacocinético (GLYNN-BARNHART, HILL, SZEFLER, 1988), além das técnicas de doseamento serem realizadas por espectrometria na região do UV/vis (USP 31, 2008).

De acordo com as farmacopeias britânica (2001), americana (USP 31, 2008) e europeia (2007) a teofilina é um pó branco ou quase branco, cristalino, levemente solúvel em água e moderadamente solúvel em etanol sendo o broncodilatador oral mais frequentemente prescrito (BARNES, 2003), embora, de acordo com o recente guia internacional de tratamento da asma (*Global Initiative for Asthma Guidelines*, 2015), o fármaco tenha sido indicado como de terceira escolha em função de possuir uma estreita janela terapêutica ($5\text{-}15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), sendo que frequentes efeitos adversos ocorrem em altas concentrações séricas (acima de $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (MA et al., 2016).

Muitos estudos, ao longo dos anos, reportaram resultados envolvendo características farmacocinéticas da teofilina tornando o fármaco um modelo de estudos. Sabe-se que os efeitos da teofilina por via oral são rápidos, com picos de concentração sérica após 2h da administração e meia-vida de eliminação entre 3 e 5h para pacientes pediátricos e para adultos entre 5 e 6h (MA et al., 2016).

A escolha da teofilina para o desenvolvimento do presente estudo levou em consideração a sua conhecida aplicabilidade como fármaco modelo, conforme citado anteriormente, e por estudos já terem sido desenvolvidos pelo grupo de pesquisa (FAVERO et al., 2009; BIANCHI et al., 2011).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi dividido em duas Etapas a fim de auxiliar na compreensão da proposta, partindo do uso como matéria-prima de dois tipos de biomassas residuais: aparas de papel e caule de tabaco, que foram utilizadas no desenvolvimento de produtos. A Etapa 1 contempla os ensaios de caracterização das biomassas. A Etapa 2 apresenta a utilização das nanofibras de celulose como aglutinante no preparo de grânulos de teofilina.

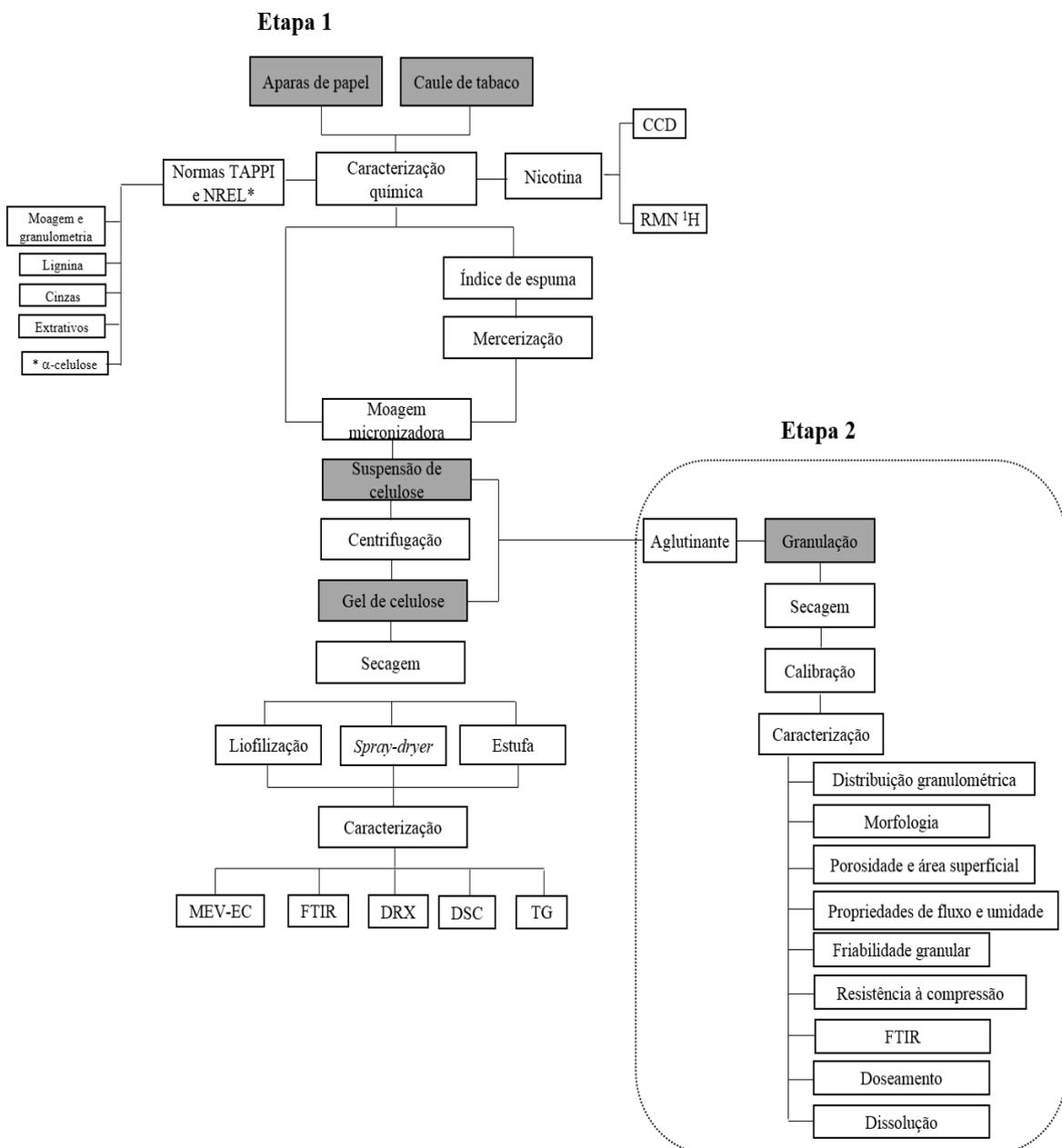


Figura 15. Fluxograma dos processos desenvolvidos nas Etapas 1 (ensaios com as biomassas) e Etapa 2 (utilização das nanofibras de celulose como aglutinante para preparação de grânulos de teofilina).

4.1 MATERIAIS

O Quadro 3 apresenta os materiais utilizados e faz referência aos fornecedores e seu país de origem.

Quadro 3. Relação de materiais utilizados com suas respectivas marcas/fornecedor e país de origem.

Material	Marca/Fornecedor	País
Biomassa residual da indústria do papel	Celulose Rio-Grandense S.A.	Brasil
Biomassa residual de caule de tabaco	Recon Inc	Brasil
Teofilina	Sigma-Aldrich/ Siegfried Evionnaz	China / Suíça
Lactose	All Chemistry	Suíça
Polivinilpirrolidona (PVP)	All Chemistry	China
Celulose microcristalina (CMC)	All Chemistry	Brasil
Padrão de nicotina 99,1%	Sigma-Aldrich	Alemanha
Metanol	Vetec	Brasil
Tolueno	Vetec	Brasil
Acetato de etila	Vetec	Brasil
Dietilamina	Vetec	Brasil
Hidróxido de amônia	Lafan	Brasil
Reagente de Dragendorff:		
- ácido acético glacial	Lafan	Brasil
- subnitrato de bismuto	Synth	Brasil
- iodeto de potássio	Synth	Brasil
Hidróxido de sódio	Vetec	Brasil
Ácido acético	Lafan	Brasil
Benzeno	Merck	Alemanha
Etanol P.A.	Dinâmica	Brasil
Clorofórmio deuterado	Sigma-Aldrich	Alemanha
Ácido clorídrico 97,1 %	Vetec	Alemanha
Cápsula incolor 00	All Chemistry	Brasil

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Ensaios com as biomassas – Etapa 1

Na Figura 16 são apresentadas as imagens *in natura* das biomassas utilizadas neste estudo, e a partir das quais, a nanocelulose foi obtida: aparas de papel (AP) (Celulose Rio-Grandense S.A., Brasil) e caule de tabaco (CT) da variedade Virgínia, safra 2014/2015 (Recon Inc., Brasil).



Figura 16. Biomassa de (a) aparas de papel (*Eucalyptus* sp.) e (b) caule de tabaco (variedade Virgínia) antes do processo de secagem em estufa.

A amostra de biomassa de aparas de papel foi utilizada conforme enviada pelo fornecedor. As análises referentes à matéria-prima para essa biomassa foram em menor quantidade em relação à biomassa da indústria fumageira. Isso ocorreu porque a biomassa de aparas de papel foi previamente processada na indústria. Entre os processos químicos que esta matéria-prima foi submetida destaca-se o branqueamento.

A biomassa de caule de tabaco necessitou de uma triagem para separar os caules com melhor qualidade e menor sujidade. Em seguida, os caules foram desidratados, Figura 17(a) em estufa com circulação de ar (De Leo, Brasil) a 40 ± 5 °C por 10 dias (Laboratório Farmacognosia, FCOG – UCS). Na sequência, após a secagem, os caules foram triturados, Figura 17(b), em moinho de facas (Willye TE 650, Tecnal, Brasil), FCOG-UCS, para posterior armazenamento. Para todas as análises realizadas, as amostras de caule de tabaco foram utilizadas na forma de pó.

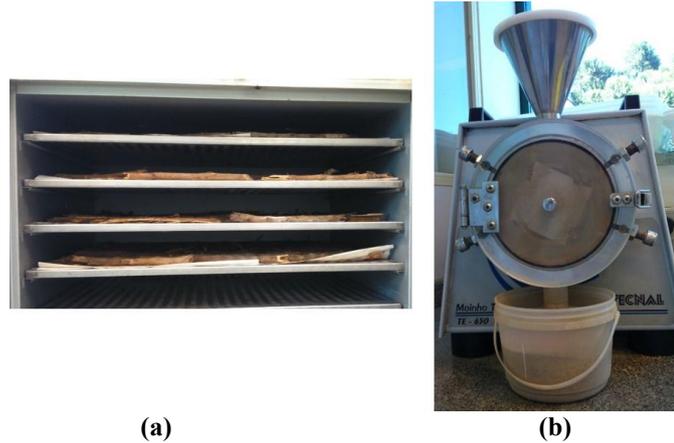


Figura 17. (a) Disposição dos caules de tabaco nas bandejas da estufa para secagem e, (b) moagem dos caules de tabaco em moinho de facas após secagem.

4.2.1.1 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por cromatografia em camada delgada

Foi realizado um ensaio de cromatografia em camada delgada (CCD) (FCOG – UCS) como uma análise qualitativa com o objetivo de determinar a presença de nicotina no caule de tabaco. O procedimento foi realizado de acordo com metodologia proposta por Wagner & Bladt (2001) no qual 1 g de amostra bruta de caule de tabaco foi misturada com 1 mL de solução de amônia 10% e então foi realizada a extração com 5 mL de metanol (Vetec, Brasil), por 10 minutos sob refluxo (Figura 18). O filtrado foi concentrado com metanol. A fase móvel foi preparada em cuba de vidro na proporção de 70:20:10 (v/v/v) de tolueno, acetato de etila e dietilamina, todos da Vetec (Brasil). Foi utilizada uma placa de sílica gel F₂₅₄ (Merck, Alemanha) sem fluorescência. Foram utilizadas amostras de pó de caule de tabaco (I), pó de folhas de tabaco (II) e mistura para cigarro (III), fornecidos pela Recon Inc. (Brasil), preparadas da mesma forma que o caule, utilizando como comparativo o padrão de nicotina 99,1% (IV) (Sigma-Aldrich, Alemanha).

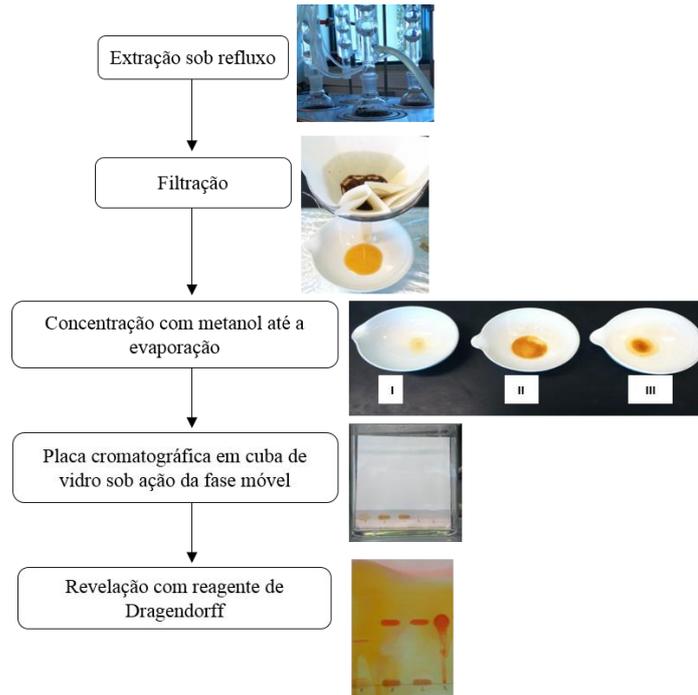


Figura 18. Esquema das etapas para obtenção de extrato metanólico para aplicação em placa cromatográfica e realização de CCD.

Sendo a nicotina um alcaloide incolor utilizou-se o reagente de Dragendorff como agente de detecção da placa cromatográfica, cujas manchas apareceram na região da luz visível. A indicação da presença dos alcaloides pode ser caracterizada com o aparecimento das cores marrom ou marrom-alaranjado imediatamente após a revelação. Os resultados foram expressos em termos de Fator de Retenção (R_f) obtido com a aplicação da Equação 1 (LADE et al., 2014). Essa distância é medida em centímetros.

$$R_f = \frac{\text{distância percorrida pela substância (cm)}}{\text{distância percorrida pelo solvente (cm)}} \quad (\text{Eq.1})$$

4.2.1.2 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por ressonância magnética nuclear de próton

A verificação da presença de nicotina na amostra de caule de tabaco com extrativos (CTE) e da amostra de caule de tabaco sem extrativos (CTSE) foi realizada por ressonância magnética nuclear de próton (RMN ^1H) em um espectrofotômetro Bruker Fourier 300

(Alemanha) no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos (LBIOP), operando em 300 MHz. O solvente utilizado foi o clorofórmio deuterado (CDCl_3) (Sigma-Aldrich, Alemanha). Para o preparo da amostra, 40 mg da amostra CTE e CTSE foram submetidas à extração com 1,0 mL de CDCl_3 em banho de ultrassom (Petrodidática, Brasil) por 30 minutos. Após, 600 μL foram transferidos para um tubo de RMN e analisados. Os deslocamentos químicos (δ) são apresentados em partes por milhão (ppm).

4.2.1.3 Determinação do índice de espuma e pré-tratamento da biomassa de caule de tabaco

Em um ensaio preliminar de moagem das biomassas para obtenção de nanocelulose, foi observado a produção de espuma com a biomassa residual de caule de tabaco contendo extrativos (CTE). A espuma produzida pode ser um indicativo da presença de saponina na amostra. Portanto, realizou-se um estudo de determinação do índice de espuma na biomassa de caule de tabaco com extrativos (CTE). A presença de espuma na amostra foi comprovada pelo ensaio de índice de espuma e a produção minimizada com o pré-tratamento descrito a seguir.

Foi realizado, como método de comprovação da formação de espuma na biomassa de caule de tabaco (FCOG – UCS), um ensaio de determinação de índice de espuma de acordo com o descrito na Farmacopeia Brasileira V (2010). Nesse ensaio se estabelece uma relação entre a quantidade de espuma produzida e as saponinas espumílicas presentes. Por conceito, o índice de espuma expressa a quantidade de líquido extrator que seria necessário para produzir um extrato aquoso com 1 g da droga vegetal que exiba anel de espuma, Figura 19(a, b), com 1 cm de espessura após agitados, nas condições do experimento.

Quando confirmada a presença de espuma na biomassa de caule de tabaco, faz-se necessária a realização de uma metodologia de pré-tratamento capaz de diminuir a produção de espuma. A mercerização é uma técnica que pode ser usada com esta finalidade, Figura 19(c, d), e que consiste no aquecimento constante a 100 °C em solução de hidróxido de sódio (NaOH) (Vetec, Brasil) 1,0% (m/v) por 90 minutos com posteriores lavagens com água destilada até a neutralização do pH com solução de ácido acético (Lafan, Brasil) 20 % (v/v) e filtração simples (LI, WU, YU, 2014).

Para a realização do método de mercerização a proporção utilizada de amostra e solução foi de 30 g de amostra para 250 mL de solução. Após a filtração e neutralização a

amostra é seca em estufa com circulação de ar (Tecnal, Brasil) a 105 °C por 24 h para armazenamento e, dessa forma, evitar a proliferação de microrganismos.

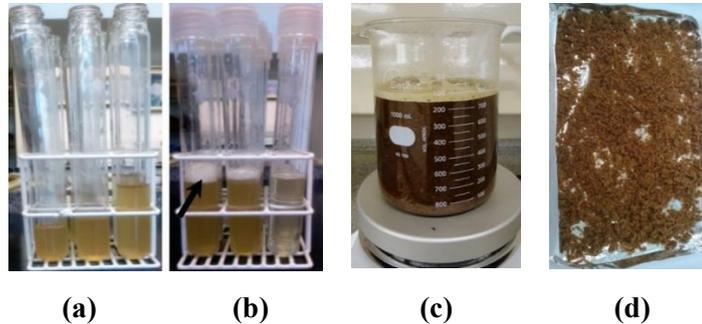


Figura 19. (a) Ensaio de determinação do índice de espuma com tubos de ensaio contendo a amostra com extrativos (CTE), (b) confirmação da formação de espuma (indicado pela seta) na amostra CTE; (c) pré-tratamento (mercerização) da amostra de caule de tabaco bruto, (d) celulose de caule de tabaco mercerizado e seco.

4.2.1.4 Fibrilação mecânica para obtenção de nanofibras de celulose

As biomassas de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) após pré-tratamento com hidróxido de sódio (Vetec, Brasil) 1,0% (m/v) foram processadas em moinho micronizador Masuko[®] MCKA 6-2J (Japão) (LPOL-UCS) (Figura 20). O moinho consiste de dois discos de pedra, sendo um disco giratório e um disco estático com uma abertura ajustável entre os dois. As amostras celulósicas e a água passam entre os discos e, a partir do atrito gerado entre as fibras e os discos em função da alta rotação, as fibras são desfibriladas. Obtém-se no moinho uma suspensão aquosa de celulose.

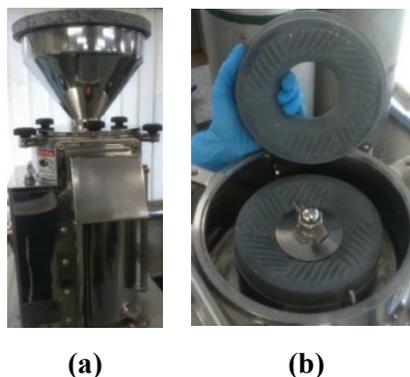


Figura 20. (a) Vista frontal do moinho micronizador, (b) Vista superior dos discos de pedra utilizados na desfibrilação.

As biomassas de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) foram processadas em duas concentrações, 0,5 e 2,0% (m/v), comprovadas em ensaio de determinação da perda por dessecação (item 4.2.1.5), para ambas as amostras durante 5 horas com rotação dos discos a 2500 rpm sem espaçamento entre as pedras (LAVORATTI, SCIENZA, ZATTERA, 2016).

A Tabela 1 apresenta as codificações e as proporções utilizadas na obtenção das suspensões de celulose.

Tabela 1. Codificação e composição das amostras utilizadas para alimentação do moinho micronizador.

Tipo de suspensão*	Composição	Concentração teórica (% m/v)
SNFCAP_05	Biomassa aparas de papel	0,5
	Água destilada	qsp 6L
SNFCAP_2	Biomassa aparas de papel	2,0
	Água destilada	qsp 6L
SNFCT_05	Biomassa caule tabaco	0,5
	Água destilada	qsp 6L
SNFCT_2	Biomassa caule tabaco	2,0
	Água destilada	qsp 6L

*SNFCAP_05: Suspensão de nanofibras de celulose aparas de papel 0,5%; SNFCAP_2: Suspensão de nanofibras de celulose aparas de papel 2,0%; SNFCT_05: Suspensão de nanofibras de celulose caule tabaco 0,5%; SNFCT_2: Suspensão de nanofibras de celulose caule tabaco 2,0%; qsp: quantidade suficiente para.

As proporções adotadas foram baseadas em trabalhos que utilizaram este moinho na concentração entre 1 e 4,0 % de massa seca de biomassa (IWAMOTO et al., 2009; GANE et al., 2012; SPENCE et al., 2011; VARTIAINEN, et al., 2011; LENGOWSKI, 2012; VIANA, 2013; LAVORATTI, SCIENZA & ZATTERA, 2016; TUZZIN et al., 2016).

Após a obtenção das suspensões de celulose estas foram centrifugadas em centrífuga Nova Técnica NT 820 (Brasil) (LPOL – UCS) a 4500 rpm por 5 min (Figura 21) e o decantado obtido, denominado de gel, foi utilizado na Etapa 2.

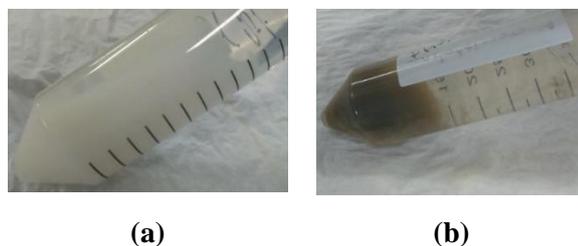


Figura 21. Separação de fases das amostras de (a) Suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel (SNFCAP) e (b) Suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco (SNFCT).

A utilização das nanofibras de celulose tanto na forma de suspensão, quanto de gel teve por intuito avaliar se a presença de maior ou menor quantidade de água influenciaria na

atividade aglutinante das nanofibras. Dessa forma, conforme apresentado na Tabela 1, foram preparados suspensões e géis nas concentrações teóricas de 0,5 e 2,0 % (m/v).

4.2.1.5 Determinação da perda por dessecação

A confirmação das concentrações teóricas obtidas nas suspensões e gel (0,5 e 2,0 %, m/v) após o processo de moagem foi realizada em triplicata pela determinação da perda por dessecação, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira V (2010).

Foram utilizados aproximadamente 2 g das suspensões e géis de celulose de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) e transferidos para placas de Petry previamente calibradas. O ensaio foi conduzido em estufa com circulação de ar (Tecnal, Brasil) a 105 °C até peso constante.

A percentagem de perda por dessecação (Pd) foi obtida aplicando-se a Equação 2.

$$Pd = \frac{Pu - Ps}{Pa} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que Pa é a massa da amostra; Pu é a massa da placa de Petry contendo a amostra antes da dessecação e, Ps é a massa da placa de Petry contendo a amostra após a dessecação.

4.2.1.6 Secagem das suspensões de celulose

A secagem da celulose pode promover a aglomeração das fibrilas inibindo a obtenção das nanofibras de celulose (NFC) e, portanto, três diferentes métodos foram testados para as biomassas de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) nas concentrações avaliadas (0,5 e 2,0 %, m/v): liofilização (L), *spray drying* (SD) e estufa (E) de modo a elencar a técnica que permita a melhor visualização das nanofibras por microscopia eletrônica de varredura.

Para a obtenção de amostras liofilizadas, as suspensões de celulose foram secas em um liofilizador Lio Top, modelo L-101 Liobrás (Brasil) (Laboratório de Microbiologia Aplicada – UCS) com temperatura de congelamento de -50°C por 24 h. Em seguida, as amostras foram

transferidas separadamente para uma câmara de vácuo (Lio Top, L-101, Liobrás, Brasil) para a sublimação do gelo com vácuo inicial de 500 μHg e final de 100 μHg (ZANINI et al., 2016).

Para a secagem por *spray drying* (SD), as suspensões de celulose foram secas em um equipamento Büchi mini *spray dryer* B-290 (Suíça) (Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF) –UFRGS) no modo aberto, usando ar comprimido e uma taxa de 4 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A temperatura de entrada e saída foram de 150 °C e 89 °C, respectivamente.

No terceiro teste, as amostras foram secas em estufa com circulação de ar (Tecnal, Brasil) (FCOG – UCS) a 105 °C (PENG, GARDNER & HAN, 2012), por 2 h.

4.2.1.7 Análise morfológica das nanofibras de celulose

As análises morfológicas foram realizadas para as amostras de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) após a moagem em moinho micronizador e secagem, utilizando um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-EC) Tescan, modelo Mira 3 (República Tcheca), do Laboratório Central de Microscopia Professor Israel Baumvol (LCMic - UCS) com tensão de aceleração de 5 kV, de modo a evidenciar a presença das nanofibras de celulose. Uma pequena fração das amostras secas foram cuidadosamente transferidas para porta-amostras contendo fita adesiva condutora e realizada a deposição de ouro por 1 minuto. As medidas das fibrilas em cada imagem foram obtidas utilizando o *software* ImageJ.

4.2.1.8 Determinação dos constituintes lignocelulósicos

A determinação dos constituintes lignocelulósicos presentes nas amostras de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) com extrativos (CTE) e sem extrativos (CTSE) após a moagem, foram realizadas no FCOG – UCS de acordo com as normas padronizadas pela *Technical Association of Pulp and Paper Industry* (TAPPI). O Quadro 4 apresenta as normas utilizadas para cada procedimento.

Quadro 4. Normas TAPPI para caracterização dos constituintes das biomassas de aparas de papel e caule de tabaco (Adaptado de TAPPI, 2014).

Norma	Objetivo
T 257 cm-12	Moagem e classificação granulométrica.
T 204 cm-97	Determinação de extrativos com extrações sequenciais em Soxhlet utilizando os solventes etanol (Dinâmica, Brasil) – benzeno (Merck, Alemanha) (1:2), etanol e água, com duração de 8 h para cada solvente.
T 211 om-02	Determinação do teor de cinzas a 525 ± 5 °C .
T 222 om-02	Determinação do teor de lignina insolúvel em ácido após a digestão em solução de H ₂ SO ₄ (Vetec, Brasil) 72% (v/v).
T 203 cm-99*	Determinação do teor de celulose insolúvel em solução de NaOH (Vetec, Brasil) 17,5% (m/v) e 9,75% (m/v).

*Norma aplicada apenas para determinação de celulose nas amostras de aparas de celulose.

A determinação de celulose nas biomassas de caule de tabaco com extrativos e sem extrativos foi realizada conforme metodologia descrita no manual da *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) (Laboratório de Enzimas e Biomassa - UCS) de *Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass* (2012), no qual o branqueamento da amostra não foi necessário. O método compreendeu a realização de hidrólise ácida constituída em dois passos para fracionar a biomassa de modo que a quantificação se torne mais fácil. Durante a hidrólise, os carboidratos poliméricos foram hidrolisados a monômeros, que foram, então, analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

O teor de umidade (TU%) foi realizado em balança de dessecação por infravermelho (Mettler Toledo HB43, Suíça, no Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos e Cosméticos (LCMEC) – UCS, a 105 °C.

4.2.1.9 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier* das nanofibras de celulose

As amostras de aparas de papel (AP) e caule de tabaco com extrativos (CTE) e caule de tabaco sem extrativos (CTSE) foram avaliadas por Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de *Fourier* (FTIR) em um equipamento Nicolet IS10 - modelo Thermo Scientific (Estados Unidos) (LPOL - UCS). Para o ensaio, foram preparadas pastilhas de brometo de potássio (KBr), previamente secos e examinados na região de 4000 a 400 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹.

4.2.1.10 Difração de raios X das nanofibras de celulose

A cristalinidade da celulose das amostras moídas foi avaliada por difração de raios X (DRX) em um difratômetro Shimadzu XRD-600 (Japão) (LCMicro – UCS) (Cu K α = 0,1542 nm, 40 kV, 30 mA, $2^\circ \leq 2\theta \leq 50^\circ$, $0,05^\circ \text{ s}^{-1}$). O índice de cristalinidade foi calculado de acordo com a fórmula empírica proposta por Segal et al. (1959), conforme apresentado na Equação 3:

$$I = \frac{I_{200} - I_{am}}{I_{200}} \cdot 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Sendo I_{200} o pico de intensidade correspondente ao plano (2 0 0) no ângulo de difração de $2\theta = 22,5^\circ$, e I_{am} a intensidade do vale entre os picos correspondentes aos planos (2 0 0) e (1 1 0) no ângulo de difração de $2\theta = 18^\circ$.

4.2.1.11 Análises térmicas das nanofibras de celulose

A análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) das amostras previamente secas de celulose de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) foi realizada no equipamento DSC-50 da Shimadzu (Japão) (LPOL - UCS), em uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com rampa de aquecimento de 25°C a 270°C . Os valores de entalpia foram obtidos na curva gerada na primeira corrida de aquecimento e resfriamento.

A termogravimetria (TG) das mesmas amostras, previamente secas, foi realizada em um equipamento Shimadzu TGA-50 (Japão) (LPOL - UCS) em atmosfera de N_2 com fluxo de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Foi utilizada uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ com faixa de temperatura de 23 a 800°C . A massa utilizada no ensaio foi de aproximadamente 10 mg.

4.3 UTILIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DAS BIOMASSAS PARA A PREPARAÇÃO DE GRANULADOS – ETAPA 2

4.3.1 Desenvolvimento dos granulados

A granulação é uma etapa comumente realizada para a produção de comprimidos e envolve a utilização de aglutinantes, que são polímeros de origem sintética, semissintética ou natural. Partindo dessa ideia, foram utilizadas as nanofibras de celulose obtidas do processo de moagem e co-processadas como aglutinante na preparação de granulados. A atividade aglutinante das nanofibras de celulose (NFC) foi comparada com a polivinilpirrolidina (PVP) (All Chemistry, Brasil), um polímero sintético comumente utilizado na indústria farmacêutica. A escolha da teofilina como fármaco foi em função de seu perfil já ter sido amplamente estudado (GLYNN-BARNHART, HILL, SZEFLER, 1988; MA et al., 2016).

Foram desenvolvidas 26 formulações contendo as nanofibras de celulose das aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT), (13 com teofilina e nanofibras de celulose e 13 amostras controle – denominadas Branco) pelo processo de granulação úmida no qual a mistura foi realizada em gral de porcelana e os granulados produzidos em mini granulador oscilatório (Lemaq, Brasil) utilizando malha com abertura de 2,0 μm . A Figura 22 apresenta, na forma de fluxograma, as etapas do processo de granulação das substâncias teofilina anidra (Sigma-Aldrich, Brasil e Siegfried Evionnaz, Suíça), que atua como o princípio ativo e lactose (All Chemistry, Brasil), com função diluente, utilizando nanofibras de celulose como aglutinante.



Figura 22. Esquema das etapas do processo de granulação dos pós de teofilina e lactose utilizando nanofibras de celulose como aglutinante.

A umectação da mistura de pós foi realizada utilizando os produtos obtidos da moagem das biomassas de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT), sendo elas: suspensão de NFC, gel de NFC (obtido a partir do co-processamento - centrifugação da suspensão, descrito no item 4.2.1.4) e uma mistura binária de gel de NFC com PVP como aglutinante. Todas as versões dos produtos da moagem foram produzidas nas duas concentrações avaliadas na Etapa 1: 0,5 e 2,0% (m/v) de NFC. O Quadro 5 apresenta a formulação das amostras com PVP e com nanofibras de celulose das biomassas em estudo. As concentrações utilizadas foram embasadas em testes prévios de bancada utilizando concentrações de aglutinante (PVP, suspensões e géis de NFC) variando entre 2,0 e 15%. A concentração apresentada no Quadro 5 foi a melhor dentre as testadas.

Quadro 5. Formulação dos grânulos de teofilina com NFC como aglutinante.

Componentes	Concentração (%, m/m)	Função
Teofilina	50	Princípio ativo
Lactose	42,5	Diluyente
Aglutinante*	7,5	Aglutinante

*Os aglutinantes utilizados estão listados no Quadro 6.

Também foram produzidos grânulos controle chamados de Branco (B), cuja formulação é apresentada no Quadro 6.

Quadro 6. Formulação dos grânulos controle (Branco) sem teofilina produzidos com NFC como aglutinante.

Componentes	Concentração (%, m/m)	Função
Lactose	92,5	Diluyente
Aglutinante*	7,5	Aglutinante

*Os aglutinantes utilizados estão listados no Quadro 7.

Estes granulados foram produzidos somente com lactose e aglutinante na mesma concentração da formulação apresentada no Quadro 5 que contém teofilina. A massa de teofilina na formulação dos granulados controle (Branco) foi compensada por lactose para que a massa total de pó da formulação controle correspondesse a da formulação contendo teofilina.

A mistura de gel de nanofibras de celulose com PVP para ambas as biomassas foi realizada na proporção de 80 % em massa de gel de nanofibras e 20 % em massa de PVP.

Para utilizar como comparativo de todas as formulações, foram preparados grânulos de teofilina empregando como aglutinante o PVP na concentração apresentada no Quadro 7.

Quadro 7. Descrição, codificação e concentração dos aglutinantes contendo nanofibras de celulose (NFC) e PVP para desenvolvimento de granulados com teofilina.

Aglutinante	Sigla	Concentração (%, m/m)
Solução etanólica de polivinilpirrolidona (PVP)	SPVP	7,5
Suspensão de nanofibras de celulose aparas papel 0,5%	SNFCAP_05	7,5
Suspensão de nanofibras de celulose aparas papel 2,0%	SNFCAP_2	7,5
Suspensão de nanofibras de celulose caule tabaco 0,5%	SNFCT_05	7,5
Suspensão de nanofibras de celulose caule tabaco 2,0%	SNFCT_2	7,5
Gel de nanofibras de celulose aparas papel 0,5%	GNFCAP_05	7,5
Gel de nanofibras de celulose aparas papel 2,0%	GNFCAP_2	7,5
Gel de nanofibras de celulose caule tabaco 0,5%	GNFCT_05	7,5
Gel de nanofibras de celulose caule tabaco 2,0%	GNFCT_2	7,5
Gel de nanofibras de celulose aparas papel 0,5% com PVP	GNFCAP_05+PVP	7,5
Gel de nanofibras de celulose aparas papel 2,0% com PVP	GNFCAP_2+PVP	7,5
Gel de nanofibras de celulose caule tabaco 0,5% com PVP	GNFCT_05+PVP	7,5
Gel de nanofibras de celulose caule tabaco 2,0% com PVP	GNFCT_2+PVP	7,5

Após a preparação dos grânulos, estes foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar (Tecnal, Brasil) a 40 °C por 24 h para a remoção da umidade (FONTEYNE et al., 2014). Sequencialmente, os granulados foram classificados em tamises (Petrodidática, Brasil) com aberturas nominais de malha de 1,18 µm; 710 µm; 500 µm; 355 µm; 250 µm e 180 µm e avaliados quanto ao percentual retido em cada fração de tamis aplicando a Equação 4.

$$\% \textit{ retido} = \frac{m1}{m2} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

Sendo *m1* a massa retida em cada tamis (g); *m2* a soma das massas retidas em cada tamis e no coletor (g) (BRASIL, 2010).

4.3.2 Distribuição granulométrica por difração à laser

A análise de distribuição granulométrica das amostras de granulados com teofilina e controle foram realizadas em equipamento Cilas 1180L (França) (LACER–UFRGS) utilizando-se 2 g de amostra e óleo de silicone como líquido de análise. As amostras foram submetidas a ultrassom por 60 segundos. Os resultados foram expressos em termos da distribuição do diâmetro dos grânulos a 10 % (d_{10}), 50 % (d_{50}) e 90 % (d_{90}). Estes parâmetros foram usados para calcular o índice de polidispersão (IP) usando a Equação 5 (AL-AKAYLEH et al., 2013).

$$IP = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \quad (\text{Eq.5})$$

4.3.3 Análise morfológica dos granulados

4.3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo

As análises morfológicas foram realizadas para as amostras de granulados utilizando um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-EC) Tescan, modelo Mira 3 (República Tcheca) (LCMic - UCS), com tensão de aceleração de 15 kV. Os aumentos utilizados foram de 60 x e 250 x. Todas as amostras sofreram impregnação com ouro por aproximadamente 3 minutos para evitar eventuais interferências.

4.3.3.2 Microscopia óptica

As amostras de granulado também foram analisadas por microscopia óptica (MO) em microscópio óptico Zeiss, modelo Axio (Alemanha) com câmera de vídeo embutida. O

microscópio é dotado de lentes oculares com aumento de 10 x. Para as amostras foram utilizadas lentes objetivas com aumento de 40 x resultando no aumento total de 50 x.

4.3.4 Porosidade e área superficial

Medidas de adsorção de nitrogênio para a obtenção do volume total dos poros, distribuição do tamanho dos poros e área superficial dos granulados com e sem teofilina foram conduzidas a 77,3 K no equipamento Quantachrome Instruments (modelo Nova 1200e, Estados Unidos) (LEBio – UCS). O volume total dos poros determinados na fase de adsorção, é referente ao volume dos poros que são menores do que 100 nm. A área superficial dos poros foi determinada pela isoterma de adsorção baseada na teoria de Brunauer, Emmet e Teller (BET) o qual foram medidos 12 pontos de adsorção e 15 pontos de dessorção utilizando uma temperatura de 200 °C (WESTERMARCK et al., 1998). A massa utilizada para as amostras foi de aproximadamente 300 mg, sendo previamente preparadas antes do ensaio pelo processo de degaseificação. A degaseificação tem a finalidade de remover interferentes presentes na superfície do sólido. O processo foi conduzido utilizando vácuo à temperatura de 380 °C durante 20 h.

4.3.5 Determinação da umidade e das propriedades de fluxo dos granulados

A determinação do teor de umidade (TU%) dos granulados foi realizada em triplicata em balança de dessecação por infravermelho (Mettler Toledo HB43, Suíça) (LCMEC – UCS).

Para a avaliação das propriedades de fluxo foram empregados métodos indiretos, sendo os granulados submetidos a ensaios de densidade, índice de compressibilidade (IC%), proporção de Hausner (PH) e ângulo de repouso (α). A determinação da densidade aparente (*da*) foi realizada manualmente, em triplicata, utilizando-se proveta calibrada. Após a pesagem e tamisação da amostra, utilizou-se para o ensaio o granulado retido na malha de 710 μ m. Transferiu-se para proveta de 100 mL uma massa de aproximadamente 10 g evitando-se a realização de movimentos bruscos. Procedeu-se a leitura do volume ocupado pelo granulado.

A da foi calculada a partir da relação entre a massa e o volume ocupado pela amostra (Equação 6).

A determinação da densidade compactada (dc) procedeu-se de maneira semelhante ao descrito para a da , também em triplicata, porém, após a transferência do granulado para a proveta, esta foi submetida a uma série manual de movimentos simulados de queda (aproximadamente $60 \text{ batidas} \cdot \text{min}^{-1}$) durante 5 minutos. O ensaio foi realizado até que a diferença entre o volume inicial e o volume final fosse igual a 2 mL. Do mesmo modo, a dc foi calculada aplicando-se a Equação 6. Utilizou-se como parâmetro de referência os métodos descritos na Farmacopeia americana (USP 31, 2008) os quais foram adaptados.

$$d = \frac{m}{v} \quad (\text{Eq.6})$$

Sendo m a massa da amostra e v o volume de granulado ocupado na proveta.

Os valores obtidos no ensaio de determinação da densidade foram utilizados para a medição de outras propriedades indiretas de fluxo como proporção de Hausner (PH), índice de compressibilidade (IC%) e ângulo de repouso (α).

A proporção de Hausner é um método usado para avaliar indiretamente as propriedades de fluxo de pós sendo esse a razão entre a densidade de compactação e a densidade aparente (USP 31, 2008).

O índice de compressibilidade (IC%) é outra forma indireta de medir as propriedades de fluxo a partir da densidade aparente. O IC% pode ser calculado aplicando-se a Equação 7

$$IC\% = \frac{dc - da}{dc} \times 100 \quad (\text{Eq. 7})$$

Para a avaliação do ângulo de repouso (α) estático foi realizado método proposto por Prista et al. (2003) baseado na altura fixa do funil (Figura 23). Aproximadamente 10 g da amostra foi transferida para o interior do funil que foi mantido a uma altura de 14 cm da base. O resultado do ângulo de repouso foi obtido em triplicata, a partir da tangente determinada pela altura e raio formado pelo cone da amostra.

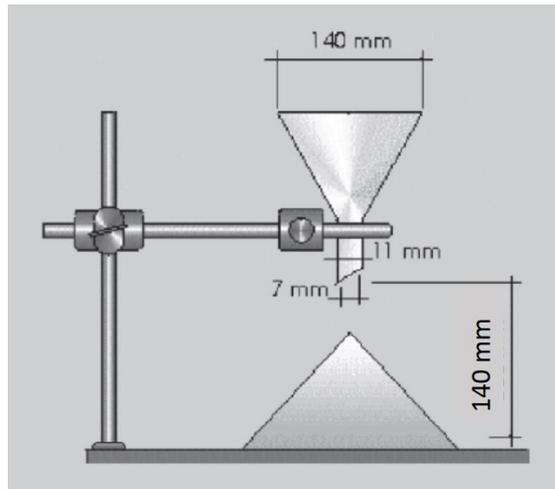


Figura 23. Aparato para determinação do ângulo de repouso (α)
(Adaptado de Lamolha & Serra, 2007).

As classificações dos tipos de fluxo obtidos a partir da avaliação da proporção de Hausner, índice de compressibilidade e ângulo de repouso são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação dos tipos de fluxo para pós e grânulos (USP 31, 2008; GARCIA, PEREIRA, DIAS, 2012).

Tipo de fluxo	Proporção de Hausner (PH)	Índice de compressibilidade (IC%)	Ângulo de repouso (α)
Excelente	1,00 a 1,11	<10 %	25 a 30°
Bom	1,12 a 1,18	11 a 15 %	31 a 35°
Fraco	1,19 a 1,25	16 a 20 %	-
Aceitável	-	-	36 a 40°
Passável	-	-	41 a 45°
Pobre	1,26 a 1,45	21 a 31 %	
	1,35 a 1,45 (para pós coesivos)	16 a 31 % (para pós coesivos)	46 a 55°
Muito pobre	>1,50	>32 %	45 a 65°
Extremamente pobre	-	-	>65°

4.3.6 Friabilidade granular

Para avaliar a friabilidade dos grânulos utilizou-se metodologia adaptada de Li et al. (2011a) realizado em triplicata, no qual foram utilizados 5 g do granulado retido no tamis com abertura nominal de malha 710 μm . Essa massa é equivalente ao volume aparente de 17 mL. Em seguida, a massa de granulado foi transferida para uma proveta de 100 mL e acrescido 2 g

de pérolas de vidro (4 mm de diâmetro, Laborglas, Brasil). A abertura da proveta foi fechada e o suporte plástico removido para facilitar a fixação na cuba do friabilômetro (Nova Ética, modelo 300, Brasil) conforme apresentado na Figura 24.

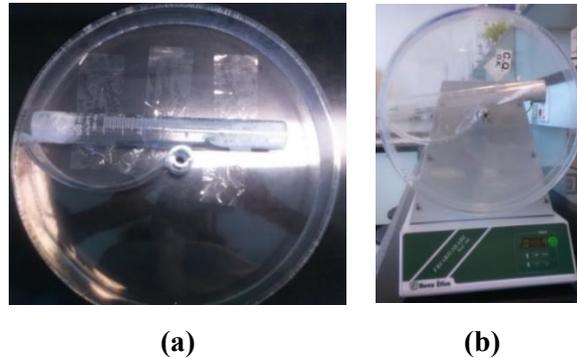


Figura 24. Adaptação de metodologia de friabilidade para avaliação de granulados. (a) Exemplificação da fixação da proveta na cuba do equipamento utilizando fita adesiva e, (b) vista lateral do friabilômetro com a adaptação feita.

As amostras foram submetidas a 25 rpm por 10 minutos. Para medir a perda em função da friabilidade, o conteúdo da proveta (grânulos e pérolas de vidro) foram tamisados em malha de 710 μm por 5 minutos utilizando a vibração 5. Os grânulos retidos na malha de 710 μm e no coletor foram cuidadosamente pesados. A friabilidade (f) foi calculada de acordo com a Equação 8.

$$f = 1 - \left(\frac{y}{x}\right) \cdot 100 \quad (\text{Eq.8})$$

Sendo y a massa da amostra retida na malha de 710 μm após o ensaio e x a massa inicial da amostra.

4.3.7 Ensaio de resistência à compressão de múltiplos grânulos

Aproximadamente 65 mg de amostra foram pesados ($n=5$) e cuidadosamente transferidos para um *probe* cilíndrico com diâmetro interno de 10 mm para evitar espaços vazios e irregularidades. As análises foram conduzidas utilizando o texturômetro TA-XT plus, Stable Micro Systems (Reino Unido) (CDTF – UFRGS) (Figura 25). Todos os ensaios foram

realizados utilizando célula de carga de 5 kg. Os parâmetros utilizados foram determinados embasado no trabalho de Patel et al. (2011b). Os grânulos foram comprimidos a uma velocidade de $2 \text{ mm}\cdot\text{seg}^{-1}$ a uma tensão máxima de 50 % e velocidade de retorno (*post-test*) de $0,6 \text{ mm}\cdot\text{seg}^{-1}$. Foi utilizado uma plataforma móvel de aço inox para garantir o alinhamento dos grânulos com o *probe* e a espessura de 5 mm para o ensaio. O pico de força obtido durante o ensaio experimental foi considerado como a força de compactação.

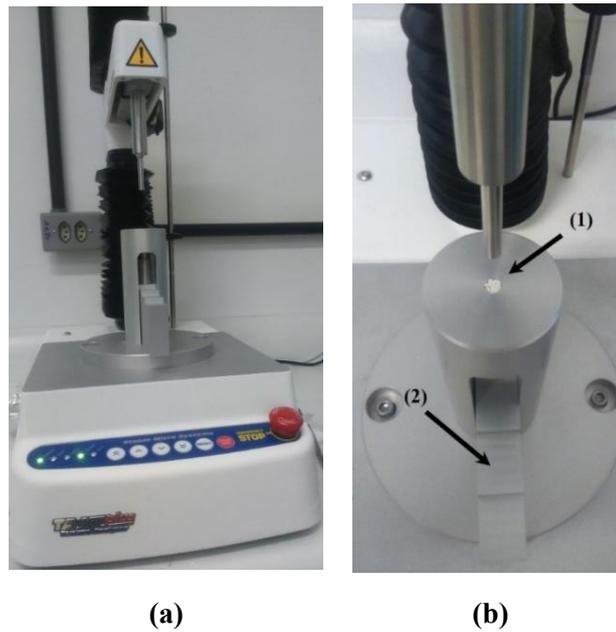


Figura 25. (a) Vista frontal do texturômetro e, (b) aparato utilizado para o ensaio de resistência à compressão com as setas indicando em (1) o probe cilíndrico contendo a amostra de granulado e em (2) a plataforma móvel.

4.3.8 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier* dos granulados

Os grânulos, bem como as matérias-primas utilizadas para a produção dos granulados (teofilina, lactose, PVP e nanocelulose (liofilizada) de caule de tabaco 0,5 e 2,0 % nas diferentes apresentações) foram analisadas conforme descrito no item 4.2.1.9 da Etapa 1.

4.3.9 Doseamento da teofilina nos granulados

Os granulados contendo teofilina foram avaliados quanto ao teor de teofilina presente para cada miligrama (mg) do granulado. A metodologia utilizada seguiu a recomendação das farmacopeias americana (USP 31, 2008) e britânica (British Pharmacopoeia, 2001). A faixa granulométrica utilizada para o ensaio foi entre 710-500 μm . Pesou-se 100 mg dos grânulos, equivalentes a 50 mg de teofilina (0,5 mg teofilina/mg granulado) e transferiu-se para um béquer ao qual foi adicionado 70 mL de solução padronizada de ácido clorídrico (HCl) (Vetec, Brasil) $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. A mistura foi mantida sob agitação por 40 minutos. Em seguida, a solução dissolvida foi filtrada em papel filtro e o volume transferido para balão volumétrico de 100 mL de modo a obter concentração de $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na sequência, foram feitas diluições para obter-se uma concentração final de $0,005 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Todas as diluições foram realizadas em triplicata.

Foi construída uma curva padrão (triplicata) utilizando o padrão de teofilina 99 % (Sigma-Aldrich, Alemanha) nas concentrações de 20,0; 10,0; 5,0; 2,0; 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, de modo a se verificar a linearidade das soluções. Todas as soluções foram lidas em espectrofotômetro UV-Vis Genesys 5 Thermo Spectronic (Estados Unidos) em comprimento de onda de 271 nm. Utilizou-se a solução padronizada de HCl $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ como branco para zerar o equipamento. O teor de teofilina foi calculado utilizando-se a Equação 9.

$$Ca = \left(\frac{Aa}{Ap} \right) \times Cp \quad (\text{Eq. 9})$$

Sendo Ca a concentração da amostra em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; Aa a absorbância média da amostra; Ap a absorbância média do padrão e Cp a concentração do padrão referente à $5,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

O critério de aceitação do teor das cápsulas contendo os grânulos produzidos com os diferentes aglutinantes derivados do caule de tabaco e com PVP foi de 90 a 110 %, conforme o preconizado na farmacopeia americana (USP 31, 2008).

4.3.10 Preparo das cápsulas contendo granulados de teofilina

A partir dos grânulos desenvolvidos, conforme descrito no item 4.2.1, foram preparadas manualmente 40 cápsulas pelo método de nivelamento de superfície utilizando encapsuladora Capsutec (Brasil), Figura 26(a), sendo necessário a utilização de uma cápsula que comportasse um volume de 0,95 mL. Sendo assim, foram produzidas cápsulas, Figura 26(b), utilizando invólucros incolores de tamanho 00 (zero-zero) (All Chemistry, Brasil) que corresponde ao volume citado anteriormente, segundo a classificação farmacopeica (F. BRAS. V, 2010). Para o preparo das cápsulas uma alíquota em gramas foi pesada de cada amostra de granulados para equivaler a 200 mg de teofilina. Preparou-se também, cápsulas contendo granulados sem a presença de teofilina (Branco), sendo esses utilizados como controle.



Figura 26. (a) Encapsulação no tabuleiro, (b) Cápsulas de teofilina contendo granulado preparados com nanofibras de celulose de caule de tabaco (0,5 e 2,0 %, m/v) nas diferentes composições apresentadas no Quadro 7.

4.3.11 Determinação do peso médio

Procedeu-se o ensaio do Peso Médio para as cápsulas produzidas, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira V (2010), no qual foram pesados individualmente em balança analítica (Gehaka AG 200, Brasil) 20 cápsulas e sua massa anotada. Dentro dos critérios de aceitação do ensaio, cada cápsula de teofilina deveria apresentar massa conforme peso médio obtido podendo variar $\pm 7,5$ %.

4.3.12 Ensaio de dissolução dos granulados

O objetivo da realização do ensaio de dissolução foi de verificar se a presença das nanofibras de celulose (NFC) altera o perfil de dissolução da teofilina. Para tanto, foi necessária a contenção dos granulados em um invólucro inerte, conforme descrito no item 4.2.10.

A aparelhagem utilizada para o ensaio de dissolução no Dissolutor Nova Ética modelo 299 (Brasil) (Laboratório de Química Farmacêutica – UCS), foi o aparato 2 (cesto) com velocidade de rotação de 50 rpm e HCl 0,1 mol·L⁻¹ a 37 ± 5 °C (Figura 27) como meio dissolutor (USP 31, 2008). Antes de iniciar o ensaio, preparou-se uma curva padrão (triplicata) utilizando o padrão de teofilina 99 % (Sigma-Aldrich, Alemanha) nas concentrações de 9,0; 8,0; 7,0; 6,0; 5,6; 5,0; 4,8; 4,4; 4,0 µg·mL⁻¹. A partir da curva padrão foi possível obter a equação da reta conforme apresentado na Equação 10, no qual foi possível a obtenção do teor de teofilina liberado.

$$y = ax + b \quad (\text{Eq. 10})$$

Sendo y a absorbância em nanômetros e x a concentração em µg·mL⁻¹.

O ensaio foi realizado durante 1 h, sendo 5 mL coletados a cada 30 minutos, com posterior reposição de meio dissolutor. Na sequência, foi realizada diluição da amostra coletada (1,5: 10 v/v) e feita a leitura no espectrofotômetro UV-Vis Genesys 5 Thermo Spectronic (Estados Unidos) em comprimento de onda de 271 nm utilizando solução padronizada de HCl 0,1 mol·L⁻¹ como branco para zerar o equipamento.



(a)



(b)

Figura 27. (a) Disposição das cápsulas de teofilina dentro do aparato (cesta) e, (b) visão das cestas submersas na cuba contendo o líquido dissolutor.

4.3.13 Análise estatística

A significância estatística dos grânulos de teofilina preparados foi avaliada com auxílio de desenho experimental fatorial com três fatores: Dispersão da nanofibras de celulose (suspensão, gel ou gel+PVP), Concentração (0,5 e 2,0 %) e Teofilina (com e sem) para as propriedades de fluxo, mais especificamente, o ângulo de repouso e para a friabilidade.

Para avaliar as diferenças estatísticas dos dados de friabilidade, também foi realizada análise de variância de um fator (ANOVA) com o teste de comparação de múltiplas médias (Turkey).

Para os resultados de resistência à compressão dos grânulos foi realizada ANOVA de um fator com o teste de comparação de múltiplas médias (Turkey) para avaliar as diferenças estatísticas.

A significância para todas as análises foi aceita para p inferior a 0,05 utilizando os *softwares* GraphPad Prism[®] 7, Minitab[®] Statistical 17 e Excel[®] 2013 para Windows[®].

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Essa parte do trabalho apresenta, em um primeiro momento, os resultados obtidos com as biomassas de aparas de papel e caule de tabaco e, posteriormente, com os granulados produzidos com as nanofibras de celulose oriundas dessas biomassas.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS – ETAPA 1

5.1.1 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por cromatografia em camada delgada

A placa cromatográfica obtida após a execução da cromatografia em camada delgada (CCD) para as amostras (I) pó de caule de tabaco com extrativos, (II) pó de folhas de tabaco e (III) mistura para cigarro é apresentada na Figura 28. É importante ressaltar que as amostras foram avaliadas conforme recebidas pela indústria.

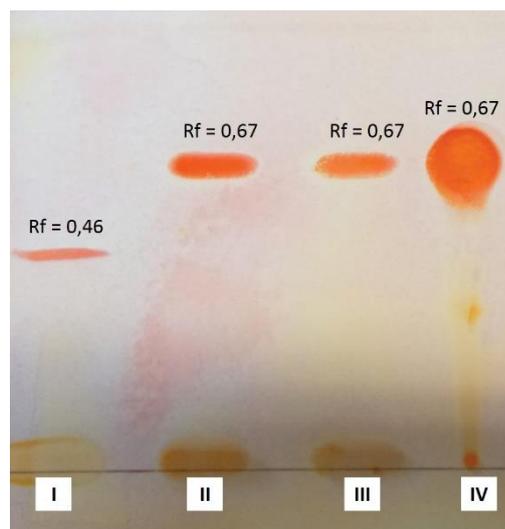


Figura 28. Placa cromatográfica com indicação do fator de retenção (Rf) das manchas (I) pó de caule de tabaco com extrativos, (II) pó de folhas de tabaco, (III) mistura para cigarro e (IV) padrão de nicotina 99,1%.

Logo após a revelação da placa com o reagente de Dragendorff os alcaloides se apresentaram nas cores marrom ou marrom alaranjado. Das três amostras analisadas, a amostra (I) apresentou um valor de Rf diferente (0,46) em relação ao padrão de nicotina (IV). De acordo com Wagner & Bladt (2001), este valor foi semelhante ao encontrado para os derivados da nicotina (Figura 29) como nornicotina e anabasina.

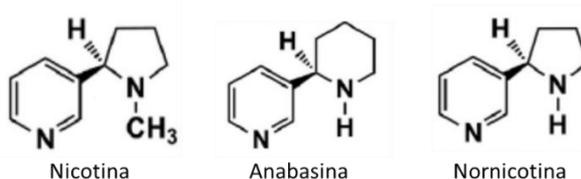


Figura 29. Estrutura molecular da nicotina e seus derivados – anabasina e nornicotina.

Os metabólitos tóxicos da nornicotina, como as nitrosaminas e outros alcaloides do tabaco são consideradas substâncias potencialmente carcinogênicas (RAJABI et al., 2017). A anabasina é um alcaloide com ação inseticida, sendo teores de 0,258 % encontrados nas folhas da espécie *Nicotiana glauca* (ZAMMIT et al., 2014). Embora estas substâncias sejam tóxicas, a espécie estudada neste trabalho (*Nicotiana tabacum*) é conhecida predominantemente por altos teores de nicotina em suas folhas (SILVA et al., 2013; TASSEW & CHANDRAVANSI, 2015)

Contudo, apesar dos valores de Rf terem se apresentado como possivelmente sendo esses metabólitos, não se pode afirmar que estas duas substâncias estão presentes na amostra analisada, uma vez que a CCD é uma técnica qualitativa. Sendo assim, a confirmação da presença de nicotina e seus metabólitos foi feita utilizando-se um método de maior sensibilidade, conforme descrito no item 5.1.2.

5.1.2 Determinação da presença de nicotina na biomassa de caule de tabaco por ressonância magnética nuclear de próton

A fim de avaliar a amostra de caule de tabaco com relação a presença de nicotina e seus derivados em sua composição, foi realizada uma análise por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton (RMN de ^1H).

A nicotina é o principal alcaloide da piridina na planta de tabaco e, comercialmente, é fundamental na qualidade do tabaco. Após a biossíntese nas raízes (DURBIN, 1979; RAJABI et al., 2017), a nicotina é translocada apicalmente através do xilema (vaso condutor da seiva e nutrientes da planta) até as folhas onde fica concentrada no vacúolo (SHITAN, MORITA, & YAZAKI, 2009; CAI et al., 2013).

Em 1941, Dawson reportou em seu trabalho a presença de nicotina em diferentes partes da planta do tabaco, incluindo o xilema do caule apresentando 19,2 % de nicotina em sua composição. Tassew & Chandravanshi (2015) mencionaram que o teor de nicotina nas folhas depende, além da variedade do tabaco e do tipo de solo onde a planta foi cultivada, da posição da folha no caule. Folhas localizadas mais abaixo do pé de fumo, geralmente, apresentam concentrações menores do que as localizadas da metade da planta para cima (HAWKS, 1978).

Em função dos relatos observados na literatura, foram conduzidos ensaios de RMN de ^1H para amostras de caule de tabaco com extrativos (CTE) e para caule de tabaco sem extrativos (CTSE). Os resultados foram comparados com o padrão de nicotina 99,1 % (Sigma-Aldrich, Alemanha) e são apresentados na Figura 30.

Para o padrão de nicotina, Figura 30(a), foi possível observar que os deslocamentos químicos estão de acordo com os dados apresentados na literatura (PITNER et al., 1978; PANKOW, BARSANTI, & PEYTON, 2003), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Deslocamentos químicos (ppm) referente ao padrão de nicotina 99,1 %.

Correspondência	Deslocamento químico (ppm)
H1	8,54
H2	8,48
H3	7,68
H4	7,24
H5	2,27
H6	3,09
H6'	2,30
H7	1,97
H7'	1,74
H8	3,10
H8'	3,24
H9 (CH ₃)	2,17

Foi possível obter os sinais esperados para os hidrogênios da nicotina no padrão de nicotina. Os hidrogênios de 1 a 4 da estrutura molecular de nicotina referem-se à cadeia alifática e de 7 a 9 os sinais correspondem aos hidrogênios da piridina.

Em 2,17 ppm observou-se um sinal referente aos hidrogênios do grupo metila que se apresenta como um singleto, com integral reativa para 3 hidrogênios.

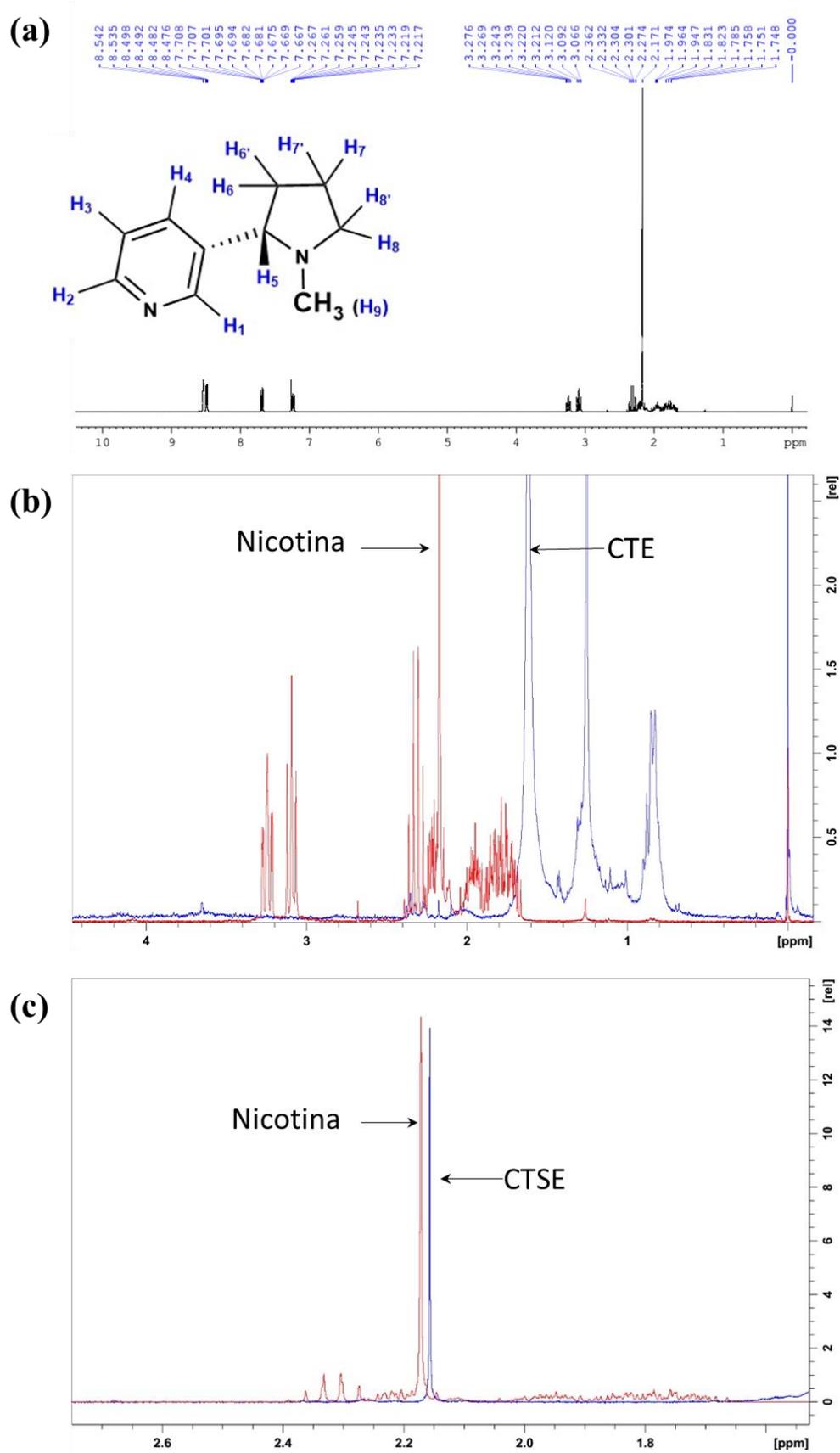


Figura 30. RMN de ^1H de (a) padrão de nicotina 99,1%; (b) caule de tabaco com extrativos (CTE) comparado com o padrão de nicotina; (c) caule de tabaco sem extrativos (CTSE) comparado com o padrão de nicotina.

Como esperado para as amostras de caule de tabaco com extrativos (CTE) e sem extrativos (CTSE), Figura 30(b) e (c), ambas não apresentaram nicotina em sua composição, pois não há um pico correspondente ao deslocamento químico em 2,17 ppm. A Tabela 4 apresenta os principais sinais coletados para as amostras com e sem extrativos (CTE e CTSE).

Tabela 4. Deslocamentos químicos (ppm) obtidos nos espectros de RMN de ^1H das amostras de caule de tabaco com extrativos (CTE) e sem extrativos (CTSE).

CTE		CTSE	
Desdobramento do sinal	Deslocamento químico (ppm)	Desdobramento do sinal	Deslocamento químico (ppm)
Singleto	7,26	Singleto	7,25
Singleto	1,61	Singleto	2,15

Conforme observado nas Figuras 30(b) e (c), picos menores estão presentes nas amostras e correspondem aos sinais de água (1,61 ppm), ceras e outros compostos orgânicos, influência da presença dos extrativos na amostra.

Os sinais de 7,26 ppm para CTE e 7,25 ppm para CTSE foram atribuídos ao clorofórmio deuterado utilizado.

A amostra CTSE apresentou um sinal de deslocamento químico em 2,15 ppm, um valor muito próximo ao obtido no padrão de nicotina (2,17 ppm). No entanto, apesar dos valores serem numericamente muito próximos, não é possível afirmar que o sinal corresponde à mesma substância, uma vez que os picos não se sobrepõem.

Sendo assim, pode-se sugerir fortemente a ausência de nicotina nas amostras de CTE e CTSE em suas composições.

5.1.3 Determinação do índice de espuma e pré-tratamento da biomassa de caule de tabaco

A amostra de caule de tabaco em pó apresentou índice de espuma menor do que 100. Esse resultado indica que há uma quantidade razoável de saponinas na amostra (MARQUES et al., 2007), no entanto, não foi possível estimar em qual concentração.

O pré-tratamento possibilitou verificar a redução visual da quantidade de espuma produzida durante o processo de moagem (Figura 31), e, ao mesmo tempo, quantidades consideráveis de lignina, hemicelulose e compostos não-celulósicos foram extraídos com a

solução (OUAJAI & SHANKS, 2005). Grünweller, Schröder e Kesselmeier (1990) relataram a presença de saponinas na planta de tabaco. Além disso, a literatura informa que as saponinas são termolábeis e que com aquecimento pode-se atenuar ou inativar a sua ação (JOOD, CHAUHAN, KAPOOR, 1986).

Após o pré-tratamento (mercerização), a biomassa de caule de tabaco passou a ser denominada de caule de tabaco sem extrativos (CTSE). Segundo Li, Wu e Yu (2014), a mercerização com hidróxido de sódio é comumente utilizada para tratar fibras de madeira e não-madeira de modo a melhorar as propriedades mecânicas. Com a mesma intenção, o tratamento da polpa de papel com NaOH tem sido utilizado para melhorar as propriedades do papel, no entanto, não há informação sobre a influência do tratamento com NaOH sobre as propriedades mecânicas das fibras do caule de tabaco (LI, WU, YU, 2014).

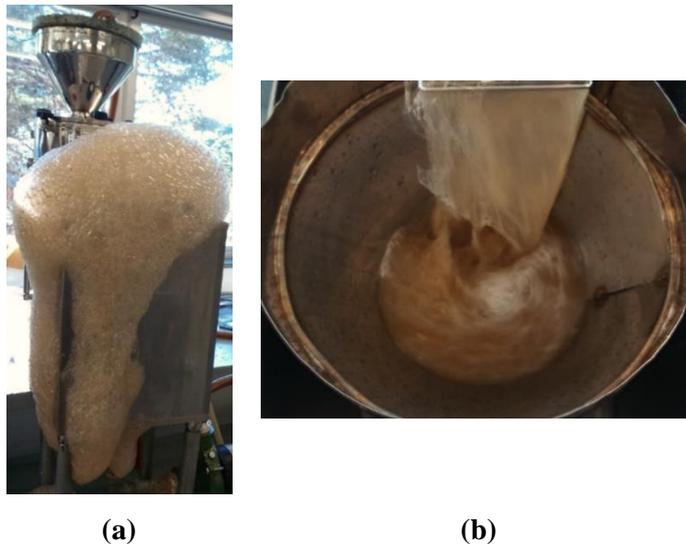


Figura 31. Moagem da biomassa de caule de tabaco (a) formação de espuma no processamento do caule de tabaco com extrativos (CTE) e, (b) processamento no moinho do caule de tabaco (CTSE) após a mercerização.

5.1.4 Fibrilação mecânica para obtenção de nanofibras de celulose

As biomassas de aparas de papel e caule de tabaco sem extrativos foram processadas em moinho micronizador e o produto obtido foi uma suspensão de celulose em duas diferentes concentrações: 0,5 e 2,0 %, m/v (Figura 32).

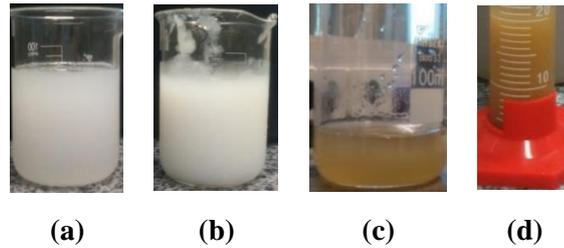


Figura 32. (a) Suspensão de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v); (b) Suspensão de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v); (c) Suspensão de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v); (d) Suspensão de caule de tabaco 2,0 % (m/v).

Após a centrifugação das suspensões obteve-se um centrifugado de aspecto gelificado (Figura 33).

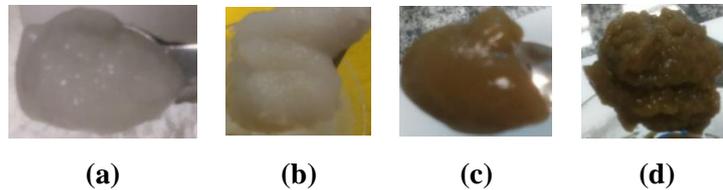


Figura 33. Obtenção de gel de celulose após centrifugação (a) Gel de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v); (b) Gel de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v); (c) Gel de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v); (d) Gel de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v).

Os resultados obtidos no ensaio realizado em triplicata de perda por dessecação para as amostras em suspensão e em gel das celuloses de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Média das concentrações de perda por dessecação das amostras em suspensão e em gel das celuloses de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT).

Amostra	Concentração teórica (%)	Concentração real (%)
Suspensão		
Aparas de papel	0,5	0,53 ± 0,43
	2,0	2,03 ± 0,60
Caule de tabaco	0,5	0,57 ± 0,03
	2,0	2,26 ± 0,32
Gel		
Aparas de papel	0,5	0,55 ± 0,05
	2,0	2,63 ± 0,14
Caule de tabaco	0,5	0,52 ± 0,06
	2,0	2,10 ± 0,26

Resultados expressos em média ± desvio padrão (n=3).

Sendo assim, de modo a facilitar a codificação e a discussão dos resultados posteriores, as amostras são referenciadas pela concentração teórica de suas versões em suspensão e em gel.

5.1.5 Secagem das amostras para análise morfológica após fibrilação mecânica

A secagem do gel obtido após o processo de moagem mostrou ser uma operação importante, uma vez que possibilita a visualização das fibras de celulose e, conseqüentemente, evidenciando a presença das nanofibras de celulose (NFC). Foram testados 3 métodos de secagem: liofilização (L), *spray-dryer* (SD) e estufa (E). Durante os processos foram avaliadas características de cada técnica a fim de selecionar o método que promovesse o melhor resultado.

Nas Figuras 34, 35 e 36 são apresentadas micrografias no MEV-EC dos métodos de secagem testados nas amostras de gel de celulose contendo aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) nas concentrações de 0,5 e 2,0 % (m/v).

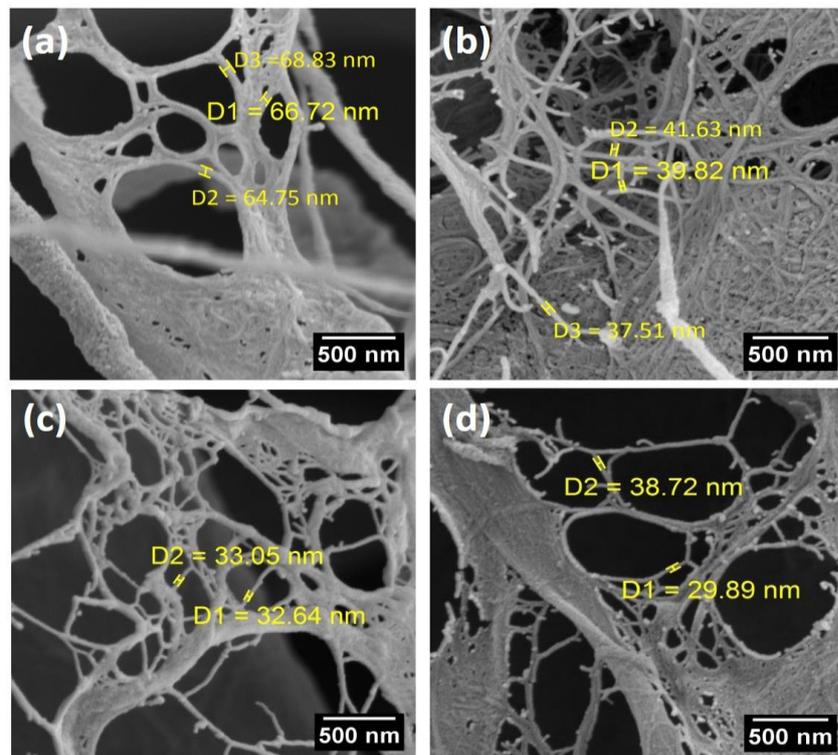


Figura 34. Micrografias eletrônicas no MEV-EC das amostras liofilizadas de gel de celulose de aparas de papel (GNFCAP) e caule de tabaco (GNFCT) nas duas concentrações avaliadas (0,5 e 2,0 %, m/v) com aumento de 100.000 x. (a) Gel liofilizado de celulose de aparas de papel a 0,5 %; (b) Gel liofilizado de celulose de aparas de papel a 2,0 %; (c) Gel liofilizado de celulose de caule de tabaco a 0,5 %; (d) Gel liofilizado de celulose de caule de tabaco a 2,0 %. As medidas foram obtidas com o auxílio do software ImageJ.

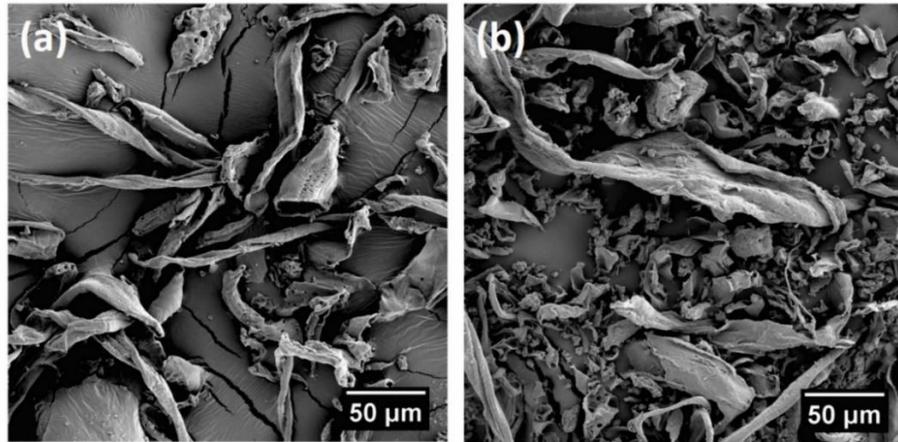


Figura 35. Micrografias eletrônicas no MEV-EC das amostras secas por *spray-dryer* de suspensão de celulose de caule de tabaco com aumento de 1000 x. (a) Suspensão de celulose de caule de tabaco a 0,5 %; (b) Suspensão de celulose de caule de tabaco a 2,0 %.

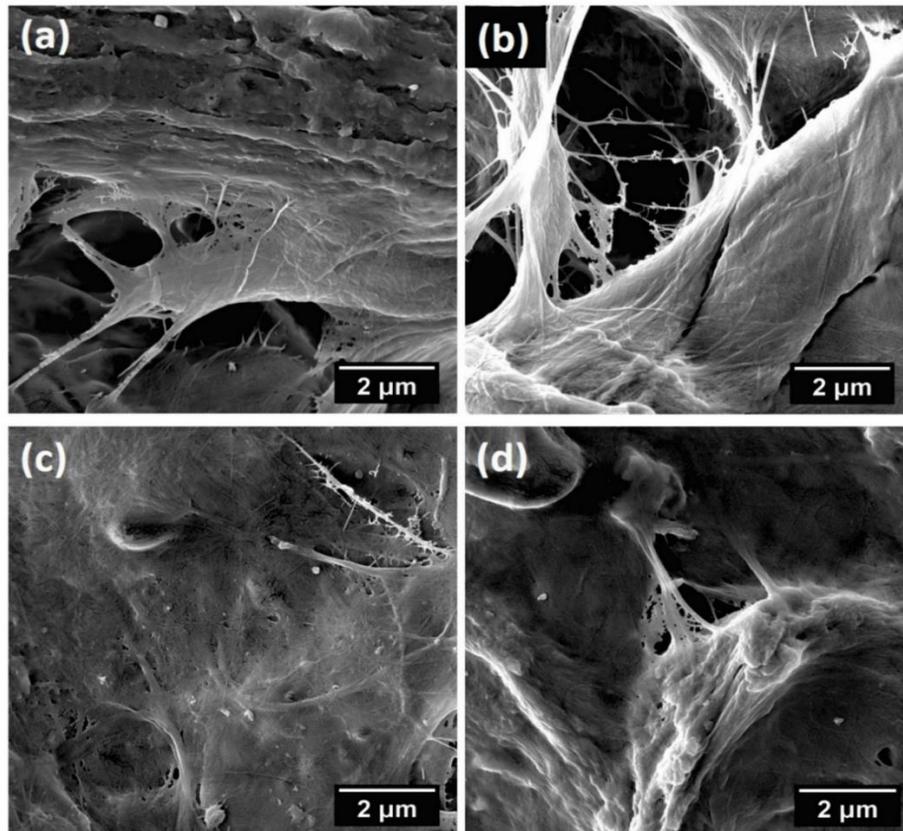


Figura 36. Micrografias eletrônicas no MEV-EC das amostras secas em estufa de gel de celulose de aparas de papel e caule de tabaco com aumento de 30.000 x. (a) Gel de celulose de aparas de papel a 0,5 %; (b) Gel de celulose de aparas de papel a 2,0 %; (c) Gel de celulose de caule de tabaco a 0,5 %; (d) Gel de celulose de caule de tabaco a 2,0 %.

Dentre os métodos de secagem avaliados, a liofilização (Figura 34) foi a que se mostrou mais eficiente na obtenção das fibrilas para ambas as biomassas. As fibrilas foram preservadas e mantidas individualizadas nas duas concentrações ensaiadas: 0,5 e 2,0 % (m/v).

O diâmetro médio das fibrilas de celulose de aparas de papel e caule de tabaco são apresentadas na Tabela 6. As medidas foram obtidas com o auxílio do *software* ImageJ.

Tabela 6. Diâmetro médio das nanofibras de celulose (NFC) obtidas por liofilização.

Amostra*	Diâmetro médio (nm)
GNFCAP_05	67,0 ± 2,0
GNFCAP_2	40,0 ± 2,0
GNFCT_05	32,8 ± 0,3
GNFCT_2	34,3 ± 6,2

*GNFCAP_05: Gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v); GNFCAP_2: Gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 2,0 % (m/v); GNFCT_05: Gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v); GNFCT_2: Gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (m/v).

O método de secagem por *spray-dryer* (SD) (Figura 35) foi realizada apenas para as amostras derivadas da biomassa de caule de tabaco na forma de suspensão em função das amostras de suspensão de aparas de papel causarem a obstrução do atomizador. Por meio desse método, verificou-se que as fibrilas não conseguiram se manter individualizadas. Considerou-se que a secagem por SD não foi eficiente na transformação de fibras de celulose em nanofibras. O método pode causar aglomeração e variar a dimensão das fibras entre micrômetros e nanômetros, no entanto, é um método importante quando se pretende obter nanocristais de celulose (CNC) (PENG, GARDNER, HAN, 2012; PENG et al., 2013; ABDUL KHALIL et al., 2014; ZIMMERMANN et al., 2016).

A aglomeração das fibras celulósicas foi observada quando realizada a secagem em estufa (Figura 36). Para as duas biomassas avaliadas (AP e CT), a aglomeração abrange praticamente toda a amostra, tornando-a uma única superfície e não permitindo a identificação das nanofibras.

A diferença entre os métodos escolhidos para a secagem pode ser explicada devido às ligações de hidrogênio que mantém as fibrilas das nanofibras de celulose unidas formando os aglomerados após a remoção da água (PENG, GARDNER, HAN, 2012; HAN et al., 2013).

As nanofibras de celulose são propensas a aglomerar em função de sua natureza hidrofílica (GARDNER et al., 2008) e assim, formar gotículas maiores durante o processo de *spray drying*, promovendo o aumento no tamanho das partículas secas e a irregularidade na distribuição de tamanho (ZIMMERMANN et al., 2016). Durante o processo de secagem por aspersão, como o líquido flui ao longo da câmara de secagem e está em contato com o ar/gás quente, o movimento da umidade na gotícula pode fazer com que as partículas inflem, fiquem

distorcidas, encolham ou sofram aglomeração. Dependendo da natureza dos materiais, a superfície de secagem da gotícula pode mover-se mais rápido ou lentamente do que os componentes dissolvidos ou suspensos (PENG, HAN, GARDNER, 2012).

Por outro lado, fibras de celulose muito longas podem aumentar a viscosidade da suspensão e este é um parâmetro determinante na obtenção de gotículas esféricas durante a secagem por SD (PENG, HAN, GARDNER, 2012).

Em relação à liofilização, de acordo com Quiévy et al. (2010) a fase inicial do congelamento exerce um papel fundamental na formação dos aglomerados após a sublimação da água. Durante o processo de congelamento de uma suspensão aquosa, as partículas estão dispostas na área de crescimento dos cristais de gelo levando à formação de uma estrutura ordenada durante a sublimação desses cristais (QUIÉVY et al., 2010; HAN et al., 2013).

A secagem por liofilização ocorre em duas fases: na primeira, os cristais de gelo são sublimados e a água livre é absorvida pelas NFC. Durante a segunda fase pode ocorrer a aglomeração das fibrilas de NFC à medida que as ligações não-congeladas (água que reage diretamente com os grupos hidroxila das moléculas de celulose) são removidas pelo vácuo, onde o vapor de água se difunde e induz a mudança na estrutura da nanocelulose promovendo a aglomeração (PENG, GARDNER, HAN, 2012).

Sendo assim, a partir da avaliação das micrografias das duas biomassas do estudo nas diferentes concentrações (0,5 e 2,0 %, m/v), foi possível evidenciar a obtenção das nanofibras de celulose (NFC) por meio do processamento das biomassas no moinho micronizador.

5.1.6 Determinação dos constituintes lignocelulósicos

Os resultados obtidos para a caracterização química da celulose das biomassas de aparas de papel (AP) e caule de tabaco (CT) segundo as normas TAPPI e norma NREL para determinação de celulose na amostra de CT são apresentadas na Tabela 7.

A determinação do teor de extrativos e lignina não foi realizada para as amostras de aparas de papel, pois, de acordo com as normas TAPPI (2014), as amostras que já passaram pelo processo de branqueamento na indústria já tiveram removidos extrativos e lignina.

Tabela 7. Caracterização química das aparas de papel e caule de tabaco com e sem extrativos.

Ensaio	AP	CTE	CTSE
Teor de α -celulose (%)	92,6 \pm 0,4	32,4 \pm 1,3*	29,2 \pm 0,7*
Teor de hemicelulose (%)	7,4 \pm 0,4	11,0 \pm 0,5	10,0 \pm 0,8
Teor de lignina insolúvel em ácido (%)	ND	22,1 \pm 3,5	20,1 \pm 0,2
Teor de extrativos (%)	ND	10,7 \pm 1,0	0
Teor de cinzas (%)	0,2 \pm 0,01	4,8 \pm 1,0	2,6 \pm 0,05
Teor de umidade (%)	7,4 \pm 0,04	6,6 \pm 0,6	6,3 \pm 0,00

AP = aparas de papel; CTE = caule de tabaco com extrativos; CTSE = caule de tabaco sem extrativos; ND = não determinado; DP = desvio padrão da média (n = 3); *determinação realizada de acordo com a norma NREL.

De acordo com a Tabela 7, a amostra de aparas de papel (*Eucalyptus* sp.) apresentou teor de α -celulose de 92,6%. Em estudo realizado por Tonoli et al. (2012) em amostras de polpa *kraft* branqueada de celulose de *Eucalyptus urograndis*, o teor encontrado de α -celulose foi de 92,2%. O estudo corrobora com o encontrado para as aparas de papel (AP) do presente estudo. Na literatura, altos teores de α -celulose são obtidos na produção de papel em função da maior parte da lignina e hemicelulose é dissolvida na etapa de deslignificação do processo *kraft* de produção (VILA et al., 2011) e a dissolução da polpa ocorre em quantidades elevadas (mais de 90 % em massa) da celulose restante (ARNOUL-JARRIAULT et al., 2015).

Em relação ao teor de cinzas (0,2 \pm 0,01 %) obtido para as amostras de aparas de papel (AP), este apresentou-se em um valor baixo em relação aos obtidos para as amostras de caule de tabaco. Porém, no estudo realizado por Tonoli et al. (2012) na espécie de *E. urograndis*, os valores encontrados para cinzas ficaram entre 0,1 e 0,6 %. A explicação, segundo o referido autor, pode ser em função do tratamento realizado durante o processo de produção do papel, no qual os extrativos foram removidos, sugerindo que os compostos orgânicos que poderiam estar presentes na amostra foram dissolvidos na água, resultando em um baixo teor de cinzas (TONOLI et al., 2012).

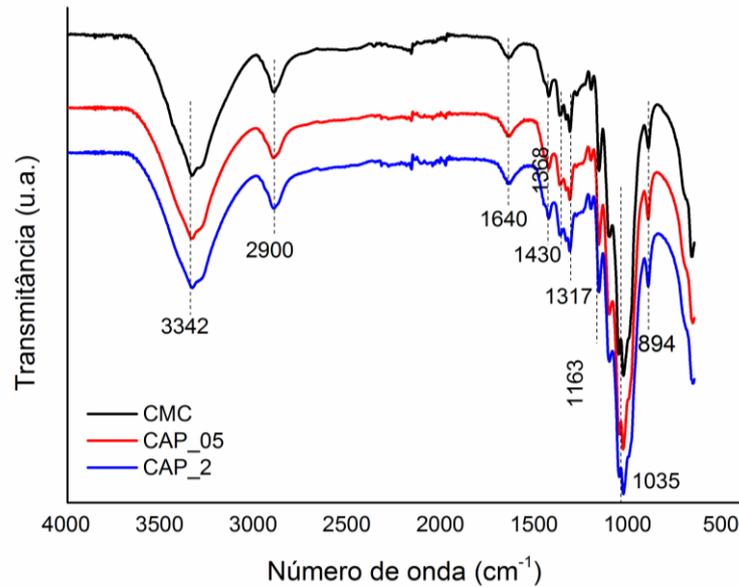
Quanto às amostras de caule de tabaco, a literatura apresenta informações sobre o teor de α -celulose que variaram de acordo com a espécie do tabaco, a porção do caule e a altura da planta (WAKEHAM & SILBERMAN, 1966). Segundo Agrupis et al. (2000) e Shakhes et al. (2011), o caule de tabaco contém entre 35 a 40 % de celulose. Em um estudo relatado por Kulić and Radojičić (2011), o caule de Tabaco da variedade Virgínia apresentou 30,5 % de α -celulose. Em estudo conduzido por Agrupis e Maekawa (1999) para a mesma variedade de tabaco, o teor de α -celulose encontrado foi de 33,9 %. De acordo com Tuzzin et al. (2016), o teor de α -

celulose presente nos talos de tabaco (amostra livre de extrativos) foi de 41,75 %, enquanto que na amostra com extrativos o teor apresentado foi de 20,85 %. Sendo assim, os resultados obtidos neste trabalho se aproximam dos resultados obtidos pelos autores mencionados.

O teor de lignina insolúvel na amostra sem extrativos (CTSE) foi de $20,1 \pm 0,2$ %, maior do que o valor apresentado por Agrupis e Maekawa (1999) de 17,3 %. Foi necessário realizar a determinação do teor de extrativos para o caule de tabaco em função de sua composição ser constituída, basicamente, de amido, pectina e substâncias que conferem cor, odor e sabor ao tabaco (LEFFINGWELL, 2001) e, se não removidos podem influenciar os resultados. A remoção dos extrativos (CTSE) pode ter influenciado o teor de cinzas quando realizada a comparação com a amostra CTE.

5.1.7 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier*

A Figura 37 apresenta o espectro e as bandas de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para as amostras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (m/v) (CAP_05) e 2,0 % (m/v) (CAP_2) em comparação com a celulose microcristalina (CMC). As principais bandas e seus eventos correspondentes foram amplamente estudados na literatura e encontram-se listados na tabela adjunta ao espectro da Figura 37.



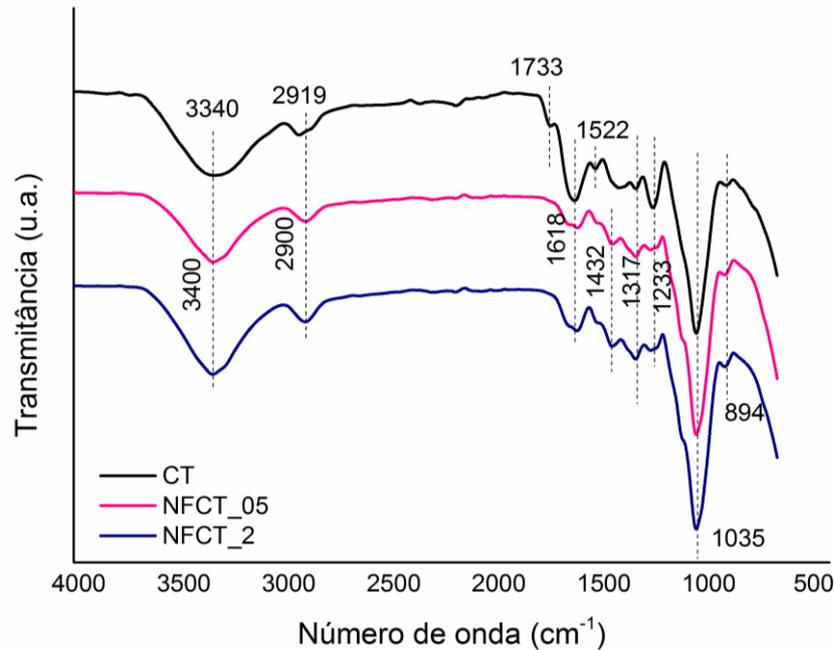
Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
3342	ν_{O-H} celulose e água absorvida	KAUSHIK & SINGH, 2011; ROSA et al., 2012; SONI, HASSAN, MAHMOUD, 2015.
2900	ν_{C-H} da celulose	GÓMEZ-SIRUANA et al., 2013; ASHORI et al., 2014.
1640	ν_{O-H} água adsorvida	LOJEWSKA et al., 2005; JONOBI et al., 2011; JIANG & HSIEH, 2013; HAN et al., 2013.
1430	δCH_2	OUAJAI, HODZIC, SHANKS, 2005.
1368	δ_{C-H}	CHEN et al., 2015; SONI, HASSAN, MAHMOUD, 2015.
1317	νCH_2	CHEN et al., 2015; SONI, HASSAN, MAHMOUD, 2015
1163	ν_{C-O-C} (β -glicosídica)	HAN et al., 2013.
1035	δ_{C-O} (C6)	CHEN et al., 2015
894	δ β -glicosídica do anel da glicose da celulose	KAUSHIK & SINGH, 2011; ROSA et al., 2012; CHEN et al., 2015.

Figura 37. Espectro no FTIR com bandas das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (CAP_05), celulose de aparas de papel a 2,0 % (CAP_2) após 5 horas de moagem utilizando como comparativo a celulose microcristalina (CMC). Os símbolos ν e δ significam estiramento e deformação, respectivamente.

Observou-se que na Figura 37 os espectros das amostras se sobrepuseram, indicando que a composição química é semelhante para as amostras.

Na Figura 38 é apresentado o espectro FTIR e as bandas para as amostras de caule de tabaco bruto (CT), e nas duas concentrações obtidas após moagem para as amostras de

nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (m/v) (NFCT_05) e 2,0 % (m/v) (NFCT_2). Percebeu-se que entre as amostras de aparas de papel e as de caule de tabaco algumas bandas diferenciaram-se (1733, 1618, 1522 e 1233 cm^{-1}) umas das outras.



Número de onda (cm^{-1})	Atribuição	Referência
3400 – 3340	$\nu_{\text{O-H}}$ e absorção de água	KAUSHIK & SINGH, 2011; ROSA et al., 2012; SONI, HASSAN, MAHMOUD, 2015.
2919 – 2900	$\nu_{\text{C-H}}$ da celulose	GÓMEZ-SIRUANA et al., 2013; ASHORI et al., 2014.
1733	grupo acetil do éster urônico da hemicelulose ou do grupo éster carboxílico do anel ferúlico e do ácido p-cumarínico.	MAAFI et al., 2010; TRACHE et al., 2014.
1618	δ da água absorvida	KALITA et al., 2013.
1432	νCH_2	OUAJAI, HODZIC, SHANKS, 2005.
1522	$\nu_{\text{C=C}}$ (arom)* lignina	ROSA et al., 2012; HAAFIZ et al., 2016.
1317	νCH_2	CHEN et al., 2015; SONI, HASSAN, MAHMOUD, 2015
1233	Ligação C–OH no plano em C6	HAN et al., 2013.
1035	$\delta_{\text{C-O}}$ (C6) da celulose	CHEN et al., 2015
894	$\delta \beta$ -glicosídica do anel da glicose da celulose	KAUSHIK & SINGH, 2011; ROSA et al. 2012; CHEN et al., 2015.

Figura 38. Espectro no FTIR das amostras de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (NFCT_05), nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (NFCT_2) após 5 horas de moagem utilizando como comparativo caule de tabaco bruto (CT). Os símbolos ν e δ significam estiramento e deformação, respectivamente. *(arom) = aromático.

Uma característica interessante observada na Figura 38 foi em relação à largura das bandas das três amostras (CT, NFCT_05 e NFCT_2) na região de 3400 - 3340 cm^{-1} . Na amostra CT, a banda mostrou-se mais arredondada e pode estar relacionada à ligação O–H associada devido à aglomeração das fibrilas de celulose enquanto que os espectros das amostras NFCT_05 e NFCT_2 a banda mostrou-se mais pontiaguda e que pode estar relacionada à O–H livre, possivelmente em função da formação de nanofibrilas. Em estudo realizado por Han et al. (2013) com nanocelulose de madeira, suas amostras apresentaram bandas estreitas na região de 3442 cm^{-1} sendo atribuídas à ligação intramolecular de hidrogênio na celulose II. Esse resultado auxilia na compreensão dos resultados deste estudo das amostras contendo nanofibras de celulose de caule de tabaco.

A ausência da banda em 1733 cm^{-1} nas amostras NFCT_05 e NFCT_2 indicam a remoção bem-sucedida das hemicelulose durante a mercerização (HAAFIZ et al., 2016).

5.1.8 Difração de raios X

As análises de difração de raios X foram realizadas e o índice de cristalinidade das amostras de celulose de aparas de papel (CAP) e caule de tabaco (NFCT) após moagem e liofilização foram determinados. As Figuras 39 e 40 apresentam os difratogramas obtidos para as amostras CAP_05, CAP_2, NFCT_05 e NFCT_2 comparando os resultados para as amostras derivadas da celulose de aparas de papel com a celulose microcristalina e, para as amostras derivadas da celulose do caule do tabaco com o caule na forma bruta (sem tratamento com NaOH).

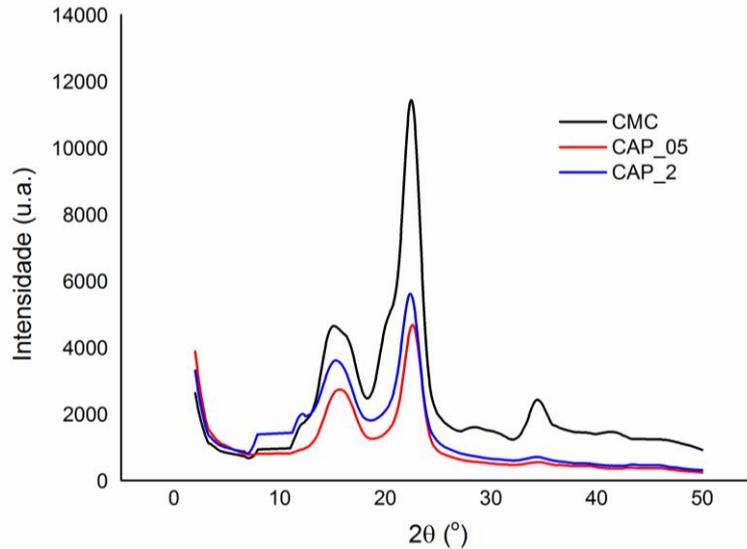


Figura 39. Difratoograma de raios X das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5% (CAP_05), celulose de aparas de papel a 2,0% (CAP_2) após 5 horas de moagem e liofilizadas utilizando a celulose microcristalina (CMC) como comparativo.

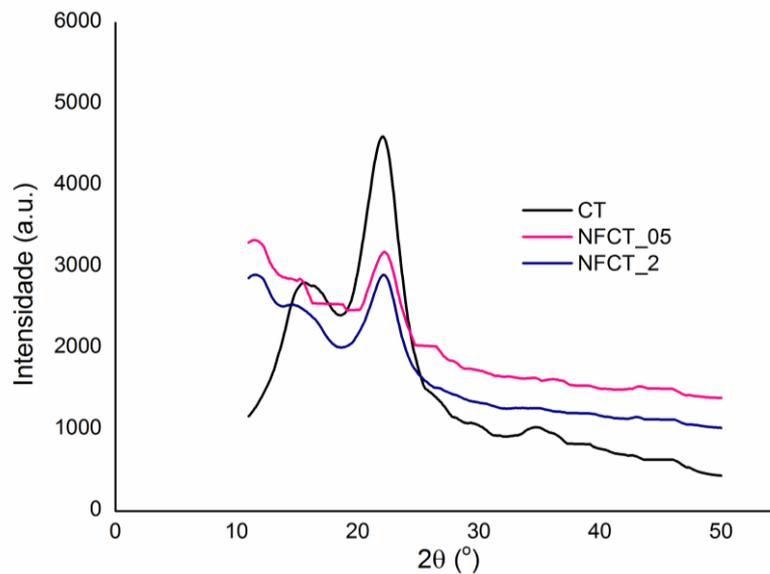


Figura 40. Difratoograma de raios X das amostras de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5% (NFCT_05), nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% (NFCT_2) após 5 horas de moagem e liofilizadas utilizando o caule de tabaco bruto (CT) como comparativo.

As biomassas avaliadas neste trabalho apresentaram os valores de 2θ nos planos (1 1 0) e (2 0 0) em $15,54^\circ$ e $22,38^\circ$ para as aparas de papel e para o caule de tabaco em $22,08^\circ$ no plano (2 0 0). Conforme Duchemin et al. (2009) relataram em seu trabalho, os picos de difração para a celulose nativa (celulose I) apareceram em $14,67^\circ$, $16,39^\circ$ e $22,53^\circ$ para os planos (1 1 0), $(\overline{100})$ e (2 0 0), respectivamente. Para as amostras de celulose II os picos de

difração apareceram em $12,1^\circ$, $19,8^\circ$ e $22,0^\circ$ para (1 1 0), $(\overline{100})$ e (2 0 0). Dessa forma, as amostras de celulose de aparas de papel apresentaram picos de difração semelhantes aos relatados por Duchemin et al. (2009) para a celulose I, enquanto que as amostras mercerizadas de celulose de caule de tabaco (NFCT_05 e NFCT_2) apresentaram padrões de cristalinidade referentes à celulose nativa. A ausência de um dubleto localizado em 22° indica a não transformação da celulose I para celulose II (ROSA et al., 2012; HAAFIZ et al., 2016).

Aplicando a Equação 2 apresentada no item 4.2.1.9 da Etapa 1, o índice de cristalinidade (CrI) para ambas as biomassas é apresentado na Tabela 8.

Tabela 8. Índice de cristalinidade (CrI) das amostras de celulose de aparas de papel (CAP) e caule de tabaco (NFCT) nas duas concentrações avaliadas (0,5 e 2,0 %, m/v).

Amostra	CrI (%)
CMC	80,1
CAP_05	74,8
CAP_2	69,6
CT	46,7
NFCT_05	35,4
NFCT_2	42,2

CMC: celulose microcristalina; CT: caule de tabaco bruto.

De acordo com Peng et al. (2013), o método proposto por Segal et al. (1959) para calcular a cristalinidade é um método indireto em virtude da sobreposição no pico de difração mais alto da celulose I não ser significativamente afetado pelo sinal de outros planos cristalinos. Por conseguinte, o índice de cristalinidade de Segal proporciona um valor de cristalinidade das nanofibras de celulose para fins de comparação.

Em relação às amostras de celulose de aparas de papel (CAP), a cristalinidade obtida para a amostra de menor concentração (CAP_05) foi maior (74,8 %) do que para a amostra com concentração de 2,0 % (CAP_2) (69,6 %). No entanto, a celulose microcristalina (CMC) se apresentou como sendo mais cristalina (80,1 %) do que as amostras em estudo. Resultados semelhantes ao do presente trabalho foram relatados por Lavoratti, Scienza, Zattera (2016) quando analisados a polpa e as nanofibras de celulose (NFC) derivadas de eucalipto. A maior cristalinidade encontrada pelos autores foi para a polpa de eucalipto (83,5 %), já para as NFC

de eucalipto a cristalinidade diminuiu para 78,3 %. Tuzzin et al. (2016) também relataram em seu estudo que as nanofibras de celulose obtidas a partir de eucalipto apresentaram cristalinidade de 72,8 %, enquanto que para a polpa de eucalipto a cristalinidade obtida foi de 82,5 %.

Já para as amostras de celulose de caule de tabaco, a cristalinidade das nanofibras de caule de tabaco (NFCT) em ambas as concentrações, NFCT_05 e NFCT_2 foi menor do que a obtida para a amostra de caule de tabaco bruto (CT) (46,7 %).

Em materiais lignocelulósicos, apenas a celulose apresenta uma estrutura cristalina, no entanto, a hemicelulose e a lignina presentes na amostra são amorfas (POLETTTO et al., 2012a).

O menor índice de cristalinidade para as amostras NFCT_05 (35,4 %) e NFCT_2 (42,2 %) pode ter ocorrido em função do processo de mercerização aplicado às amostras, o qual uma clivagem aleatória pode ocorrer em cadeias com domínios cristalinos contribuindo para o aumento do caráter amorfo (KLEMM et al., 2005). A considerável queda da cristalinidade e o prévio tratamento com NaOH das amostras NFCT podem ser um indicativo de uma baixa resistência alcalina quando comparados com o caule de tabaco bruto (OUAJAI, HODZIC, & SHANKS, 2005).

Uma diminuição similar na cristalinidade de suas amostras foi observada por Iwamoto, Nakagaito, Yano (2007), Lengowski et al. (2013), Lavoratti, Scienza, Zattera (2016) e Tuzzin et al., (2016) quando estes autores utilizaram moinho micronizador para processar suas amostras. Os autores justificaram que a produção de NFC por fibrilação mecânica frequentemente faz com que as partes cristalinas das fibras lignocelulósicas se rompam, aumentando a quantidade amorfa.

Apesar dos baixos índices de cristalinidade obtidos para as amostras de celulose de aparas de papel e caule de tabaco processadas no moinho micronizador, analisando os difratogramas das amostras CAP_05, CAP_2, NFCT_05 e NFCT_2 estes apresentaram picos com menores intensidades e mais alargados quando comparados com CMC e CT, respectivamente. Lani et al. (2014) e Sofia et al. (2016) obtiveram resultados semelhantes em seus estudos. Essa é uma característica que indica a presença de nanoestruturas nas amostras e, por essa razão, foi possível considerar a obtenção de nanofibras de aparas de papel e caule de tabaco após o processo de moagem (BALZAR, 1999; PANTOJA-CORTÉS, SÁNCHEZ-BAJO, ORTIZ, 2012).

5.1.9 Análises térmicas

As Figuras 41 e 42 apresentam as curvas DSC obtidas para as amostras de celulose de aparas de papel e caule de tabaco, respectivamente nas duas concentrações avaliadas: 0,5 e 2,0 % (m/v).

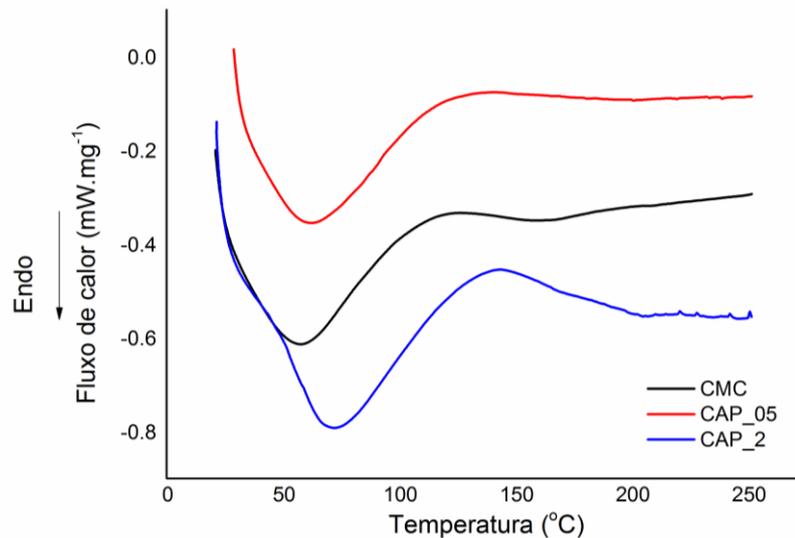


Figura 41. Curvas DSC das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (CAP_05) e celulose de aparas de papel a 2,0 % (CAP_2) após moagem e liofilização em comparação com a celulose microcristalina (CMC).

Na Figura 41 foi possível observar os eventos endotérmicos característicos da celulose nativa (celulose I) ocorrendo aproximadamente na região entre 50-150 °C das curvas DSC das amostras CMC, CAP_05 e CAP_2 (CIOLACU, CIOLACU, POPA, 2011). Isso indica que as nanofibras de aparas de papel obtidas (CAP_05 e CAP_2) apresentaram comportamento semelhante ao obtido para a celulose microcristalina (CMC) (cujo processo de obtenção é através de hidrólise ácida) após o processamento em moinho micronizador. Dessa forma, pressupõe-se que a aplicação da moagem foi eficiente na extração das nanofibras. O evento na região próximo à 50 °C obtido para as três amostras de celulose de aparas de papel foi relacionado com a vaporização da umidade presente na celulose (SANTOS et al., 2011). A celulose é um polímero altamente higroscópico (HABIBI et al., 2010) e, mesmo após a remoção da umidade em estufa, esta pode absorver umidade do ambiente sendo possível detectá-la nas curvas DSC.

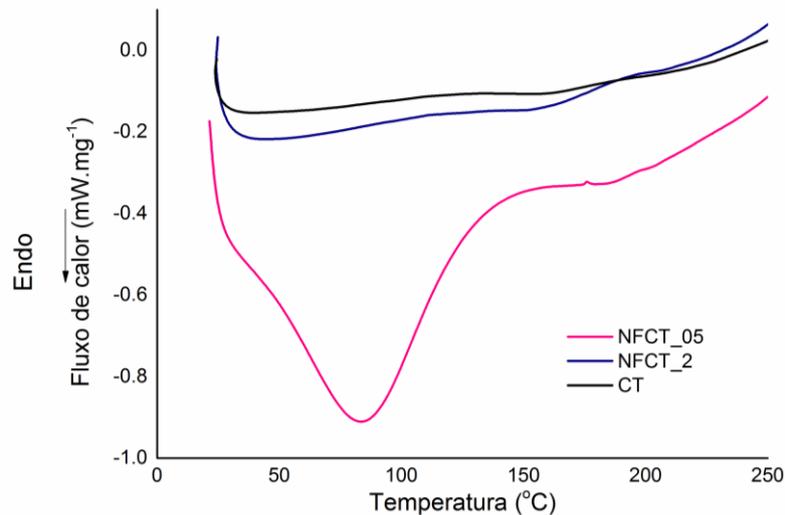


Figura 42. Curvas DSC das amostras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (NFCT_05) e celulose de caule de tabaco a 2,0 % (NFCT_2) após moagem e liofilização em comparação com o caule de tabaco em sua forma natural (CT).

Em relação à celulose de caule de tabaco (Figura 42), a primeira característica percebida foi a diferença no comportamento das curvas entre as amostras NFCT_05 e NFCT_2. Isso ocorreu, provavelmente, devido à diferença de concentração das amostras, uma vez que NFCT_2 era mais concentrada em sólidos (2,0 %) e, por consequência, mais semelhante ao caule de tabaco em sua forma natural (CT) e, ao mesmo tempo, a quantidade de amostra nas pedras do moinho podem influenciar no resultado. Quanto menor a quantidade de material nas pedras do moinho, mais vezes este sofrerá cisalhamento, aumentando a fibrilação da amostra.

As curvas de NFCT_2 e CT apresentaram um evento endotérmico abaixo de 50 °C, o que se referiu, conforme mencionado anteriormente, à perda da umidade da celulose (SANTOS et al., 2011). Na região próxima à 160 °C observou-se um pequeno evento endotérmico que se desloca para 165 °C para as amostras NFCT_2 e CT. Provavelmente isso ocorreu em função da presença de hemicelulose, mais especificamente, da xilana, responsável pela suavidade da curva (PANDEY, DAY, MATHEW, 1993). Essa hipótese foi observada e comprovada pelo espectro de FTIR apresentado anteriormente na Figura 38.

Segundo Ramiah (1970), a visualização de um processo de desidratação da xilana semelhante ao da celulose para explicar o sutil ombro endotérmico encontrado em 170 °C foi dificultado. Ainda, segundo o autor, a xilana não tem nenhum grupo OH primário como a celulose e foi improvável que uma desidratação envolvendo grupamentos OH secundários tenham ocorrido. No entanto, esta temperatura poderia corresponder à suavidade do evento da

xilana, uma vez que outros trabalhos utilizando amostras de xilana potássica apresentou evento suavizado em 167 °C.

Na curva da amostra NFCT_05 observou-se um evento endotérmico em 75 °C relacionado com a umidade da amostra (SANTOS et al., 2011). Acima de 180 °C teve início a degradação da celulose, o qual foi consequência da desidratação e despolimerização da celulose, levando à formação de produtos voláteis (CHAND et al., 1987; BHADURI et al., 1994; MARTIN et al., 2009). Aproximadamente entre 200-300 °C, o fluxo de calor se tornou linear e crescente podendo ser um indicativo da degradação térmica da lignina (SHEN, GU, BRIDGWATER, 2010).

As Figuras 43 e 44, apresentam as curvas TG das amostras de celulose de aparas de papel e caule de tabaco, respectivamente.

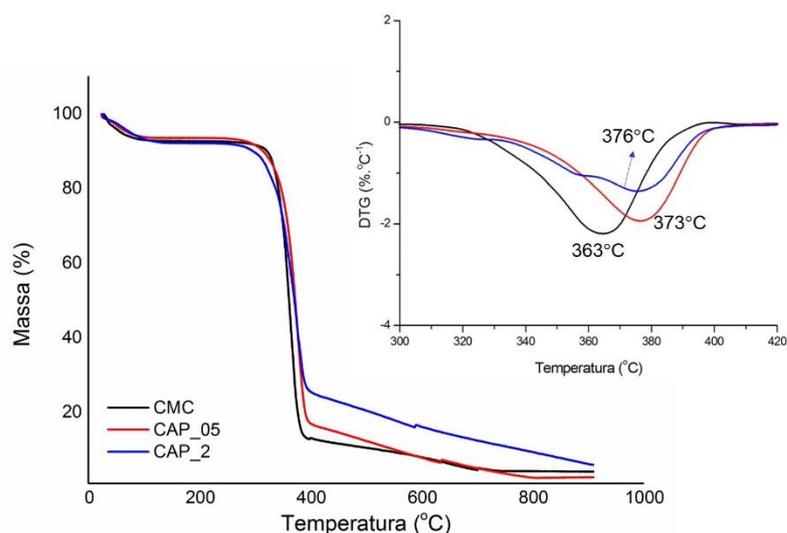


Figura 43. Curva TG e DTG das amostras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (CAP_05) e a 2,0 % (CAP_2) após processamento em moinho micronizador e liofilização comparando com celulose microcristalina (CMC).

Três principais eventos de perda de massa foram observados na Figura 43 para todas as amostras.

De modo geral, o evento iniciado (T_{onset}) em aproximadamente 52 °C com $T_{máx}$ em 64 °C e finalizando (T_{endset}) em 94 °C foi associado à evaporação de água. Já o evento com T_{onset} em 344 °C, $T_{máx}$ 362 °C e T_{endset} em 386 °C foi relacionado à desidratação e despolimerização da celulose; e o evento com início (T_{onset}) em 396 °C com $T_{máx}$ em 441 °C terminando (T_{endset}) em 416 °C foi relacionado com a decomposição térmica dos monômeros em

D-glicopiranosose (ROSA et al., 2012; PENG et al., 2013; ASHORI et al., 2014; LAVORATTI, SCIENZA, ZATTERA, 2016).

Mais especificamente, dentre as amostras de celulose de aparas de papel (CAP), a CAP_2 foi a que apresentou maior estabilidade térmica com o evento iniciando em (T_{onset}) 345 °C, $T_{máx}$ em 376 °C e terminando (T_{endset}) em 385 °C. Semelhante comportamento foi relatado por Lavoratti, Scienza e Zattera (2016) para celulose de eucalipto na concentração de 3,0 % em massa.

Ao observar as curvas DTG apresentadas na Figura 43, cujos eventos referem-se ao segundo evento de perda de massa da TG, foi possível perceber que a temperatura máxima de degradação da CMC foi em 363 °C. Para as amostras que foram processadas no moinho micronizador, as temperaturas máximas de degradação ocorreram em 373 °C para CAP_05 e em 376 °C para CAP_2.

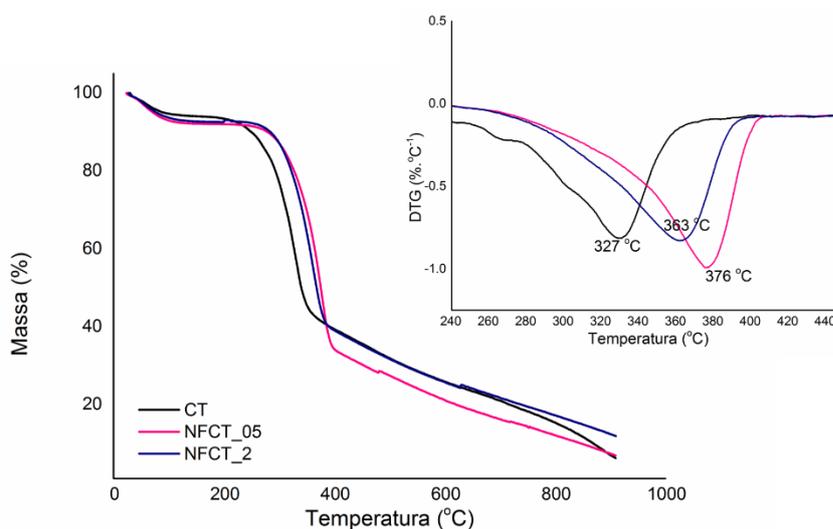


Figura 44. Curva TG e DTG das amostras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (NFCT_05) e a 2,0 % (NFCT_2) após processamento em moinho micronizador e liofilização comparando com celulose de caule de tabaco bruto (CT).

Semelhantemente ao ocorrido com as amostras de celulose de aparas de papel, a celulose de caule de tabaco (Figura 44) também apresentou três eventos de perda de massa para as amostras de caule de tabaco bruto (CT) e caule de tabaco a 0,5 % (NFCT_05) e a 2,0 % (NFCT_2). Para o caule de tabaco bruto (CT), o evento em com $T_{máx}$ em 60 °C foi associado com a evaporação de água (perda de massa de 5,6 %). O evento com $T_{máx}$ em 341 °C foi relacionado com a desidratação da celulose seguido pela despolimerização e, em 368 °C o evento foi relacionado com a decomposição térmica da celulose em D-glicopiranosose (ROSA et al., 2012; PENG et al., 2013; ASHORI et al., 2014; LAVORATTI, SCIENZA, ZATTERA,

2016). Para as duas amostras restantes (NFCT_05 e NFCT_2), os eventos foram os mesmos, mas deslocados em relação à forma natural do caule de tabaco (CT).

Em relação às curvas DTG, cujos eventos também fazem referência ao segundo evento da TG, observou-se que a temperatura máxima de degradação para CT foi em 327 °C. Para as amostras contendo as nanofibras, NFCT_05 e NFCT_2, o máximo ocorreu em 376 °C e 363 °C, respectivamente. Este resultado foi semelhante ao relatado por Tuzzin et al. (2016) para as amostras contendo NFC de talo de folha de tabaco, no qual a temperatura máxima de degradação encontrada foi em aproximadamente 360 °C. Nesse sentido, o nosso trabalho foi promissor, uma vez que menos etapas de processo foram necessárias para a obtenção de NFC em relação ao processo utilizado por Tuzzin et al. (2016) que precisou aplicar, além da explosão a vapor, a moagem micronizadora para obtenção de suas nanofibras. Sendo assim, a inovação apresentada no presente trabalho é a utilização unicamente do moinho micronizador para a extração das NFC do caule de tabaco.

A diferença observada entre o caule na forma bruta e o mercerizado se deu, provavelmente, pelo processo de regeneração da celulose que começa com o processo de mercerização (KLEMM et al., 2005; LI, WU, YU, 2013; SOUZA et al., 2015), levando à redução na cristalinidade em meio alcalino em função do inchamento das fibras e da mudança do tipo de celulose. Nesse caso, a neutralização do pH em meio ácido indicou a reestruturação da celulose e sua maior estabilidade térmica (KAUSHIK & SINGH, 2011).

Na Tabela 9 são apresentadas as temperaturas de degradação máxima ($T_{máx}$) e a perda de massa das amostras de celulose de aparas de papel e caule de tabaco.

Tabela 9. Principais eventos de perda de massa e as respectivas temperaturas máximas de degradação ($T_{máx}$) para as celuloses de aparas de papel (CAP) e caule de tabaco (NFCT).

Amostras*	Primeiro evento		Segundo evento		Terceiro evento
	$T_{máx}$ (°C)	Perda de massa (%)	$T_{máx}$ (°C)	Perda de massa (%)	Perda de massa (%)
CMC	45,3	7,1	363	79,6	8,7
CAP_05	56,1	5,9	373	75,7	15,0
CAP_2	64,6	6,6	376	63,7	21,3
CT	60,0	5,6	327	44,3	22,1
NFCT_05	55,2	7,0	376	54,2	29,4
NFCT_2	59,7	6,7	363	52,7	28,3

*CMC: celulose microcristalina; CAP_05: celulose de aparas de papel a 0,5 %; CAP_2: celulose de aparas de papel a 2,0 %; CT: caule de tabaco bruto; NFCT_05: celulose de caule de tabaco a 0,5 %; NFCT_2: celulose de caule de tabaco a 2,0 %.

Este resultado indica que as amostras contendo NFC (CAP_05 e CAP_2) se apresentaram mais estáveis do que a CMC, diferentemente do relatado por Lavoratti, Scienza, Zattera (2016), cujas amostras contendo nanofibras de celulose de eucalipto mostraram-se menos estáveis (355 °C) quando realizada comparação com a polpa de eucalipto (362 °C).

Porém, quando se estabelece uma relação entre a estabilidade térmica e a cristalinidade (Tabela 7) os resultados divergem apresentando o maior índice de cristalinidade (CrI) para a amostra CMC, cuja temperatura foi menor ($T_{max} = 363$ °C; CrI = 80,1 %) do que para as amostras CAP_05 (CrI = 74,8 %) e CAP_2 (CrI = 69,6 %). Nesse caso, deve-se considerar o tamanho das fibras e a presença de agregados.

Conforme mencionam Poletto, Zattera e Santana (2012b), a degradação térmica da celulose é influenciada por sua composição e cristalinidade, ou seja, quanto maior a quantidade de domínios amorfos, menor a cristalinidade.

5.2 CONSIDERAÇÕES DA ETAPA 1

As amostras de celulose de aparas de papel (AP) são retalhos provenientes da produção de papel tendo, portanto, sofrido tratamento químico na indústria para a remoção de componentes como lignina e extrativos, além do branqueamento.

As celuloses de tabaco são oriundas do caule da planta e apresentam em sua composição aproximadamente 30 % em massa de celulose.

Foram escolhidas duas apresentações de celulose, suspensão e gel em duas concentrações teóricas diferentes, 0,5 e 2,0 % (m/v). Tais concentrações foram comprovadas em ensaio de determinação de perda por dessecação. A escolha da utilização das celuloses na forma de suspensão e gel levou em consideração a possível aglomeração das fibras quando aplicado um método de secagem e, também, para verificar qual a influência da maior quantidade de água presente nas amostras.

As celuloses foram caracterizadas na intenção de utilizá-las no desenvolvimento de forma farmacêutica sólida, tais como grânulos. Sendo assim, foi necessário, especialmente para a celulose derivada do caule de tabaco, comprovar a ausência de nicotina em sua composição. Tratamento complementar de mercerização da amostra de caule de tabaco se fez necessário, a fim de diminuir ou eliminar a produção de espuma durante a moagem.

Em relação aos métodos de secagem, foram avaliadas três técnicas: liofilização, *spray-dryer* e estufa, sendo este último descartado em função da grande aglomeração das fibras. Para a execução da secagem por liofilização utilizou-se gel de celulose e para a secagem por aspersão (*spray-dryer*) foram utilizadas as suspensões de celulose com o objetivo de otimizar o processo.

Quanto à caracterização química das amostras, é usual para materiais de origem lignocelulósica estes serem avaliados quanto à presença e ausência de extrativos, uma vez que podem interferir nos resultados. Como mencionado anteriormente, os extrativos da celulose de aparas de papel foram removidos na indústria, dado o seu tratamento para a produção do papel. No entanto, a celulose de caule de tabaco necessitou de avaliação para as amostras com e sem extrativos. Percebeu-se que a presença ou ausência dos extrativos acaba influenciando nos teores de outros componentes avaliados, como o de α -celulose, por exemplo.

Em relação aos ensaios de FTIR, a existência de banda na região próxima à 1432 cm^{-1} está relacionada com a cristalinidade da amostra. O aumento na intensidade dessa banda demonstra um maior grau de cristalinidade. Dessa forma, ambas as amostras CAP e NFCT nas duas concentrações (0,5 e 2,0 %, m/v) apresentaram bandas nessa região mais intensas e pontiagudas quando comparadas com a celulose microcristalina, no caso das aparas de papel, e com o caule de tabaco bruto.

Apesar do pré-tratamento por mercerização, realizado na celulose de caule de tabaco, os difratogramas das amostras de NFCT_05 e NFCT_2 não apresentaram padrão de cristalinidade para a celulose II, porém, pôde-se observar a presença de picos menores e mais alargados em relação ao caule de tabaco bruto. O mesmo foi observado para as amostras CAP_05 e CAP_2 quando comparado com a celulose microcristalina. Essa característica é um indicativo da presença de nanoestruturas nas amostras.

Em relação às análises térmicas, as curvas DSC para as NFC de aparas de papel apresentaram eventos endotérmicos característicos da celulose I, enquanto que as curvas DSC para as NFC de caule de tabaco apresentaram comportamentos distintos em relação ao caule de tabaco bruto. Quanto à análise termogravimétrica, todas as amostras apresentaram três eventos de perda de massa.

5.3 UTILIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS DE CELULOSE DAS BIOMASSAS DE APARAS DE PAPEL E CAULE DE TABACO PARA O PREPARO DE GRANULADOS

5.3.1 Preparação dos grânulos

Após a caracterização das biomassas em estudo: aparas de papel e caule de tabaco (descrito na Etapa 1), foi possível confirmar a obtenção de nanofibras de celulose (NFC) a partir do processo de moagem micronizadora. Portanto, a ação aglutinante das NFCs foram testadas em formulações contendo teofilina e lactose com o objetivo de preparar granulados. Como aglutinante comparativo, foi utilizado a polivinilpirrolidona (PVP).

Apesar das suspensões e géis de nanofibras de celulose de caule de tabaco (NFCT) apresentarem uma cor marrom, estas, quando misturadas à lactose e à teofilina, ambos pós brancos, não alteraram a cor da mistura, que permaneceu de cor clara. A massa úmida obtida utilizando os aglutinantes de nanofibras de celulose de aparas de papel (NFCAP) para as duas concentrações (0,5 e 2,0 %, m/v) mostrou-se semelhante à obtida com as NFCT.

Em relação à classificação granulométrica, a Figura 45 apresenta o percentual da fração retida em cada tamis utilizado para as amostras de granulados preparados com suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel (SNFCAP) e caule de tabaco (SNFCT). Observou-se que para a amostra SNFCAP_05 o maior percentual retido, 74,3 % (m/m), foi na abertura nominal de malha de 1180 μm , enquanto que para as amostras SNFCAP_2, SNFCT_05 e SNFCT_2, o maior percentual retido foi na abertura nominal de malha de 710-500 μm , com valores de 31,6 % (m/m); 20,7 % (m/m) e 19,4 % (m/m), respectivamente. No entanto, a amostra chamada SPVP apresentou maior percentual de massa retida, 37,1 %, na abertura nominal de malha de 355-250 μm , ou seja, apresentou maior fração retida (m/m) em faixa granulométrica inferior as demais amostras de granulados.

A classificação granulométrica das amostras produzidas com gel de nanofibras de celulose de aparas de papel (GNFCAP) e caule de tabaco (GNFCT) como aglutinante é apresentada na Figura 46.

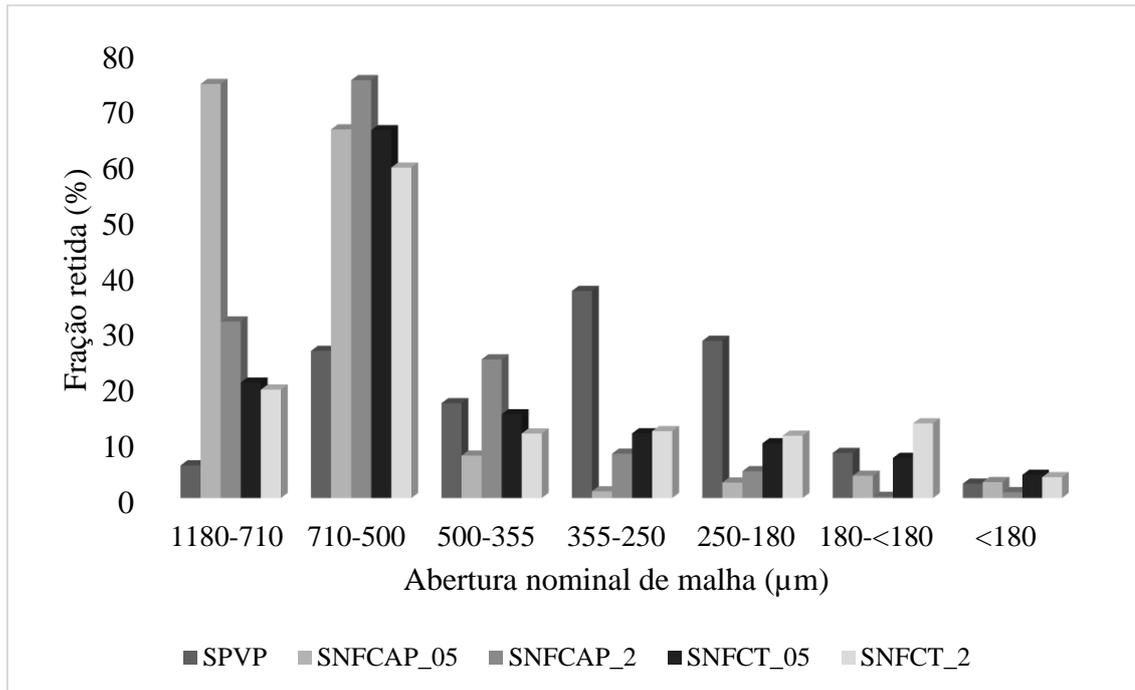


Figura 45. Percentual da fração retida de granulados contendo polivinilpirrolidona (PVP) como aglutinante da amostra SPVP e das amostras contendo suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (SNFCAP_05) e a 2,0 % (SNFCAP_2) e suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (SNFCT_05) e a 2,0 % (SNFCT_2) como aglutinantes.

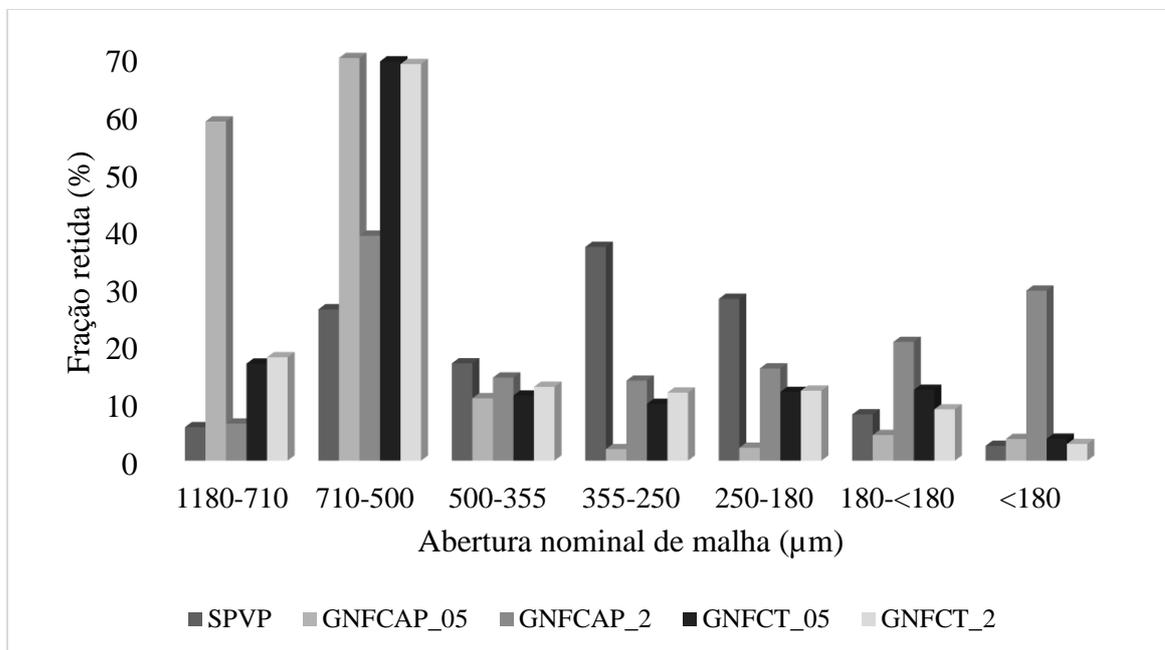


Figura 46. Percentual da fração retida de granulados contendo polivinilpirrolidona (PVP) como aglutinante da amostra SPVP e das amostras contendo gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (GNFCAP_05) e a 2,0 % (GNFCAP_2) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (GNFCT_05) e a 2,0 % (GNFCT_2) como aglutinantes.

Semelhantemente ao apresentado para os granulados preparados com as suspensões de nanofibras de celulose, os granulados preparados com os géis de nanofibras de celulose

apresentaram maior percentual de massa retida entre 1180-710 μm para GNFCAP_05, enquanto que, com exceção da amostra SPVP que apresentou maior percentual de massa retida (37,1 %, m/m) na abertura de malha de 355-250 μm , o restante dos granulados também teve maior percentual de massa retida entre 710-500 μm . Com valores de 39,0 % (m/m) para GNFCAP_2, 69,1 % (m/m) para GNFCAP_05 e 68,6 % (m/m) para GNFCAP_2.

Com relação aos granulados preparados utilizando uma mistura binária de gel de nanofibras e PVP como aglutinante, na Figura 47 é apresentado o histograma representativo da distribuição granulométrica.

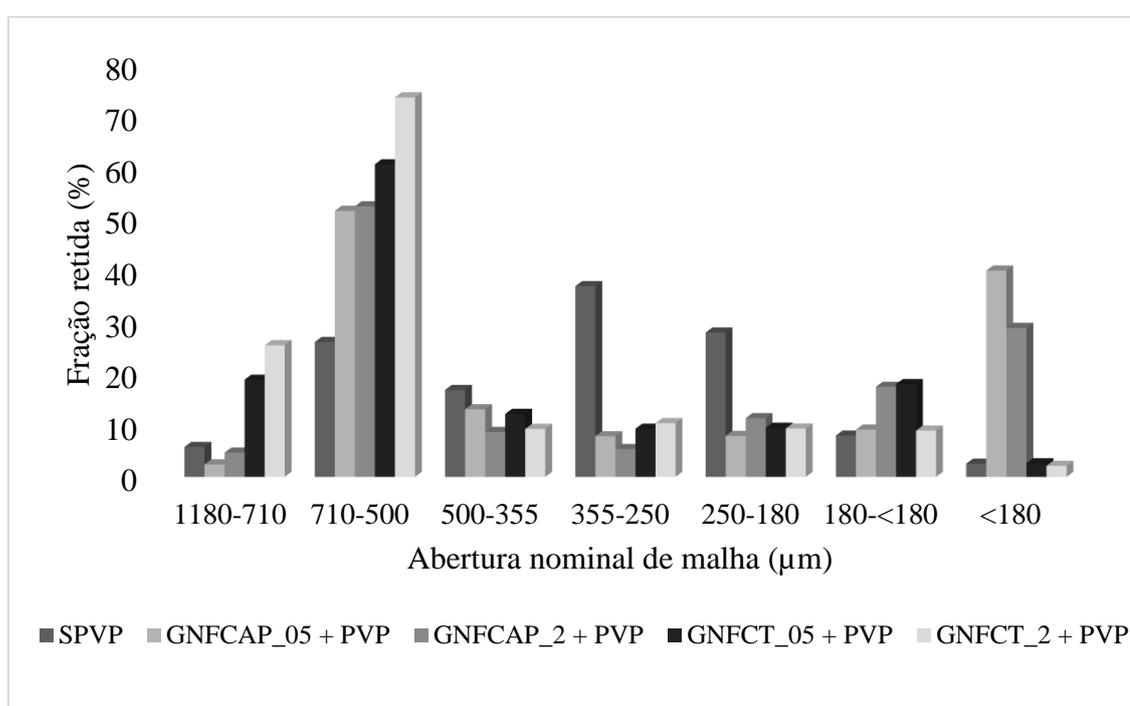


Figura 47. Percentual da fração retida de granulados contendo polivinilpirrolidona (PVP) como aglutinante da amostra SPVP e das amostras contendo a mistura binária de gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % + PVP (GNFCAP_05 + PVP) e a 2,0 % (GNFCAP_2 + PVP) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % + PVP (GNFCCT_05 + PVP) e a 2,0 % (GNFCCT_2 + PVP) como aglutinantes.

Diferentemente do ocorrido com as amostras contendo as suspensões e os géis de nanofibras de celulose, observou-se na Figura 47 que o maior percentual retido das amostras contendo GNFCAP_05+ PVP, GNFCAP_2+PVP, GNFCCT_05+PVP e GNFCCT_2+PVP foi na abertura de malha de 710-500 μm . Notou-se, também, que as amostras GNFCAP_05 e GNFCAP_2 tiveram maior percentual retido de finos no tamis <180 μm do que nas amostras de granulados preparados com os outros aglutinantes testados. A maior quantidade de finos é uma condição não desejável, uma vez que se deseja uma aglutinação homogênea da mistura.

Os finos geralmente não possuem bom fluxo devido à possibilidade de coesão entre as partículas (OSEI-YEBOAH, FENG, SUN, 2014).

Foi realizado o ensaio para as amostras Branco (sem teofilina) com os mesmos aglutinantes, e o resultado deste ensaio encontra-se apresentado nas Figuras 48, 49 e 50.

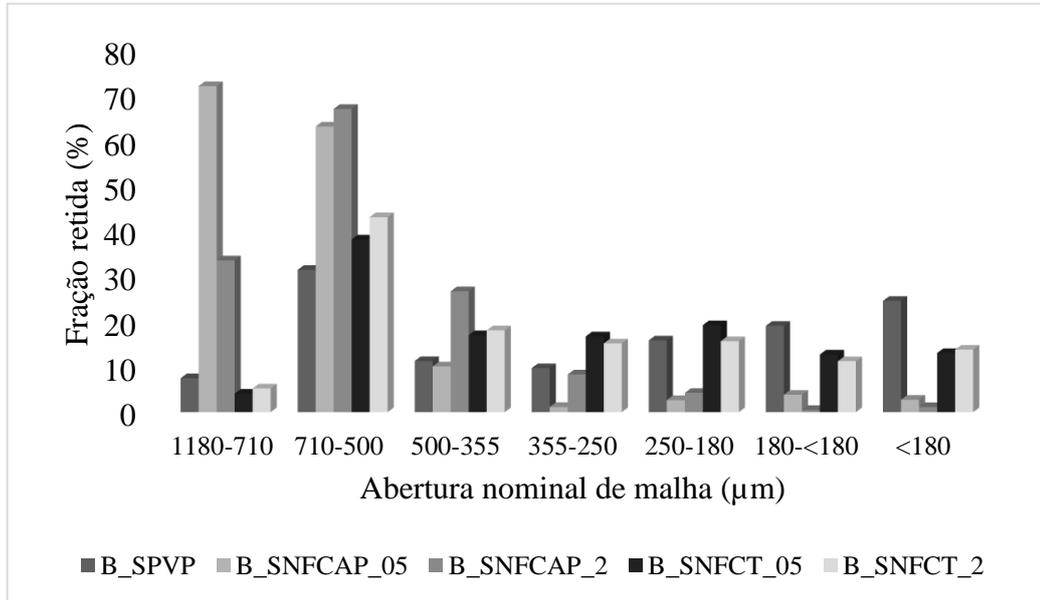


Figura 48. Percentual da fração retida de granulados Branco (B) preparados com PVP (B_SPVP) e suspensão de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (B_SNFCAP_05) e a 2,0 % (B_SNFCAP_2) e suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (B_SNFCT_05) e a 2,0 % (B_SNFCT_2) como aglutinantes.

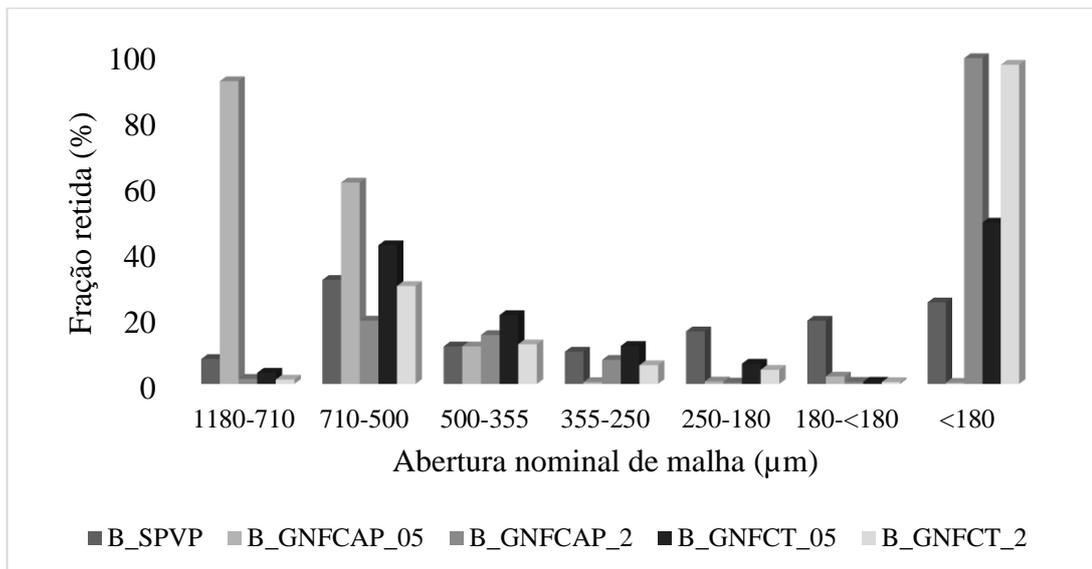


Figura 49. Percentual da fração retida de granulados Branco (B) preparados com PVP (B_SPVP) e gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % (B_GNFCAP_05) e a 2,0 % (B_GNFCAP_2) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (B_GNFCT_05) e a 2,0 % (B_GNFCT_2) como aglutinantes.

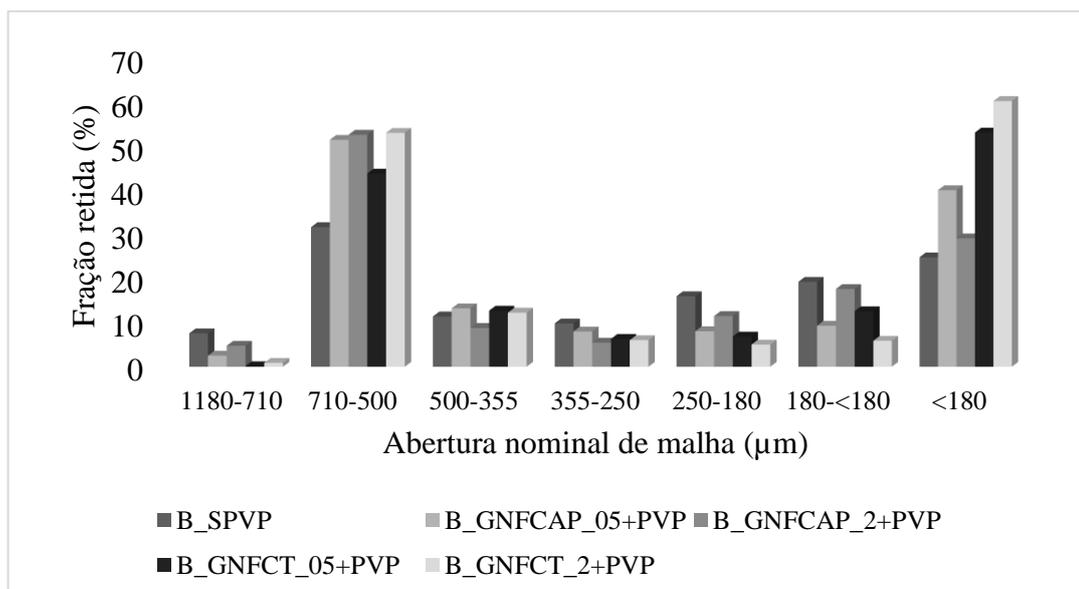


Figura 50. Percentual da fração retida de granulados Branco (B) preparados com PVP (B_SPVP) e mistura binária de gel de nanofibras de celulose de aparas de papel a 0,5 % + PVP (GNFCAP_05+PVP) e a 2,0 % (GNFCAP_2+PVP) e gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % + PVP (GNFCT_05+PVP) e a 2,0 % (GNFCT_2+PVP) como aglutinantes.

Analisando as Figuras 48, 49 e 50, observou-se que para algumas amostras contendo nanofibras de celulose de aparas de papel, o maior percentual retido ficou em faixa granulométrica com maior abertura de malha (1180-710 µm). Por outro lado, os granulados contendo nanofibras de celulose de caule de tabaco, nas diferentes apresentações, apresentou maiores percentuais de massa retida na fração entre 710-500 µm, sendo estes resultados similares aos obtidos e apresentados nas Figuras 45, 46 e 47 para os granulados com teofilina.

Sendo assim, a partir do apresentado e discutido anteriormente, elegeu-se a faixa granulométrica com maior percentual de massa retida de 710-500 µm para a realização dos demais ensaios previstos para os granulados. No entanto, como os granulados preparados com nanofibras de aparas de papel tiveram uma geração maior de finos nas diferentes apresentações de aglutinantes: suspensões e géis, em relação aos granulados SPVP e com nanofibras de celulose de caule de tabaco (NFCT), decidiu-se não prosseguir os ensaios com as nanofibras de aparas de papel. A partir dessa parte do estudo, somente os granulados com e sem teofilina produzidos com NFCT foram avaliados.

É importante ressaltar que a etapa de granulação por via úmida foi feita de modo a facilitar o processo de compressão, melhorando o fluxo dos materiais, uma vez que desejou-se verificar a capacidade aglutinante das suspensões, géis e misturas binárias contendo PVP e celulose das biomassas estudadas. Avaliando-se o rendimento obtido para cada fração

granulométrica testada, esperava-se obter um granulado com diâmetro de partícula adequado (nem muito grande como o obtido na faixa de 1180-710 μm , nem muito pequeno, como 180- <180 μm) para a realização de uma futura etapa de compressão. Ao mencionar partículas adequadas, pretendeu-se fazer referência às diferenças encontradas para partículas com tamanho pequeno e grande. Partículas muito pequenas podem segregar em função da variação das propriedades físicas e mecânicas das partículas. A segregação pode, eventualmente, causar variação na massa dos comprimidos e possíveis problemas de qualidade no que se refere à dose de princípio ativo (LAKIO et al., 2010). Por outro lado, partículas muito grandes podem sofrer quebras durante a compactação e desfazer as pontes de ligação entre partícula-aglutinante (LAKIO et al., 2010; OSEI-YEBOAH, FENG, SUN, 2014).

Sendo assim, a faixa granulométrica escolhida foi entre 710-500 μm , pois é um tamanho que favorece o fluxo das partículas, uma vez que partículas maiores são menos coesas (AULTON, 2013).

5.3.2 Distribuição granulométrica por difração à laser

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos no ensaio de distribuição granulométrica dos granulados contendo teofilina na formulação por difração à laser.

Tabela 10. Distribuição granulométrica e índice de polidispersão (IP) dos granulados apresentando diâmetros a 10 % (d_{10}), 50 % (d_{50}) e 90 % (d_{90}), além do diâmetro médio ($d_{\text{médio}}$).

Amostra de granulado	d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$d_{\text{médio}}$ (μm)	IP
SPVP	417,82	863,32	1415,23	887,88	1,15
SNFCT_05	506,69	909,57	1418,55	935,85	1,00
SNFCT_2	423,80	902,88	1388,55	907,90	1,06
GNFCT_05	482,95	889,57	1402,75	911,17	1,03
GNFCT_2	61,39	954,20	1579,61	950,14	1,59
GNFCT_05+PVP	352,21	969,03	1610,94	985,69	1,29
GNFCT_2+PVP	424,25	944,37	1625,65	983,45	1,27

IP: índice de polidispersão; $n=1$.

O diâmetro médio apresentado na Tabela 10 está de acordo com o esperado, uma vez que os granulados avaliados foram os que ficaram retidos na malha nominal de 710-500 μm , sendo possível encontrar grânulos com diâmetros maiores. A mesma explicação pode ser aplicada para a avaliação do diâmetro de partícula a 10 %, no qual alguns grânulos apresentaram diâmetros menores do que a abertura da malha. Como a morfologia dos granulados observada na classificação granulométrica não era esférica e sim irregular, pode ser que algumas partículas fossem menores em largura e maiores em diâmetro ou vice-versa.

No estudo realizado por Fonteyne et al. (2014) onde foram avaliados granulados produzidos com teofilina, lactose e PVP como aglutinante, os autores encontraram valores de d_{10} de 4,16 μm , d_{50} de 40,12 μm e d_{90} de 93,47 μm . A diferença percebida entre o trabalho dos autores mencionados e o presente trabalho pode se dar em função do processo de preparação dos granulados, sendo que os autores usaram granulação de alto cisalhamento e duplarrosca e mistura automatizada, enquanto que no presente trabalho realizou-se a granulação em granulador oscilatório, além da mistura dos pós e dos aglutinantes ter sido realizada manualmente.

Em relação ao índice de polidispersão, que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos dos granulados, todas as amostras apresentaram valores de PI inferiores a 2, indicando uma estreita distribuição de tamanho (AL-AKAYLEH et al., 2013). As amostras contendo a suspensão de celulose de caule de tabaco (SNFCT_05 e SNFCT_2) e o gel a 0,5 % apresentaram valores próximos aos do granulado SPVP (aproximadamente 1), enquanto que os granulados contendo a mistura de gel e PVP (GNFCT_05+PVP e GNFCT_2+PVP) nas duas concentrações apresentaram valores próximos a 1,3, enquanto que os granulados contendo apenas o gel a 2,0 % apresentaram índice de polidispersão de 1,59.

Em estudo realizado por Al-Akayleh et al. (2013) em granulados produzidos com α -lactose e silicato de magnésio como aglutinante, os autores encontraram índices de polidispersão de 1,88; 1,79; 1,67 e 1,59 para amostras contendo 20, 30, 40 e 50 % da mistura em massa. Os autores atribuíram estes valores ao aumento na concentração do magnésio silicato, ou seja, conforme a concentração aumentava, os índices diminuía.

No presente trabalho, pode-se observar que a concentração de aglutinante utilizado na preparação dos granulados influenciou nos valores de IP. Quanto mais concentrado o aglutinante em nanofibras, maior foi o índice de polidispersão.

5.3.3 Análise morfológica dos granulados

5.3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura de emissão por campo

Foram utilizados dois aumentos, 60 x e 250 x, para avaliar a morfologia dos granulados. A Figura 51 apresenta as micrografias no MEV-EC das matérias-primas utilizadas na manufatura dos granulados. É importante ressaltar que não foram obtidas imagens do PVP em função deste ter sido utilizado em solução.

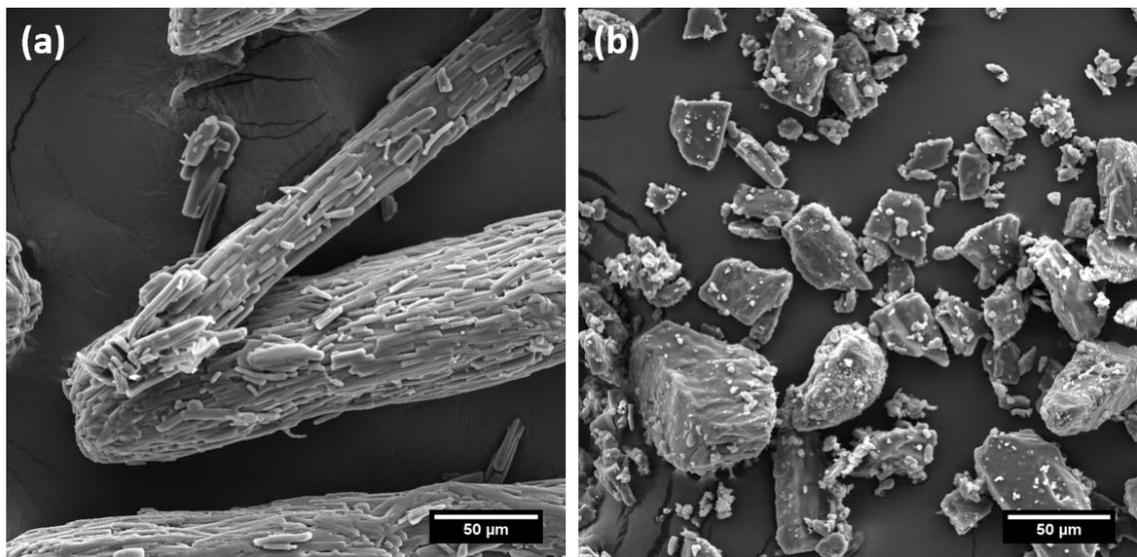


Figura 51. Micrografias eletrônicas no MEV-EC das matérias-primas utilizadas para preparação dos granulados (a) teofilina, (b) lactose com aumento de 1000 x.

Na morfologia da Figura 51(a) observaram-se partículas de teofilina do tipo acicular e alongada, enquanto que a morfologia das partículas de lactose, Figura 51(b) mostrou-se irregular e com pontas, de acordo com a literatura (WU et al., 2005; BOBROVS, SETON, DEMPSTER, 2015).

As Figuras 52 e 53 apresentam as micrografias no MEV-EC (aumento de 60 x) dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT a 0,5 e 2,0 %, respectivamente.

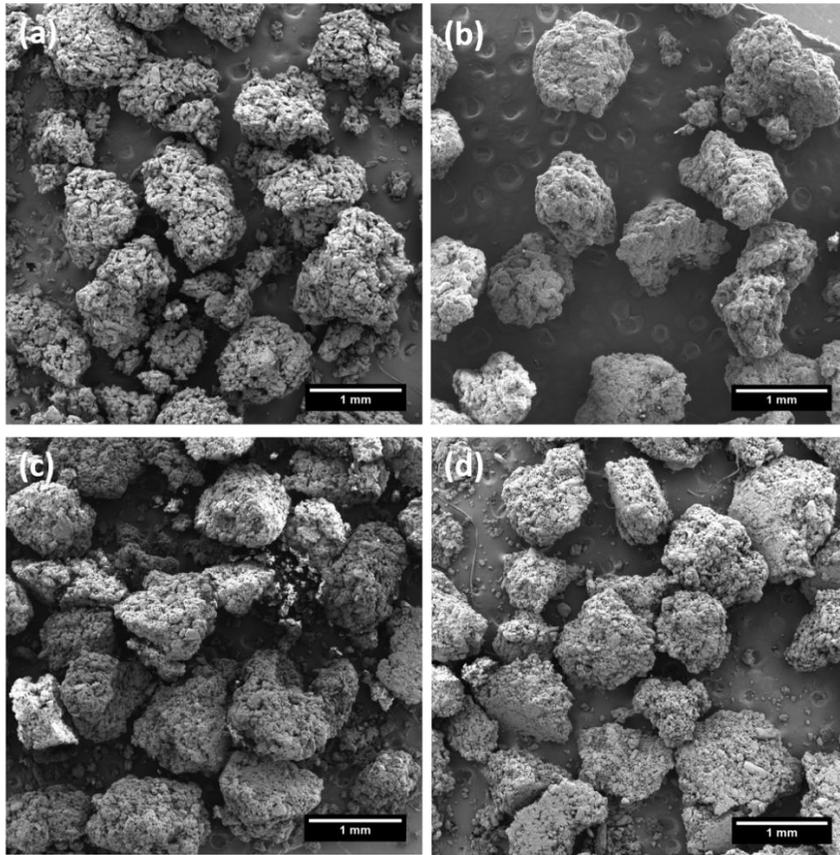


Figura 52. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 60 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b) granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (SNFCT_05); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (GNFCT_05); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % + PVP (GNFCT_05+PVP).

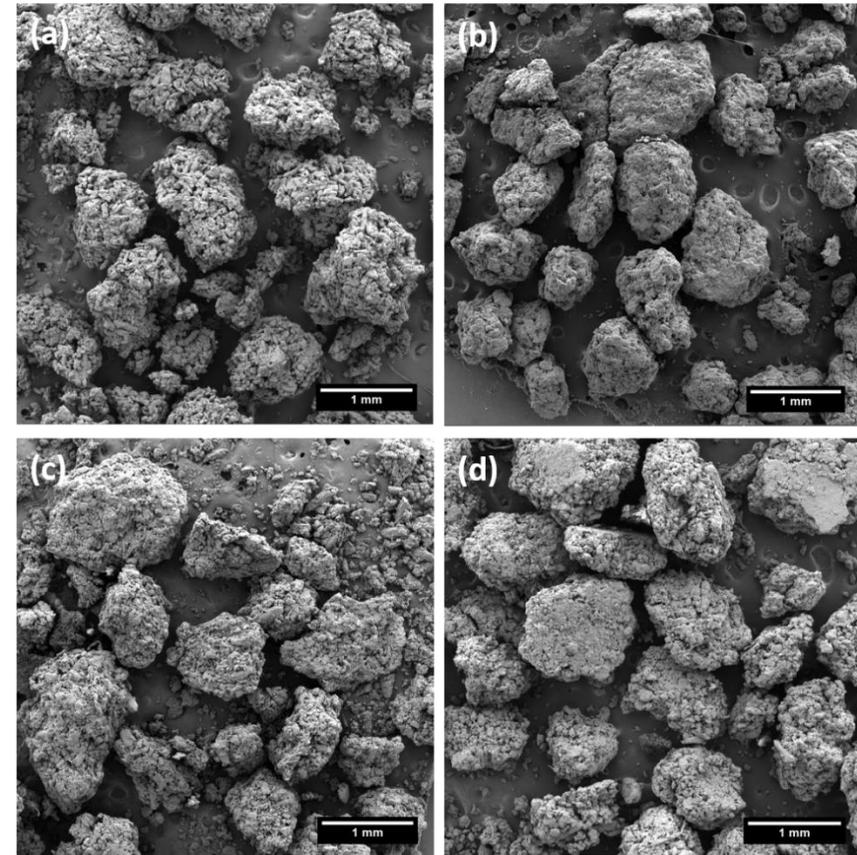


Figura 53. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 60 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b) granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (SNFCT_2); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % (GNFCT_2); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0 % + PVP (GNFCT_2+PVP).

Ao analisar as micrografias das Figuras 52 e 53, não foi possível perceber consideráveis diferenças quanto à morfologia dos granulados. Os grânulos das quatro micrografias nas duas concentrações de nanofibras de celulose (0,5 e 2,0 %, m/v) estudadas se apresentaram semelhantes em formato e rugosidade da superfície.

A seguir, são apresentadas as micrografias obtidas com magnificação de 250 x para as amostras dos granulados contendo as nanofibras de caule de tabaco a 0,5 e 2,0 % (m/v). A imagem 54(a) refere-se ao granulado produzido com PVP como aglutinante (SPVP). Percebeu-se que as partículas constituintes do grânulo estão aderidas umas às outras, no entanto é possível perceber que há espaços vazios entre as partículas.

A Figura 54(b) apresentou um grânulo contendo a suspensão de NFCT a 0,5 % (SNFCT_05). Nesta imagem observou-se maior rugosidade e forma arredondada na superfície, sendo que as partículas das matérias-primas estão muito mais aderidas em relação à amostra SPVP e às amostras (c) e (d) onde foi possível observar a presença de poros nas amostras.

Os granulados apresentados na Figura 54(c) foram preparados utilizando-se o gel de NFCT a 0,5 % (GNFCT_05). Em algumas partes do grânulo percebeu-se uma massa lisa e, em sua maioria, pequenas partículas apareceram aglomeradas na superfície do grânulo gerando um aspecto rugoso e irregular, não apresentando uma morfologia arredondada. Foi possível a visualização de poros, aparentemente, em maior quantidade do que na amostra SNFCT_05.

A micrografia da Figura 54(d) corresponde aos granulados preparados com uma dispersão de gel de NFCT e PVP (GNFCT_05+PVP). A morfologia dessa amostra apresentou-se semelhante à obtida para a amostra GNFCT_05, na qual pequenas partículas aparecem aglutinadas na superfície do grânulo e estas, parecem aderidas à parte interior do granulado. A superfície se apresentou rugosa com a presença de poros, e irregular sem formato arredondado.

Em todas as imagens, a teofilina e a lactose estavam bem misturadas e homogeneamente espalhadas no grânulo. O mesmo ocorreu com as nanofibras de celulose e com o PVP estando bem homogeneizados na formulação.

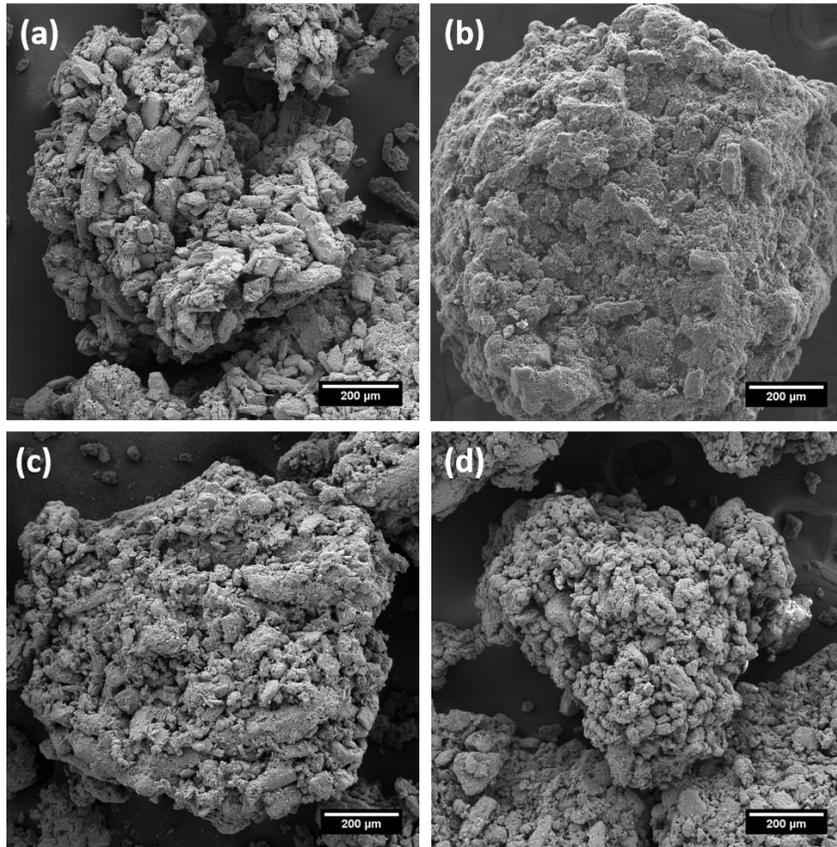


Figura 54. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 250 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b) granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (SNFCT_05); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % (GNFCT_05); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 % + PVP (GNFCT_05+PVP).

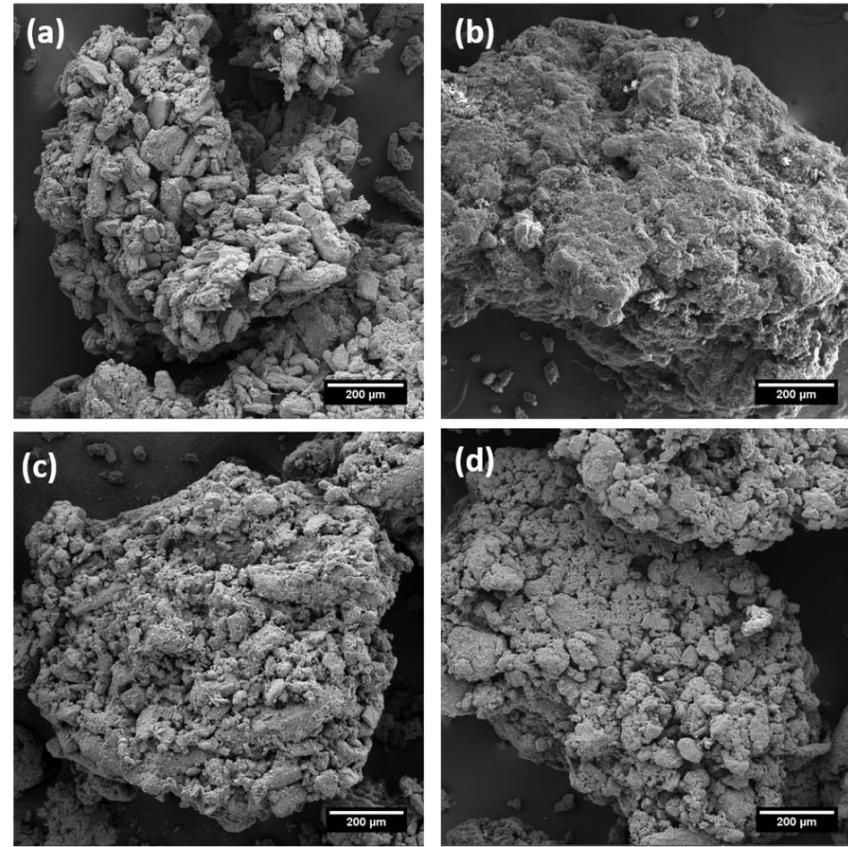


Figura 55. Micrografias eletrônicas no MEV-EC, com magnificação de 250 x, dos granulados preparados com teofilina, lactose e NFCT, sendo (a) SPVP, cujo aglutinante é o PVP; (b) granulado com suspensão de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% (SNFCT_2); (c) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% (GNFCT_2); (d) granulado com gel de nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2% + PVP (GNFCT_2+PVP).

Na Figura 55 as micrografias são referentes aos granulados produzidos com NFCT a 2,0 %. Semelhantemente ao observado na Figura 54, a morfologia dos granulados avaliadas na Figura 55 permaneceu a mesma. O granulado apresentado na Figura 55(b) mostrou uma superfície mais rugosa enquanto que os granulados exibidos nas Figuras 55(c) e (d) apresentaram a superfície mais irregular sendo possível observar a presença de poros.

Li et al. (2011a) relataram que as partículas de granulados utilizando PVP como aglutinante apresentaram formato arredondado, enquanto que partículas utilizando aglutinantes celulósicos como hidroxipropilcelulose (HPC) e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) apresentaram formato irregular com algumas partículas alongadas. Contudo, os resultados obtidos no presente trabalho apresentaram grânulos irregulares, e com algumas saliências. Ao comparar os grânulos preparados com PVP e com NFCT nas duas concentrações de nanofibras (0,5 e 2,0%, m/v), não é possível identificar diferenças, com exceção dos grânulos SNFCT_05 e SNFCT_2 que apresentaram a superfície do grânulo mais lisa e, aparentemente, menor quantidade de vazios em relação aos demais.

5.3.3.2 Microscopia óptica

Visando verificar diferenças na morfologia dos granulados estudados, utilizou-se outra técnica microscópica, a microscopia óptica (MO), cujas imagens são apresentadas nas Figuras 56 e 57.

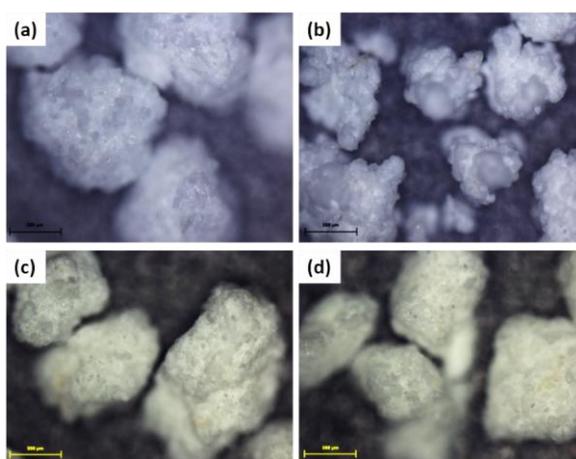


Figura 56. Micrografias no MO com aumento de 50 x dos granulados contendo teofilina preparados com os aglutinantes (a) SPVP, (b) SNFCT_05, (c) GNFCT_05, (d) GNFCT_05+PVP. A escala é de 500 µm.

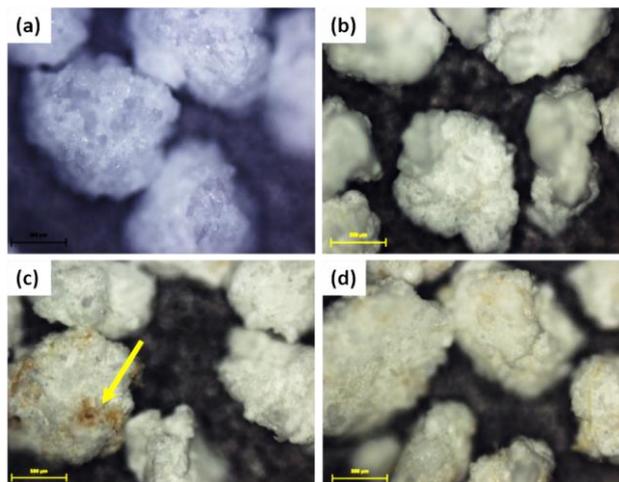


Figura 57. Micrografias no MO com aumento de 50 x dos granulados contendo teofilina preparados com os aglutinantes (a) SPVP, (b) SNFCT_2, (c) GNFCT_2, (d) GNFCT_2+PVP. A escala é de 500 μm e a seta amarela indica a coloração do aglutinante.

Observando a Figura 56, percebeu-se que todos os granulados apresentaram aspecto irregular. A Figura 56(b) contém SNFCT_05 e a morfologia dos grânulos se apresentou com aspecto mais irregular, com saliências e rugoso dentre as amostras analisadas. Todavia, as imagens das Figuras 56 (a), (c) e (d) os grânulos são menos rugosos e mais arredondados. Em função dessa irregularidade na superfície, a captação das imagens pareceu desfocada em alguns pontos.

Na Figura 57 observou-se as microscopias ópticas para as formulações de granulados contendo NFCT a 2,0 %. Como discutido anteriormente para as amostras com NFCT a 0,5 %, a morfologia dos granulados produzidos com NFCT mais concentrada (2,0 %) foi semelhante. As superfícies dos grânulos se apresentaram rugosas e irregulares sendo possível observar a coloração marrom (seta indicativa em 57(c)) do gel de nanofibras de caule de tabaco (GNFCT_2) nos grânulos.

Partindo das observações apresentadas anteriormente, conclui-se que a microscopia óptica não possibilitou a visualização de diferenças entre os granulados.

5.3.4 Porosidade e área superficial

Conforme observado no MEV por emissão de campo (MEV-EC) no item 5.3.3.1, a porosidade nas amostras dos granulados foi comprovada pelo ensaio de porosidade e área

superficial para os granulados Branco e com teofilina. A Tabela 11 apresenta os resultados da avaliação da porosidade e área superficial dos granulados.

Em relação à distribuição do tamanho dos poros, todas as amostras apresentaram poros dentro da faixa micrométrica, apresentando tamanhos médios de 1,89 μm e 1,52 μm para SNFCT_05 e GNFCT_2+PVP, sendo o maior e menor tamanho obtido, respectivamente. E, para as amostras Branco o maior tamanho de poro encontrado foi 2,10 μm para B_SPVP e o menor tamanho foi de 1,52 μm para B_SNFCT_05 e B_GNFCT_2.

O volume total dos poros tem como origem a quantidade de vapor adsorvido a uma temperatura relativa próxima à unidade, assumindo que os poros estão cheios de adsorvato. Para os granulados contendo teofilina, o maior volume total de poro obtido foi para SNFCT_05 e o menor para GNFCT_2+PVP. Para os granulados Branco, os maiores e menores valores de volume total de poro encontrados foi para B_GNFCT_05+PVP e B_GNFCT_05, respectivamente.

Tabela 11. Porosidade e área superficial dos granulados contendo nanofibras de caule de tabaco (NFCT) com teofilina e Branco.

Amostra de granulado	Volume do poro ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	Distribuição tamanho poro (μm)	Volume total do poro* ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	Área superficial ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
SPVP	0,003	1,88	$4,68 \times 10^{-3}$	1,026
SNFCT_05	0,003	1,89	$7,02 \times 10^{-3}$	1,015
SNFCT_2	0,003	1,71	$5,86 \times 10^{-3}$	1,041
GNFCT_05	0,002	1,69	$4,21 \times 10^{-3}$	0,915
GNFCT_2	0,003	1,54	$4,02 \times 10^{-3}$	1,115
GNFCT_05+PVP	0,003	1,70	$4,36 \times 10^{-3}$	1,125
GNFCT_2+PVP	0,002	1,52	$3,10 \times 10^{-3}$	1,133
B_SPVP	0,002	2,10	$2,11 \times 10^{-3**}$	1,347
B_SNFCT_05	0,002	1,52	$1,42 \times 10^{-3**}$	0,769
B_SNFCT_2	0,001	1,69	$1,82 \times 10^{-3**}$	0,902
B_GNFCT_05	0,002	1,67	$1,40 \times 10^{-3**}$	0,668
B_GNFCT_2	0,001	1,52	$1,56 \times 10^{-3**}$	0,605
B_GNFCT_05+PVP	0,003	1,88	$6,92 \times 10^{-3**}$	0,928
B_GNFCT_2+PVP	0,003	1,69	$2,73 \times 10^{-3**}$	0,836

n= 1; *Para poros menores do que $1,28 \times 10^{-1} \mu\text{m}$ a P/P_0 (relação entre as pressões absoluta e relativa) = 0,92; **Para poros menores do que 1,26 μm a P/P_0 = 0,92.

A respeito da área superficial, observou-se que a concentração da biomassa de celulose inicialmente utilizada para obtenção das nanofibras de celulose (0,5 e 2,0 %, m/v) influenciou nos resultados. Essa situação foi percebida para o granulado GNFCT_05, cuja área superficial foi de $0,915 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, enquanto que a amostra GNFCT_2 a área superficial foi de $1,115 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Teoricamente, quanto maior a área superficial de um granulado, mais poroso e, quanto mais poros, mais facilmente ocorre a dissolução (ANSARI & STEPANEK, 2008).

No intuito de verificar se o volume total de poros interfere na área superficial foi utilizada a correlação de Pearson (r^2) para comparar estes dados e, cujos resultados não apresentaram correlação tanto para os granulados com teofilina ($r^2 = -0,37$), quanto para os granulados sem teofilina ($r^2 = 0,21$). Esse resultado significa que o volume total dos poros não é afetado pela área superficial.

Em estudo conduzido por Fonteyne et al. (2014) a área superficial encontrada para granulados contendo 30 % de teofilina com diferentes granulometrias, 67,5 % de lactose e 2,5 % de PVP, variou de $0,36 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ para teofilina com maior tamanho de partícula a $1,36 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ para o fármaco apresentando menor tamanho de partícula. Os autores relacionaram o valor de área superficial com o tamanho de partícula do material de partida, ou seja, pós com tamanho de partícula grande apresentam menores áreas superficiais e partículas de tamanho menor apresentam maior área superficial.

O estudo da porosidade dos grânulos é importante para entender de modo qualitativo e quantitativo o efeito que o tipo de formulação e as variáveis do processo no desenvolvimento podem exercer sobre o comportamento final deste granulado, como por exemplo, sobre o perfil de dissolução (ANSARI & STEPANEK, 2008).

Os resultados obtidos para porosidade e área superficial confirmam as observações do MEV-EC (item 5.3.3.1) em relação à presença de poros.

5.3.5 Determinação da umidade e das propriedades de fluxo dos granulados

Na Tabela 12 são apresentados os resultados de umidade e das propriedades de fluxo para os granulados produzidos com e sem teofilina, respectivamente.

Tabela 12. Umidade e propriedades de fluxo dos granulados contendo teofilina e Branco produzidos com diferentes apresentações de nanofibras de caule de tabaco (NFCT) nas concentrações de 0,5 e 2,0 % em massa, como aglutinante.

Amostras	Umidade (%)	<i>da</i> (g·mL⁻¹)	<i>dc</i> (g·mL⁻¹)	IC (%)	PH	α (°)
SPVP	0,45 ± 0,02	0,35 ± 0,00	0,41 ± 0,00	12,93 ± 5,41	1,15 ± 0,07	5,51 ± 1,51
SNFCT_05	0,20 ± 0,02	0,40 ± 0,02	0,44 ± 0,01	9,18 ± 5,70	1,10 ± 0,07	4,76 ± 0,32
SNFCT_2	0,30 ± 0,03	0,25 ± 0,02	0,26 ± 0,01	6,55 ± 8,32	1,07 ± 0,11	5,50 ± 0,46
GNFCT_05	0,94 ± 0,04	0,53 ± 0,00	0,62 ± 0,04	14,91 ± 5,48	1,18 ± 0,08	5,46 ± 1,43
GNFCT_2	0,87 ± 0,05	0,57 ± 0,02	14,67 ± 0,58	16,09 ± 5,46	1,20 ± 0,08	8,58 ± 0,39
GNFCT_05+PVP	1,42 ± 0,03	0,61 ± 0,02	0,71 ± 0,00	15,10 ± 2,57	1,18 ± 0,04	9,08 ± 0,47
GNFCT_2+PVP	1,96 ± 0,01	0,63 ± 0,00	0,73 ± 0,03	14,58 ± 3,61	1,17 ± 0,05	9,31 ± 0,15
B_SPVP	0,44 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,42 ± 0,03	10,07 ± 4,61	1,11 ± 0,06	5,49 ± 1,50
B_SNFCT_05	0,20 ± 0,02	0,40 ± 0,00	0,48 ± 0,01	17,33 ± 2,31	1,21 ± 0,03	6,25 ± 0,04
B_SNFCT_2	0,30 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,28 ± 0,00	14,44 ± 3,85	1,17 ± 0,05	5,62 ± 0,92
B_GNFCT_05	0,94 ± 0,02	0,50 ± 0,00	0,55 ± 0,04	8,33 ± 5,77	1,09 ± 0,07	8,25 ± 0,59
B_GNFCT_2	1,22 ± 0,03	0,45 ± 0,01	0,49 ± 0,01	8,89 ± 4,25	1,10 ± 0,05	9,74 ± 0,48
B_GNFCT_05+PVP	1,42 ± 0,00	0,56 ± 0,00	0,68 ± 0,03	18,52 ± 3,21	1,23 ± 0,05	10,41 ± 0,10
B_GNFCT_2+PVP	1,90 ± 0,02	0,58 ± 0,02	0,81 ± 0,04	28,76 ± 4,93	1,41 ± 0,10	9,44 ± 1,63

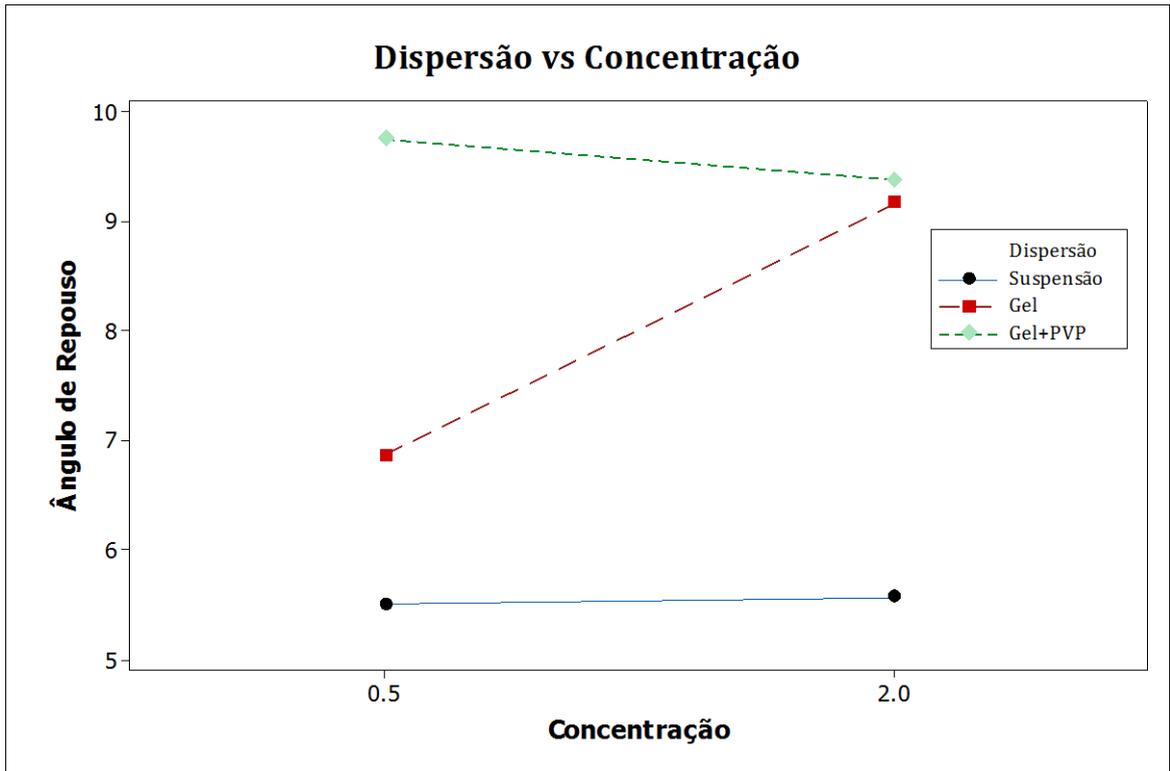
Resultados apresentados como média (n=3) ± desvio padrão; *da*: densidade aparente; *dc*: densidade de compactação; IC: índice de compressibilidade; PH: proporção de Hausner; α : ângulo de repouso.

Observa-se na Tabela 12 que todas as amostras apresentaram teor de umidade reduzido estando de acordo com as propriedades tecnológicas necessárias para granulados destinados à produção de comprimidos cuja especificação requer teores de umidade menores do que 3 % (DÍAZ POLANCO, GIL APÁN, SUZARTE, 2008). Embora estes valores sejam considerados promissores, a manutenção do reduzido teor de umidade se faz necessário, uma vez que, o incremento do teor de umidade de um pó ou granulado diminui sua habilidade de fluir, pois as partículas podem sofrer aglomeração com o passar do tempo (EMERY et al., 2009).

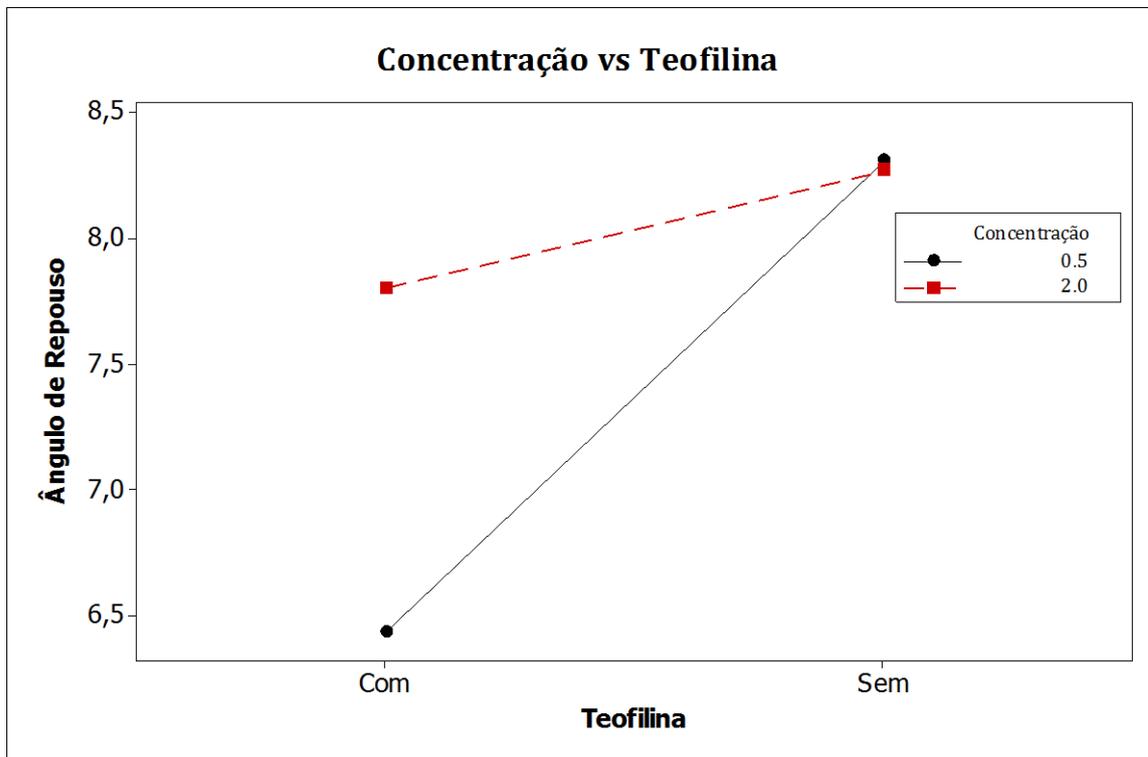
Em estudo realizado por Crouter e Briens (2014) avaliando as propriedades de fluxo da teofilina e de outras substâncias, foi observada a mudança no teor de umidade. Em baixos níveis de umidade, a água atuou como um lubrificante entre as partículas e aumentou o fluxo, enquanto que em níveis de umidade mais altos, a água aumentou a coesão entre as partículas devido à fortes ligações líquidas, reduzindo o fluxo.

Os resultados obtidos neste trabalho indicaram que os granulados preparados com teofilina e os granulados Branco (sem teofilina) tendo diferentes apresentações e concentrações de NFCT (0,5 e 2,0 % m/v) como aglutinante, apresentaram resultados de fluxo entre bom e excelente para os parâmetros avaliados e, com as B_NFCT obtiveram resultados de propriedades de fluxo entre bom e fraco, enquanto que os grânulos SPVP apresentaram bons resultados de fluxo. Esses resultados podem estar relacionados com o tamanho de partícula dos granulados, uma vez que partícula/grânulos com tamanhos de partículas entre 250 – 2000 μm podem fluir livremente se a forma for propícia (AULTON & SUMMERS, 2013). Sendo assim, percebeu-se que ao realizar a granulação houve uma certa esferonização da teofilina e dos demais componentes, favorecendo a obtenção dos bons resultados de fluxo.

Tendo em vista o comportamento apresentado pelas propriedades de fluxo no que se refere ao tipo de aglutinante e quanto à presença de teofilina nos grânulos, tais propriedades foram avaliadas estatisticamente. Como resposta, foi analisado o ângulo de repouso dos grânulos. A tabela apresentada no Anexo I resume os resultados da análise de variância (ANOVA). As interações Dispersão *versus* Concentração e Concentração *versus* Teofilina foram significativas ($\alpha < 0,05$) e, por isso, os fatores principais não serão avaliados. A Figura 58 apresenta os resultados médios do ângulo de repouso para as interações significativas.



(a)



(b)

Figura 58. Gráficos das interações significativas ($\alpha < 0,05$) para ângulo de repouso. a) Dispersão das NFC x Concentração de NFC; b) Concentração de NFC x Teofilina.

Os menores ângulos de repouso e, conseqüentemente, melhores fluxos foram obtidos com as suspensões de nanofibras de celulose nas concentrações de 0,5 e 2,0 %, Figura 58(a). A Figura 58(b) demonstra que o melhor fluxo foi obtido para os grânulos de teofilina na concentração de nanofibras de celulose igual 0,5 %. Considerando a avaliação das interações é possível concluir que o melhor fluxo foi obtido com SNFCT_05. Esse resultado evidencia o potencial da utilização das nanofibras de celulose como aglutinante.

A ANOVA do ângulo de repouso dos grânulos com teofilina demonstrou que as formulações contendo a mistura binária de NFCT+PVP tiveram o pior fluxo dentre as amostras analisadas. Isso não quer dizer que de modo geral todas as formulações não tenham apresentado bons resultados de fluxo.

Esses resultados são importantes para determinar se o fluxo do material é adequado para o processo de compressão, pois, segundo Emery et al. (2009), um fluxo irregular pode resultar em um excesso de partículas finas no pó, o que incrementa o atrito entre as partículas, punção e paredes da máquina compressora, ocasionando problemas de lubrificação. Poderia ocorrer, também, excesso de ar retido nos pós, o que, em certas condições de compressão em alta velocidade, pode promover o aparecimento de laminação (*capping*) dos comprimidos (EMERY et al., 2009; CROUTER & BRIENS, 2014). Portanto, pós com fluxo ruim resultariam em cápsulas e comprimidos com grande variação de massa. Grânulos produzidos destes materiais poderiam ser maiores e isodiamétricos contribuindo para a melhora do fluxo.

A determinação do ângulo de repouso consiste em outro parâmetro físico com a finalidade de avaliar diretamente a capacidade de um pó em fluir livremente através de um orifício para uma superfície livre. Pós com ângulos de repouso baixos fluem livremente e aqueles com ângulos de repouso elevados (>50) possuem fluxo ruim (GELDART et al., 2006). A proporção de Hausner (PH) e o índice de compressibilidade (IC) fornecem um resultado indireto da facilidade do pó em escoar, uma vez que, quanto mais arredondada for uma partícula, menores serão os espaços de ar dentro das misturas de pós, facilitando o seu rolamento e, conseqüentemente seu escoamento (EMERY et al., 2009; CROUTER & BRIENS, 2014). De modo geral, os grânulos com teofilina apresentaram resultados de PH e IC, classificados segundo a literatura (USP 31, 2008; GARCIA, PEREIRA, DIAS, 2012) como sendo bom fluxo e para os grânulos Branco os resultados foram classificados como fluxo excelente. Essa diferença na classificação pode ser em função dos diferentes valores de densidade aparente e compactada obtidos, uma vez que o empacotamento/acomodação dos

grânulos na proveta durante o ensaio pode ter ocorrido de maneira diferente para cada amostra de granulado.

5.3.6 Friabilidade granular

As propriedades mecânicas dos aglutinantes da formulação de granulados com teofilina e lactose foram avaliadas medindo-se as propriedades de friabilidade e compactação. Na Tabela 13 os valores do índice de friabilidade, o qual é o percentual de perda de massa após 10 min a 25 rpm, para os granulados preparados com a nanofibras de caule de tabaco, são apresentados.

Tabela 13. Índice de friabilidade dos granulados com e sem teofilina produzidos com os aglutinantes derivados das nanofibras de caule de tabaco em comparação com granulado tendo PVP como líquido de granulação.

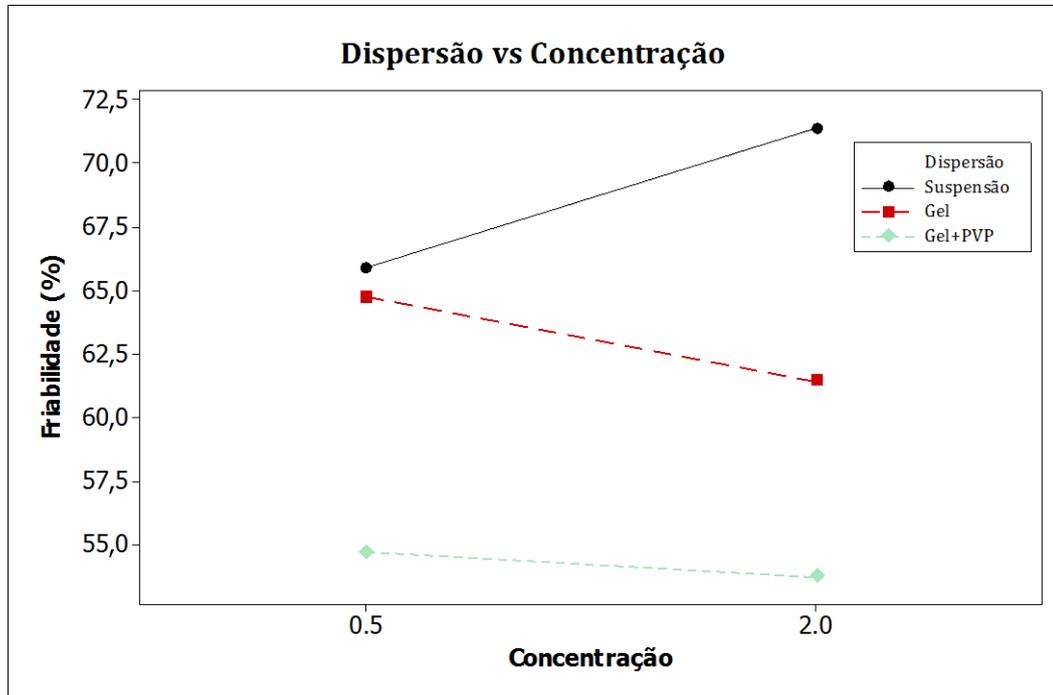
Aglutinante	Com teofilina % perda	Branco % perda	Valor de <i>p</i>
PVP	40,4 ± 2,07	70,3 ± 2,52	1,02 x 10 ²⁸
SNFCT_05	33,2 ± 0,64	98,5 ± 0,01	
SNFCT_2	43,7 ± 2,88	99,0 ± 0,02	
GNFCT_05	46,4 ± 4,48	83,1 ± 1,68	
GNFCT_2	41,8 ± 0,37	81,0 ± 2,30	
GNFCT_05+PVP	40,4 ± 0,03	69,0 ± 1,26	
GNFCT_2+PVP	37,6 ± 2,71	69,8 ± 2,15	

Desvio padrão da média de três determinações (n=3); *p*: índice de significância obtido pela comparação através da ANOVA fator único (caso *p* < 0,05 há diferença significativa).

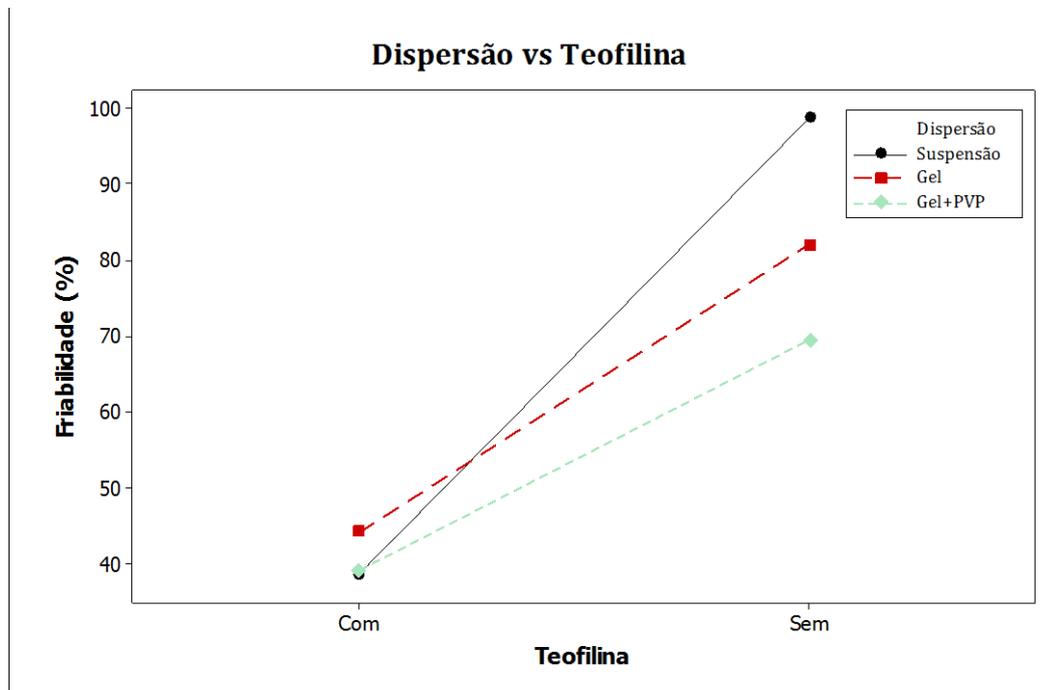
Aplicando-se uma análise de variância de um fator (ANOVA) nos dados referentes ao percentual de perda dos granulados contendo teofilina e Branco (*p* < 0,05), há diferença significativa entre os grupos. Por outro lado, os granulados denominados Branco, apresentaram maiores índices de friabilidade em comparação com os granulados contendo teofilina. Esse comportamento, pode ser em função da presença de maior quantidade de lactose, que tem como uma de suas principais características aumentar a friabilidade dos materiais em que é aplicada (LI et al., 2011b). Segundo a avaliação estatística, percebeu-se que a presença de teofilina na composição do granulado influencia no resultado, pois pode fornecer mais interações partícula-aglutinante.

Como resposta ao desenho experimental fatorial com três fatores, foi analisada a friabilidade (%) dos grânulos. A tabela do Anexo II resume os resultados da ANOVA. As

interações Dispersão *versus* Concentração e Concentração *versus* Teofilina foram significativas ($\alpha < 0,05$) e, por isso, os fatores principais não serão avaliados. A Figura 59 apresenta os resultados médios da friabilidade para as interações significativas.



(a)



(b)

Figura 59. Gráficos das interações significativas ($\alpha < 0,05$) para friabilidade. a) Dispersão da NFC x Concentração de NFC; b) Dispersão da NFC x Teofilina.

Os menores valores de friabilidade e, conseqüentemente, melhor resistência mecânica dos grânulos foram obtidos com os géis de nanofibras de celulose nas concentrações de 0,5 e 2,0 % adicionados de PVP, Figura 59(a). A Figura 59(b) demonstra que a melhor friabilidade foi obtida para os grânulos contendo teofilina preparados com dispersão das nanofibras de celulose na forma de suspensão e na forma gel com adição de PVP. Considerando a avaliação das interações é possível concluir que os grânulos com melhor friabilidade foram aqueles com teofilina e obtidos por suspensão ou gel de nanofibras de celulose adicionados de PVP.

Para avaliar o efeito das NFC foram preparados grânulos contendo somente PVP. A Figura 60 demonstra que as SNFCT_05 foram as que obtiveram melhor friabilidade para os grânulos contendo teofilina.

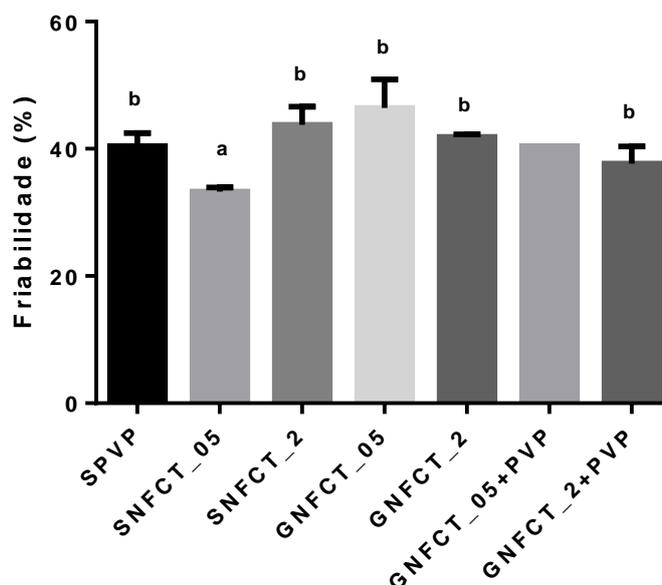


Figura 60. Friabilidade dos grânulos contendo teofilina preparados com os diferentes tipos de aglutinantes. As letras sobre as barras estabelecem as diferenças e representam o resultado do pós-teste de Tukey para alfa = 0,05.

Em estudo realizado por Monteyne et al. (2016), os autores encontraram valores de friabilidade de 43,3 % utilizando polietilenoglicol (PEG) como aglutinante. Não foram especificados valores ideais de friabilidade, porém, os autores justificaram que, para o processo de aglutinação por *hot melting*, se não for aplicado alto cisalhamento para o crescimento dos grânulos, maior quantidade de finos é produzida e, por conseqüência, maior a friabilidade.

Li et al. (2012) em estudo utilizando PVP com diferentes viscosidades como

aglutinante na concentração de 7,5 % (m/m), encontraram valores de 48 % para o PVP de menor viscosidade, 49 % para o PVP K-30, considerado de média viscosidade no estudo, e 22 % para o polímero de maior viscosidade. O mesmo estudo também avaliou a friabilidade de granulados produzidos com hidroxipropilcelulose (HPC), um derivado celulósico como aglutinante. O percentual de friabilidade encontrado foi de 33 %. Os autores relataram que os aglutinantes com maiores valores de viscosidade geraram grânulos mais resistentes. A explicação deu-se com base na teoria do emaranhamento causado pelo polímero, no qual os polímeros formam ligações fortes se houver tempo suficiente para difusão da água utilizada para dispersar o aglutinante.

Sendo assim, a resistência dos grânulos pôde ser modelada de acordo com a seguinte relação: a resistência do grânulo é proporcional à porosidade, à viscosidade e à concentração do ligante (LI et al., 2012). A relação entre a friabilidade e porosidade, a partir da análise dos dados apresentados nas Tabelas 11 e 13, não apresentou correlação ($r^2 = 0,7497$), entretanto, percebeu-se que quanto mais porosos os grânulos, mais friáveis estes foram. Essa observação pôde ser confirmada pelos estudos realizados por Patel et al. (2011b), no qual a maior porosidade dos grânulos preparados com celulose microcristalina foram mais susceptíveis à quebra. De acordo com Gokhale e Trivedi (2010), grânulos muito porosos possuem maior propensão à fragmentação. Por outro lado, quando se intenciona utilizar os grânulos para a produção de comprimidos a maior fragmentação leva a maior dureza dos comprimidos.

5.3.7 Resistência à compressão de múltiplos grânulos

Teoricamente, quanto maior a força aplicada sobre a massa de granulado, mais resistentes à compactação estes são. Para as amostras contendo teofilina na composição, o granulado SPVP foi o que apresentou maior força de compactação ($6,8 \pm 0,3$ kg), seguido do granulado GNFCT_05+PVP ($3,8 \pm 0,2$ kg) e do granulado GNFCT_2+PVP ($3,5 \pm 0,06$ kg). A menor força de compactação foi obtida para o granulado GNFCT_05 ($2,7 \pm 0,03$ kg). Já para as amostras Branco, as maiores forças de compactação foram para B_GNFCT_05+PVP ($5,9 \pm 0,2$) e B_GNFCT_2+PVP ($4,9 \pm 0,2$ kg), seguido do B_SPVP ($3,6 \pm 0,8$ kg).

O ensaio de resistência à compressão foi realizado para os granulados produzidos com as diferentes apresentações de aglutinantes de NFCT e os resultados são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Resistência à compressão dos granulados contendo teofilina e Branco preparados com aglutinantes derivados de nanofibras de celulose de caule de tabaco (NFCT) e PVP.

Amostra	Força (kgf)
SPVP	6,8 ± 0,3
SNFCT_05	3,3 ± 0,2
SNFCT_2	3,5 ± 0,3
GNFCT_05	2,7 ± 0,03
GNFCT_2	3,2 ± 0,1
GNFCT_05+PVP	3,8 ± 0,2
GNFCT_2+PVP	3,5 ± 0,06
B_SPVP	3,6 ± 0,8
B_SNFCT_05	2,8 ± 0,3
B_SNFCT_2	2,6 ± 0,3
B_GNFCT_05	1,3 ± 0,1
B_GNFCT_2	0,7 ± 0,2
B_GNFCT_05+PVP	5,9 ± 0,2
B_GNFCT_2+PVP	4,9 ± 0,2

Desvio padrão da média de 5 determinações (n=5).

Aplicando-se uma análise estatística de um fator (ANOVA) nos dados referentes à força de compactação, obteve-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos (com teofilina e Branco), ou seja, as forças de compactação obtidas são diferentes nos granulados contendo teofilina em relação aos sem teofilina, confirmando a observação realizada a partir da Tabela 14.

Essa diferença presente no grupo das amostras contendo teofilina e Branco pode indicar que a presença de teofilina interfere no resultado, uma vez que as forças de compactação obtidas foram diferentes entre os grupos. Também foi avaliado apenas o grupo de amostras contendo teofilina e evidenciou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre as forças de compactação obtidas. Esse resultado indica que a concentração de nanofibras pode influenciar na força necessária para a compressão do granulado.

A influência da concentração das nanofibras como aglutinante também foi avaliada estatisticamente (ANOVA, $p < 0,05$) aplicando-se um pós-teste de Tukey (alfa = 0,05). Os granulados preparados com suspensão de nanofibras de caule de tabaco nas concentrações de 0,5 e 2,0 % (m/v) não apresentaram diferença significativa em relação à força de compactação. O restante das amostras, apresentaram diferença significativa. Uma possível explicação para

essa situação pode se dar em função da teofilina e da lactose serem substâncias classificadas como solúveis em água (USP 31, 2008) e o PVP e as NFC serem altamente hidrofílicas (KAO, LO, LEE, 2003; LI et al., 2011b).

A teofilina anidra e a lactose são hidratos cristalinos formando sólidos cujas superfícies externas podem absorver pequenas quantidades de água. Todos os sólidos formadores de hidratos cristalinos permitem que as moléculas de água penetrem em suas redes cristalinas onde podem formar ligações de hidrogênio (MORRIS et al., 2001). Em condições de baixa umidade a teofilina anidra e a lactose são transformadas em seus polimorfos monohidratados. Com o aumento do teor de umidade, as moléculas de água não podem mais penetrar na estrutura cristalina e elas são, então, adsorvidas à superfície do cristal (ARAIKSINEN et al., 2003).

Se o componente é solúvel em água, como a lactose monohidratada, tende a dissolver-se na sua própria água sorvida quando o teor de umidade atinge seu nível crítico. Em tais casos, o volume total da fase líquida ao invés do teor de umidade controla o comportamento da granulação. Como o nível de líquido na superfície aumenta, os filmes líquidos móveis formam pontes no qual a pressão capilar e as forças interfaciais criam ligações fortes (ARAIKSINEN et al., 2003). Os filmes líquidos móveis são pré-requisito para a formação das pontes sólidas promovidas pela presença de aglutinantes (AULTON & SUMMERS, 2013).

Sendo assim, nos granulados Branco, compostos apenas de lactose e nanofibras de celulose como aglutinante, a lactose também funcionou como um ligante e formou pontes líquidas entre as partículas porque dissolveu-se quando o conteúdo de água aumentou (ARAIKSINEN et al., 2003). A mesma situação ocorre nos grânulos contendo teofilina que além da lactose e das nanofibras há a presença da teofilina que incrementa a formação das pontes líquidas em função da maior quantidade de umidade na mistura fazendo com que após a secagem apresentem maior quantidade de pontes sólidas favorecendo a resistência dos grânulos. Essa explicação é compatível com o resultado obtido para a friabilidade, no qual o granulado que apresentou melhor resistência à abrasão em comparação com o granulado preparado com PVP, foi o SNFCT_05, enquanto que os grânulos Branco não apresentaram resultados satisfatórios para o parâmetro.

Do mesmo modo, a diferença na resistência à compactação das amostras GNFCT_05+PVP e GNFCT_2+PVP em relação à SPVP se deve à presença de PVP na formulação, pois a tendência é o PVP migrar até a superfície das partículas e formar uma espécie de película, protegendo-as. O granulado SPVP possui 100 % da concentração utilizada

(7,5 %, m/m), enquanto que as formulações GNFCT_05 e GNFCT_2 possuem 20 % da concentração de nanofibras.

Em estudo realizado por Li et al. (2011a), os autores relataram que os granulados preparados com PVP K29-32 apresentaram 14 % de perda no ensaio de friabilidade quando comparado com PVP K-12, de menor massa molar, que apresentou 70 % de perda. Sendo assim, os autores concluíram que a utilização do PVP K29-32 diminuiu a fragilidade dos grânulos e apresentaram a maior força de compactação dentre os aglutinantes avaliados (LI et al., 2011a). Contudo, no presente estudo, foi possível verificar que os grânulos preparados com PVP e com a mistura binária de NFC+PVP, apesar de não terem apresentado os menores percentuais de perda na friabilidade (Tabela 12), foram as amostras que necessitaram de maior força de compactação (Tabela 14). De fato, a combinação de NFC com o PVP como aglutinante nas amostras (GNFCT_05+PVP e GNFCT_2+PVP) gerou resultados mais próximos aos obtidos com a amostra de grânulos denominada SPVP.

A massa dos granulados compactados formou um compacto com 5 mm de altura e 10 mm de diâmetro (Figura 61).

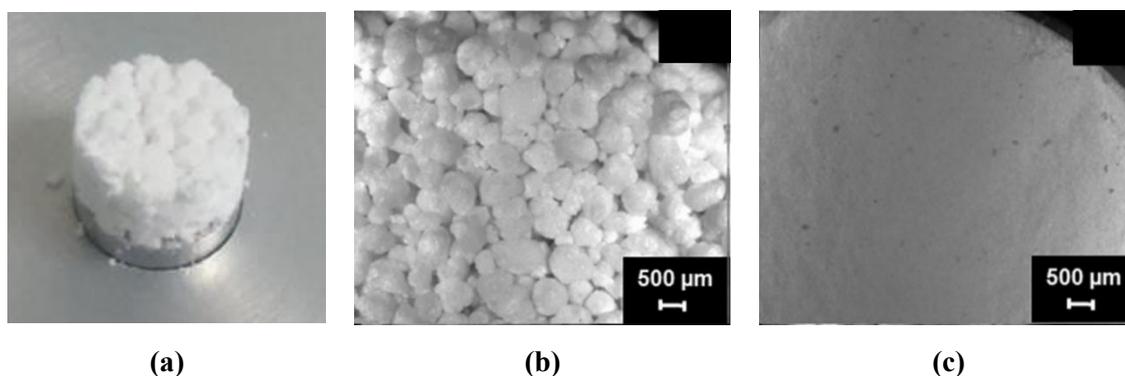


Figura 61. (a) Registro fotográfico de grânulos compactados de teofilina preparados com derivados de nanofibras de caule de tabaco (NFCT) como aglutinante em comparação com (b) comprimidos produzidos com grânulos de celulose microcristalina (seção transversal) e (c) comprimidos produzidos com pó de celulose microcristalina (seção transversal) (Imagens (b –c) adaptadas de NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015).

A massa compactada de granulados foi formada até a obtenção do ponto de ruptura do granulado, sendo que este demonstrou ser muito frágil ao toque desintegrando-se. Observando a Figura 61(a), foi possível constatar que a superfície do compacto contendo teofilina e NFCT como aglutinante era formada de grânulos, mas ao desmanchá-los, seu interior encontrava-se na forma de pó.

Em estudo realizado por Nordström e Alderborn (2015) utilizando granulados esféricos formados com celulose microcristalina (CMC), Figura 61(b), por granulação via úmida, observou-se que estes puderam ser considerados moldáveis apresentando rachaduras e limitada fragmentação durante a compressão. Contudo, um comprimido formado com grânulos predominantemente deformantes pode ser descrito como um conjunto de grânulos deformados forçados a uma íntima proximidade e intercalados entre fragmentos ou partículas formadas pela fratura ou atrito (NORDSTRÖM & ALDERBORN, 2015). Os autores reportaram que a superfície dos comprimidos produzidos com pó de CMC, Figura 61(c), se apresentou mais lisa e “suave”, enquanto que comprimidos produzidos com grânulos de CMC apresentaram a superfície mais rugosa composta de grânulos deformados. Dessa forma, os dados relatados na literatura correspondem com os obtidos no presente estudo.

Mangwandi et al. (2010) relaciona a resistência dos granulados com o tipo de aglutinante utilizado. Os autores citam, por exemplo, que granulados preparados com água como aglutinante geram grânulos menos resistentes.

Patel et al. (2011b) relatou que a porosidade é um fator que também pode influenciar na resistência do material e nas propriedades de um sólido. Os autores relataram, ainda, que o monitoramento de propriedades como densidade dos pós utilizados no desenvolvimento de formulações tem sido uma etapa que merece atenção. Teoricamente, espera-se que com a diminuição da porosidade aumente a resistência dos granulados (MANGWANDI et al., 2010).

Essa propriedade pôde ser confirmada para as amostras de granulados contendo nanofibras de caule de tabaco como aglutinante, onde amostras que apresentaram menor tamanho de poro, também apresentaram a aplicação de maior força de compactação (GNFCT_05, GNFCT_2, GNFCT_05+PVP e GNFCT_2+PVP). Embora os granulados SPVP e SNFCT_05 tenham apresentado tamanhos de poros semelhantes (1,88 e 1,89 μm , respectivamente), a força de compactação foi amplamente maior para o granulado SPVP do que para SNFCT_05. Essa diferença pode estar relacionada com as ligações interparticulares geradas entre os diferentes aglutinantes utilizados.

Zuurmann et al. (1994) relataram que a resistência do granulado seco de lactose geralmente diminui quando a densidade aparente aumenta. No estudo realizado por Murakami et al. (2001), os autores também observaram a diminuição da resistência dos grânulos com o aumento da densidade do granulado produzidos em diferentes métodos de granulação.

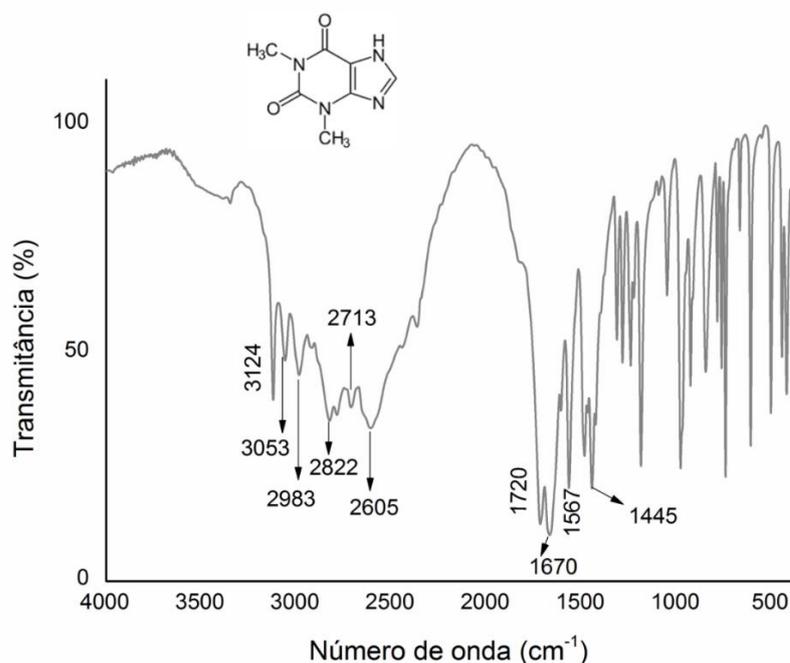
Ao relacionar os resultados de densidade aparente e força de compactação, foi possível confirmar o relatado na literatura. Os granulados contendo nanofibras de celulose de caule de

tabaco (NFCT) com menores valores de densidade aparente foram os que necessitaram de maior força de compactação (SPVP, SNFCT_2, GNFCT_05+PVP).

5.3.8 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier* dos granulados

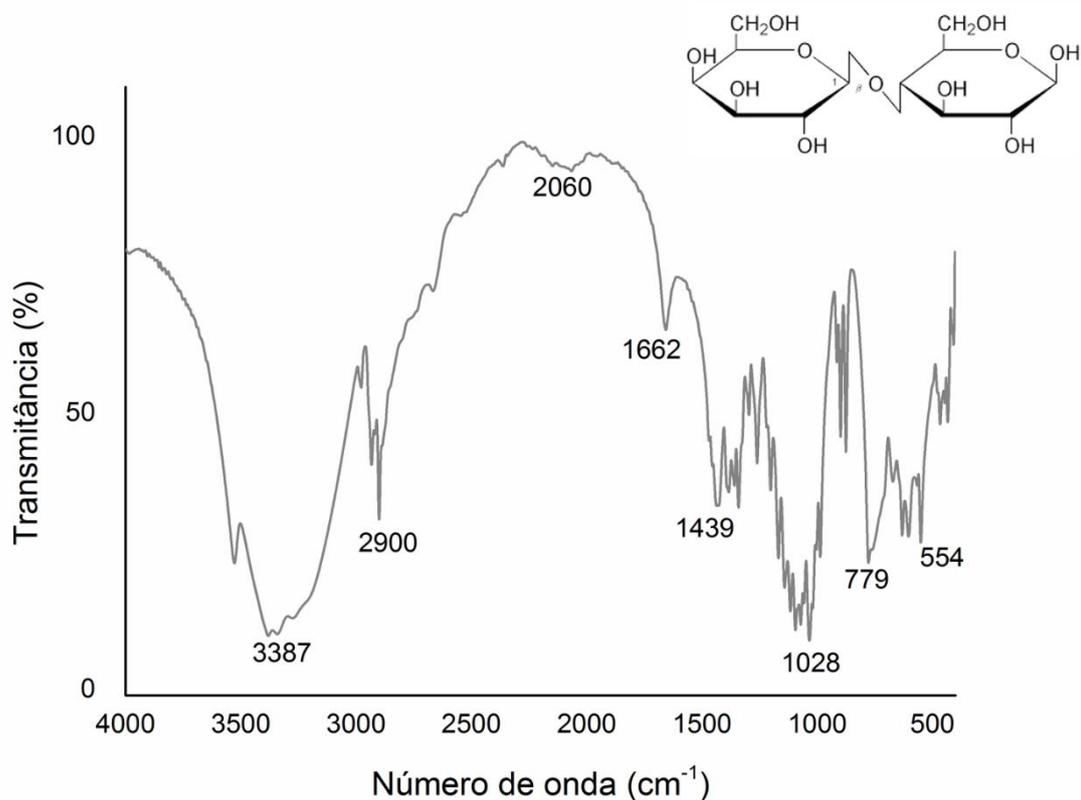
As amostras de granulados foram submetidas a análise de FTIR para avaliar se houve alteração química das substâncias após processo de granulação.

As Figuras 62, 63 e 64 apresentadas a seguir correspondem aos espectros de FTIR, com suas respectivas atribuições de banda de absorção, das substâncias utilizadas na preparação dos granulados, teofilina, lactose e PVP, respectivamente.



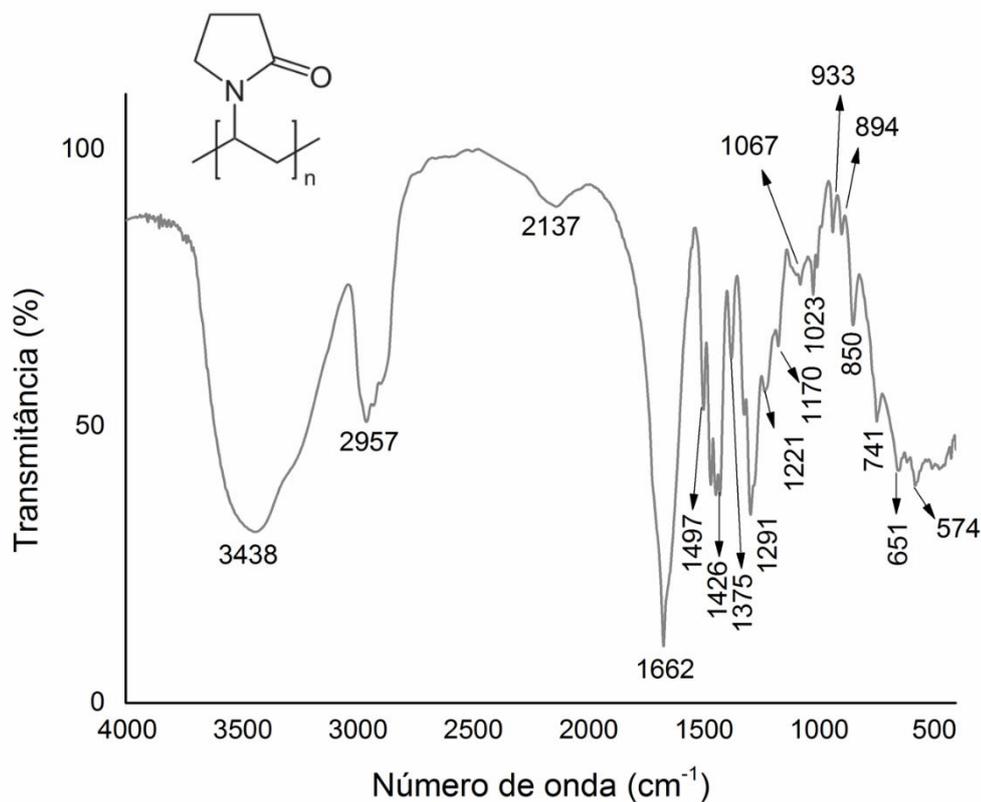
Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
3124	v C-H	ECHEVERRÍA et al., 2015.
3053	v N-H	ECHEVERRÍA et al., 2015.
1720	v C=O da acetona	SEKHARAN et al., 2011.
1670	v C=C	SEKHARAN et al., 2011 ; ECHEVERRÍA et al., 2015.
1567	v C=N	ECHEVERRÍA et al., 2015.

Figura 62. Espectro no FTIR com bandas e respectivos grupamentos funcionais da teofilina. O símbolo v significa estiramento.



Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
3387	ν O-H	KIRK, DANN, BLATCHFORD, 2007; LISTIOHADI et al., 2009.
1662	δ O-H da água	KIRK, DANN, BLATCHFORD, 2007; LISTIOHADI et al., 2009.
1439	δ C-H em -CH ₂ de um grupo etoxi	BALIEIRO et al., 2016.
1028	ν C-O-C (assimétrica) da glicose e galactose	LISTIOHADI et al., 2009; BALIEIRO et al., 2016.
779	Alongamento e estiramento da ligação glicosídica C-O-C	KIRK, DANN, BLATCHFORD, 2007.

Figura 63. Espectro no FTIR com bandas e respectivos grupamentos funcionais da lactose. Os símbolos ν e δ significam estiramento e deformação, respectivamente.



Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
3438	v O-H	LIU et al., 2008; KOCZKUR et al., 2015.
2957	v C-H (assimétrica)	LIU et al., 2008; KOCZKUR et al., 2015.
1662	v C=O	LIU et al., 2008; KOCZKUR et al., 2015.
1497	Banda de absorção característica do grupo pirrolidinil	LIU et al., 2008; KOCZKUR et al., 2015.
1426	Banda de absorção característica do grupo pirrolidinil	LIU et al., 2008; KOCZKUR et al., 2015.
1221	v C-N	LIU et al., 2008; KOCZKUR et al., 2015.
1023	v C-N	LIU et al., 2008; KOCZKUR et al., 2015.

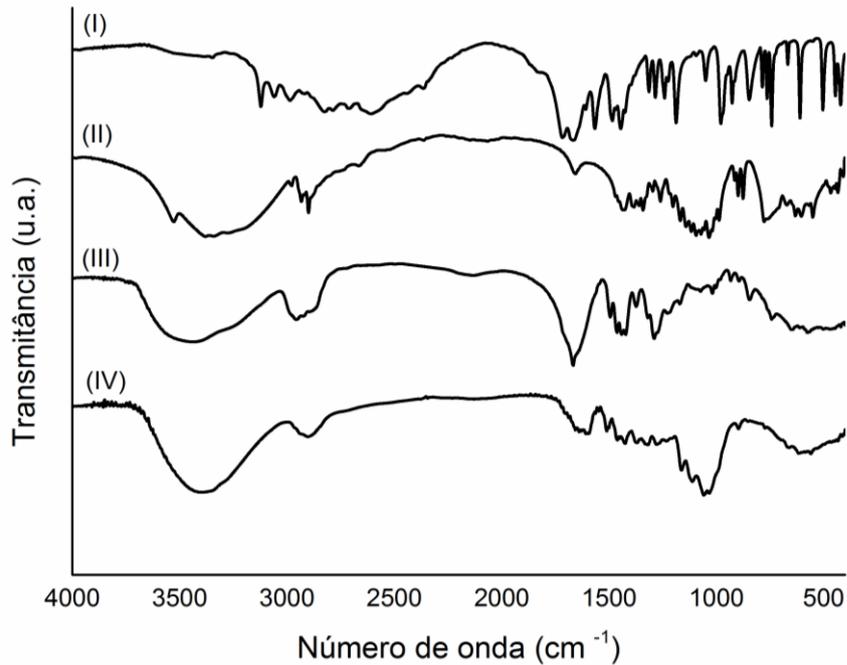
Figura 64. Espectro no FTIR com bandas e respectivos grupamentos funcionais da polivinilpirrolidona (PVP). O símbolo v significa estiramento.

Os espectros no FTIR das nanofibras de caule de tabaco a 0,5 e 2,0 %, m/v (NFCT_05 e NFCT_2) foram discutidos e apresentados na Etapa 1.

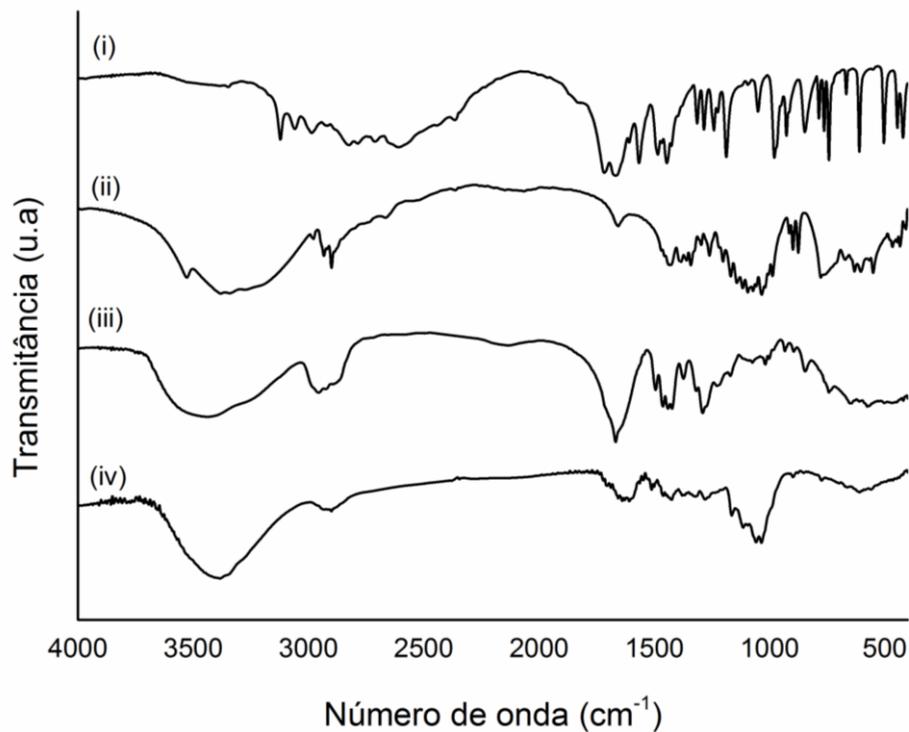
A literatura (AL-AKAYLEH, et al., 2013) também relata a utilização de FTIR para a verificação de possíveis incompatibilidades químicas entre os compostos de uma formulação.

Essas interações são evidenciadas pelas mudanças nas intensidades das bandas de absorção dos compostos em relação ao seu comportamento fora da mistura.

A Figura 65 apresenta os espectros obtidos para as misturas de teofilina, lactose, PVP e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 e 2,0 % (m/v), respectivamente.



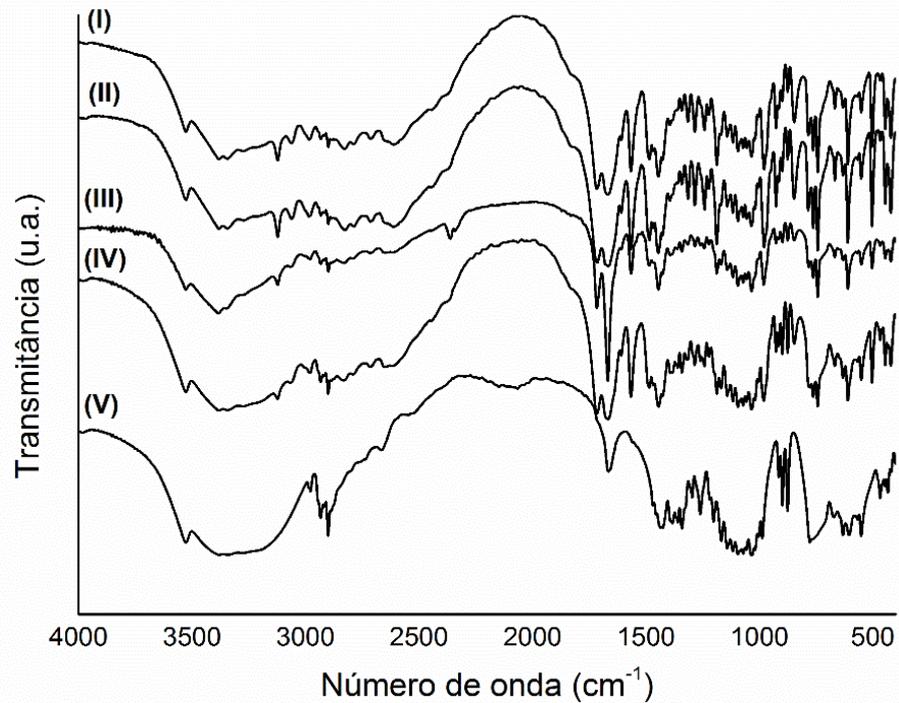
(a)



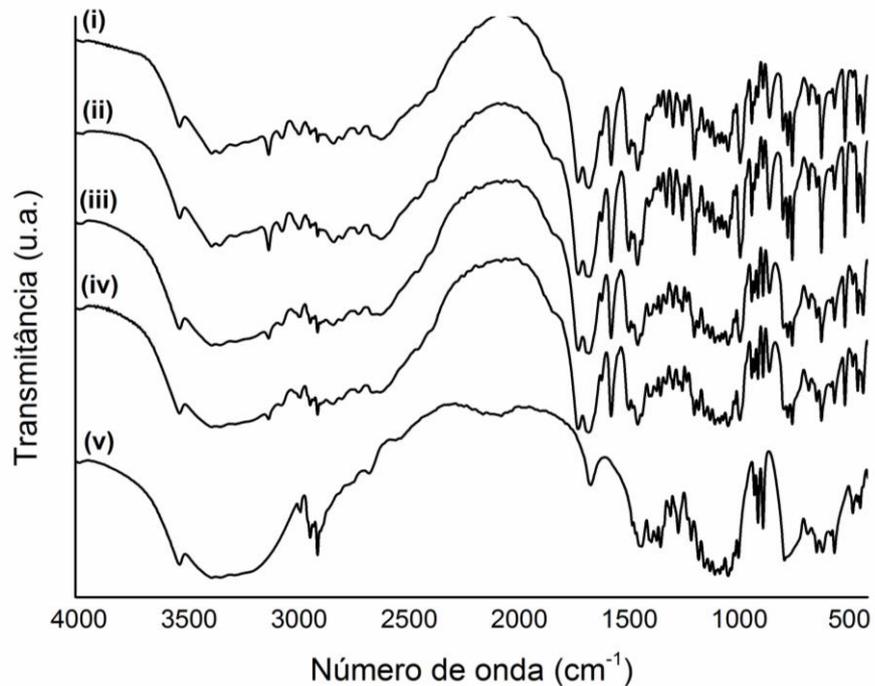
(b)

Figura 65. Espectros no FTIR das misturas (a) contendo nanofibras de caule de tabaco a 0,5 % como aglutinante, sendo (I) teofilina, (II) lactose, (III) PVP e (IV) NFCT_05 e (b) contendo nanofibras de caule de tabaco a 2,0 %, sendo (i) teofilina, (ii) lactose, (iii) PVP e (iv) NFCT_2.

Com o objetivo de verificar a ocorrência ou não de interações entre os compostos após o processo de granulação, foram conduzidas análises de FTIR para os granulados (Figura 66).



(a)



(b)

Figura 66. Espectros no FTIR dos granulados produzidos com (a) nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5% em que (I) SPVP; (II) SNFCT_05; (III) GNFCT_05; (IV) GNFCT_05+PVP e (V) sem teofilina e (b) nanofibras de celulose de tabaco a 2,0% em que (i) SPVP; (ii) SNFCT_2; (iii) GNFCT_2; (iv) GNFCT_2+PVP e (v) sem teofilina.

A partir da análise dos espectros apresentados na Figura 66 foi possível perceber que não ocorreu interação química nas amostras produzidas com nanofibras de caule de tabaco a 0,5 e 2,0% constatada pela ausência de mudança nas bandas. As únicas diferenças apresentadas nos espectros das Figuras. 66(a)-(V) e 66(b)-(v) foi a ausência das bandas referentes à teofilina. Isso ocorreu devido às amostras terem sido produzidas sem teofilina.

Os granulados que contém PVP em sua composição são as amostras GNFCT_05+PVP, GNFCT_2+PVP e SPVP, sendo que as bandas de absorção referentes a essa substância estão presentes apenas nestas amostras.

5.3.9 Doseamento da teofilina nos granulados

A determinação do teor de teofilina presente nos granulados foi realizada para as amostras contendo nanofibras de celulose do caule de tabaco a 0,5 e 2,0 % (m/v) aplicando-se a Equação 9. A curva de calibração gerada utilizando o padrão de teofilina 99,1 % é apresentada na Figura 67.

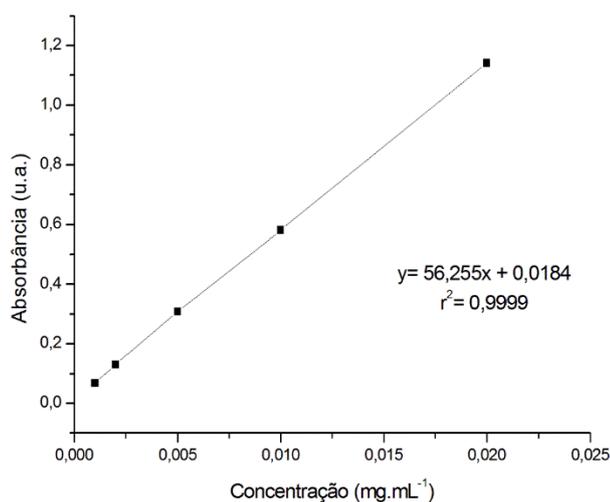


Figura 67. Curva padrão de teofilina obtida em espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 271 nm apresentando coeficiente de correlação (r^2) de 0,9999.

A curva padrão de teofilina obtida em espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 271 nm apresentou comportamento linear sendo os dados do teor de teofilina dos grânulos apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Teor médio de teofilina presente nos granulados contendo PVP e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 e 2,0 % obtidas por moagem micronizador.

Granulados	Teor (%)
SPVP	88,3 ± 1,3
SNFCT_05	99,4 ± 3,3
SNFCT_2	95,0 ± 3,5
GNFCT_05	100,5 ± 3,0
GNFCT_2	97,6 ± 1,8
GNFCT_05+PVP	95,0 ± 1,3
GNFCT_2+PVP	93,0 ± 1,0

Priorizou-se a amostragem do topo, meio e fundo das embalagens onde os granulados encontravam-se armazenados, obtendo-se, então, o teor médio de teofilina em cada amostra de granulados (Tabela 15). Os grânulos preparados com as nanofibras de caule de tabaco (NFCT) apresentaram teor acima de 90 %, enquanto que o granulado SPVP, produzidos com PVP como aglutinante, apresentou teor de 88,3 %. A diferença de teor encontrada pode ser devido às falhas de mistura do fármaco ao restante da formulação ou em função da fração granulométrica escolhida para o trabalho. No entanto, os granulados, com exceção da amostra SPVP apresentaram teores dentro da faixa especificada pela farmacopeia americana (USP 31, 2008), entre 90-110 %.

Para a produção das cápsulas contendo os granulados para posterior realização do ensaio de dissolução dos granulados, a amostra SPVP, que não atingiu o teor de 100 % foi corrigida aplicando-se um fator de correção.

5.3.10 Ensaio de dissolução dos granulados

Foram preparadas cápsulas contendo aproximadamente 400 mg de granulado para se ter 0,5 mg de teofilina. Também foram preparadas cápsulas Branco, ou seja, contendo somente a mistura de lactose e aglutinante, sem a presença de teofilina.

Para o estudo de dissolução utilizou-se metodologia previamente validada. As concentrações de teofilina liberada nos tempos predeterminados foram avaliadas por UV com base na curva de calibração (Figura 68) com linearidade na faixa de 4,0 a 9,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r^2 = 0,9997 \pm 0,0054$ %).

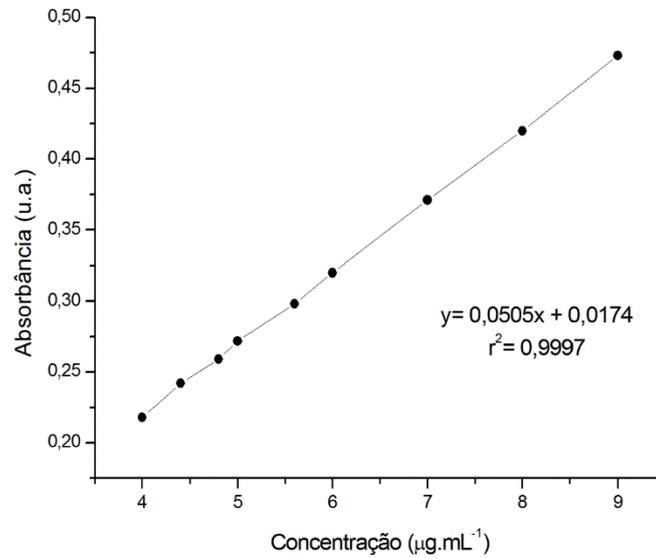


Figura 68. Curva padrão de teofilina obtida em espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 271 nm apresentando coeficiente de correlação (r^2) de 0,9997 e equação da reta para realização dos cálculos de dissolução.

A dissolução dos granulados contendo teofilina, contidos em cápsulas de gelatina dura foi comparada com a dissolução dos granulados Branco. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras 69 e 70.

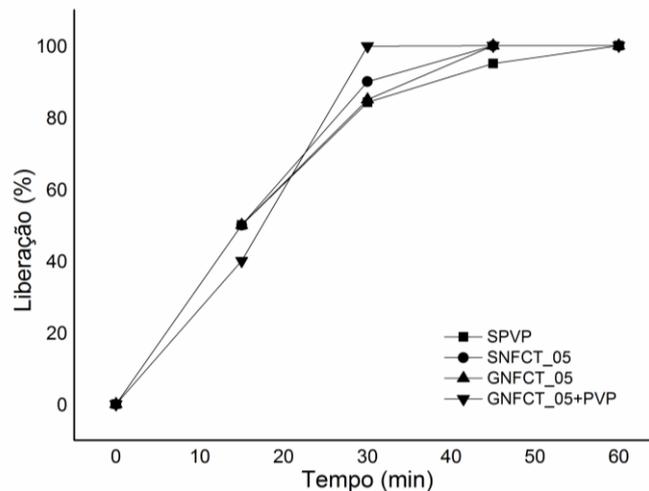


Figura 69. Análise da dissolução dos granulados contendo teofilina e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5% como aglutinante.

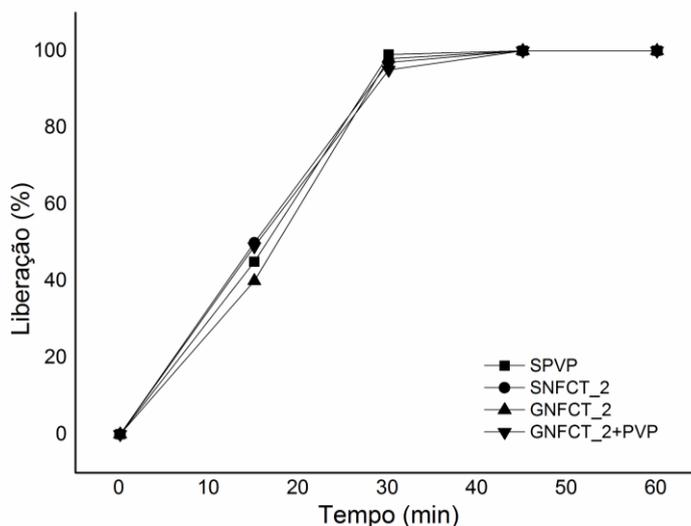


Figura 70. Análise da dissolução dos granulados contendo teofilina e nanofibras de celulose de caule de tabaco a 2,0% como aglutinante.

Os granulados preparados com nanofibras de celulose de caule de tabaco a 0,5 e 2,0 % (m/v) como aglutinante apresentaram 100 % de liberação de teofilina em 30 minutos de ensaio, comportamento semelhante ao da amostra SPVP, cujo aglutinante utilizado foi o PVP. As nanofibras de celulose de caule de tabaco não alteraram o comportamento da liberação da teofilina, sendo a liberação classificada para o experimento e para SPVP como imediata, conforme critérios da farmacopeia americana (USP 31, 2008). Contudo, esperava-se que em função da presença de nanofibras de celulose, a liberação do fármaco a partir desse sistema poderia ter sido modificada. Resultados semelhantes foram relatados por Gakani, Torshizi e Sadeghi (2014), no qual referiram a rápida liberação de fármaco à grande área superficial disponível nos grânulos, porém, ao aumentar a proporção de polímero à mistura fármaco-excipientes, os autores mencionaram uma ligeira redução na liberação do fármaco.

Estudos utilizando nanocelulose na produção de comprimidos já foram relatados na literatura (KOLAKOVIC et al., 2011; KOLAKOVIC et al., 2012; KOLAKOVIC et al., 2013; CARLSSON et al., 2014; SVAGAN et al., 2016). No entanto, não foram relatados estudos utilizando nanofibras de celulose como agente aglutinante na produção de granulados.

Esse comportamento foi comprovado no presente estudo com os grânulos SPVP, no qual em algumas cubas do equipamento a amostra apresentou uma média de 64 % de teofilina liberada nos primeiros 30 minutos de ensaio. Entretanto, os granulados contendo gel de nanofibras de celulose associadas ao PVP (GNFCT_05+PVP e GNFCT_2+PVP) apresentaram em algumas replicatas, um sutil retardo na liberação da teofilina nos primeiros 30 minutos, mas que na média geral do ensaio atingiu 100 % de liberação no tempo avaliado.

Uma importante e positiva característica observada durante os ensaios foi a não dissolução da celulose no líquido dissolutor (Figura 71), cuja composição simula o líquido gástrico do corpo humano.

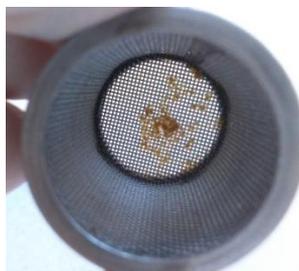


Figura 71. Registro fotográfico da celulose retida no aparato (cesto) do dissolutor após o ensaio.

Esse resultado indica que, possivelmente, as nanofibras de celulose de caule de tabaco não são absorvidas pelo organismo humano, semelhantemente ao que ocorre com a celulose microcristalina (CMC) (THOORENS, et al., 2014) e com o PVP (KOCZKUR et al., 2015). Essa evidência pode acarretar na aplicação das nanofibras de celulose, não apenas como agentes aglutinantes no preparo de grânulos, mas também como matéria-prima, com determinadas funções (diluyente, desintegrante, etc), a serem estudadas, como adjuvantes de compressão.

5.4 CONSIDERAÇÕES DA ETAPA 2

A principal motivação da utilização das NFC de caule de tabaco levou em consideração a possibilidade de reaproveitamento de um material que seria descartado para sua aplicação como aglutinante no preparo de grânulos, com o intuito de substituir os aglutinantes comumente utilizados como a polivinilpirrolidona (PVP) e a celulose microcristalina (CMC).

Apesar da CMC ser um aglutinante para processo de granulação por via seca e do presente estudo utilizar um derivado celulósico como aglutinante para granulação por via úmida, foi possível obter granulados com as NFC. Nesse sentido, os grânulos de teofilina preparados com as NFC apresentaram resultados semelhantes aos obtidos com os grânulos preparados com PVP.

Os granulados preparados com nanofibras de celulose apresentaram em cada análise realizados resultados diferentes para cada apresentação de aglutinante (suspensão, gel ou mistura de gel+PVP).

O processo de granulação da teofilina resultou na melhora do fluxo do fármaco.

Em relação à classificação granulométrica, padronizou-se a utilização dos grânulos que apresentaram maior percentual retido na faixa de abertura de malha de 710-500 μm em função de ser um tamanho de grânulo nem muito grande, nem muito pequeno, ideal para uma posterior etapa de compressão.

A utilização de nanofibras de caule de tabaco em concentrações de sólidos diferentes (0,5 e 2,0 %, m/v) apresentou formato de grânulo e rugosidade da superfície semelhante dentre os grânulos, sendo possível observar nas micrografias no MEV-EC e no MO.

Os granulados preparados com as NFCT apresentaram propriedades de fluxo superiores às do granulado com PVP, apresentando rápido tempo de liberação de teofilina.

Os grânulos são passíveis de compressão, no entanto, estudos adicionais com adjuvantes de compressão devem ser feitos para melhorar as características do produto final.

A partir das observações feitas, especialmente em função do ensaio de resistência à compressão ter sido realizado diretamente com os grânulos, sem a adição de adjuvante de compressão, acredita-se que os grânulos preparados com NFC de caule de tabaco apresentam viabilidade para serem usados como forma farmacêutica intermediária na preparação de comprimidos. Considerando o pioneirismo na aplicação destas matérias-primas na área farmacêutica, estudos complementares ainda são necessários.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo a preparação e a caracterização de granulados contendo teofilina utilizando nanofibras de celulose (NFC) obtidas de biomassas de resíduo de aparas de papel e caule de tabaco atuando como aglutinante, no preparo de grânulos para posterior produção de comprimidos. As principais conclusões deste estudo são a seguir apresentadas.

A biomassa de caule de tabaco não apresenta nicotina em sua composição.

Com relação aos parâmetros processuais da moagem de biomassas de forma a produzir NFC a presença de saponinas na biomassa de caule de tabaco diminuiu após o tratamento de mercerização.

A liofilização é o método de secagem mais eficiente para visualização (por MEV-EC e DRX) de nanofibras individualizadas.

Com relação à influência das dimensões das nanofibras, a concentração do material influencia no diâmetro das fibras liofilizadas, quanto maior a concentração, menor o diâmetro obtido.

Em relação às formulações preparadas com nanofibras de celulose comparadas com polivinilpirrolidona os grânulos com NFC são menos resistentes, contudo os grânulos preparados com suspensão a 2,0 % (SNFCT_2) e com gel a 0,5 % (GNFCT_05) possuem melhores propriedades de fluxo. Para os parâmetros de porosidade, área superficial e distribuição granulométrica, os resultados são semelhantes aos encontrados com a polivinilpirrolidona para os grânulos SNFCT_05 e SNFCT_2.

Dentre os granulados preparados, observou-se que não há diferença em relação à concentração das nanofibras de celulose quando estas se apresentam na forma de suspensão, no entanto, há diferença quando estão na forma gelificada e também quando o PVP é adicionado. Sendo assim, os grânulos preparados com suspensões de nanofibras nas duas concentrações avaliadas, 0,5 e 2,0 % (m/v) (SNFCT_05 e SNFCT_2) são as melhores formulações.

REFERÊNCIAS

ABDUL KHALIL, H. P. S.; BHAT, A. H.; IREANA YUSRA, A. F. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. **Carbohydrate Polymers**, 87, 963–979, 2012.

ABDUL KHALIL, H. P. S., APRILIA, N. A. S., BHAT, A. H., JAWAID, M., PARIDAH, M. T., & RUDI, D. A Jatropha biomass as renewable materials for biocomposites and its applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 22, 667–685, 2013.

ABDUL KHALIL, H. P. S., DAVOUDPOUR, Y., ISLAM, M. N., MUSTAPHA, A., SUDESH, K., DUNGANI, R., & JAWAID, M. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. **Carbohydrate Polymers**, 99, 649–665, 2014.

ABE, K.; IWAMOTO, S.; YANO, H. Obtaining cellulose nano fibers with a uniform width of 15 nm from wood. *Biomacromolecules*, 8, 8276-8287, 2007.

ABUSHAMMALA, H.; HASHAIKEH, R.; COONEY, C. Microcrystalline cellulose powder tableting via networked cellulose-based gel material. **Powder Technology**, 217, 16–20, 2012.

AFRA, E.; YOUSEFI, H.; HADILAM, M. M.; NISHINO, T. Comparative effect of mechanical beating and nanofibrillation of cellulose on paper properties made from bagasse and softwood pulps. **Carbohydrate Polymers**, 97, 725-730, 2013.

AGRAWAL, R.; NAVEEN, Y. Pharmaceutical processing – a review on wet granulation. **International Journal of Pharmaceutical Frontier Research**, 1(1), 65-83, 2011.

AGRUPIS, S. C., & MAEKAWA, E. Industrial Utilization of Tobacco Stalks (1) Preliminary Evaluation for Biomass Resources. **Holzforschung**, 53(1), 29–32, 1999.

AGRUPIS, S. C., MAEKAWA, E., & SUZUKI, K. Industrial utilization of tobacco stalks II: Preparation and characterization of tobacco pulp by steam explosion pulping. **Journal of Wood Science**, 46(3), 222–229, 2000.

AHMAD, M.; FATTAH, A.; HRIDAYA, N.; BHARGAYA, N. Preparation and in

vitro evaluation of solid dispersions of halofantrine. **International Journal of Pharmaceutics**, 235, 17-33, 2002.

AHOLA, S.; OSTERBERG, M.; LAINE, J. Cellulose nanofibrils-adsorption with poly(amideamine) epichlorohydrin studied by QCM-D and application as a paper strength additive. **Cellulose**, 15, 303-314, 2008.

AIRAKSINEN, S.; LUUKKONEN, P.; JORGENSEN, A.; KARJALAINEN, M.; RANTANEN, J. ; YLIRUUSI, J. Effects of excipients on hydrate formation in wet masses containing theophylline. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 92(3), 516-528, 2003.

AKPINAR, O., ERDOGAN, K., BAKIR, U., & YILMAZ, L. Comparison of acid and enzymatic hydrolysis of tobacco stalk xylan for preparation of xylooligosaccharides. **Food Science and Technology**, 43(1), 119–125, 2010.

AL-AKAYLEH, F.; AL-MISHLAB, M.; SHUBAIR, M.; ALKHATIB, H. S.; RASHID, I.; BADWAN, A. Development and evaluation of a novel, multifunctional, co-processed excipient via roller compaction of α -lactose monohydrate and magnesium silicate. **Journal of Excipients and Food Chemistry**, 4(2), 27-37, 2013.

ANSARI, M. A.; STEPANEK, F. The effect of granule microstructure on dissolution rate. **Powder Technology**, 181, 104-114, 2008.

ARNOUL-JARRIAULT, B.; LACHENAL, D.; CHIRAT, C.; HEUX, L. Upgrading softwood bleached kraft pulp to dissolving pulp by cold caustic treatment and acid-hot caustic treatment. **Industrial Crops and Products**, 65, 565-571, 2015.

ASHORI, A., BABAEE, M., JONOABI, M., & HAMZEH, Y. Solvent-free acetylation of cellulose nanofibers for improving compatibility and dispersion. **Carbohydrate Polymers**, 102, 369-375, 2014.

ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL (AFUBRA, 2017). Disponível em: <<http://www.afubra.com.br>>. Acesso em: 09 jan. 2017.

AULTON, M. E.; SUMMERS, M. P. Powders, granules and granulation. In: Aulton's Pharmaceutics – The design and manufacture of medicines. 4th edition. Chapter 8. Churchill Livingstone Elsevier: London, 910 p., 2013.

AULTON, M. E. Powder flow. In: Aulton's Pharmaceutics – The design and manufacture of medicines. 4th edition. Chapter 12. Churchill Livingstone Elsevier: London, 910 p., 2013.

BALIEIRO, A. L.; SANTOS, R. A.; PEREIRA, M. M.; FIGUEIREDO, R. J.; FREITAS, L. S.; ALSINA, O. L. S.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. F. Adsorption process of molecularly imprinted silica for extraction of lactose from milk. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 33(2), 361-372, 2016.

BALZAR, D. Voigt-function model in diffraction line-broadening analysis, microstructure analysis from diffraction. **International Union of Crystallography**, 1999.

BECK, S.; BOUCHARD, J.; BERRY, R. Dispersibility in water of dried nanocrystalline cellulose. **Biomacromolecules**, 13, 1486-1494, 2012.

BHADURI, S. K. et al. Thermal behavior of jute fiber and its components. I: DSC studies. **Cellulose Chemistry and Technology**, 28(4), 391-399, 1994.

BIANCHI, S. E.; WEISS-ANGELI, V.; DE SOUZA, K. C. B.; MIRON, D. S.; CARVALHO, G. A.; SANTOS, V.; BRANDALISE, R. N. Evaluation of the solubility of the HPMC/PVA blends in biological fluids in vitro. **Materials Research**, 14(2), 166-171, 2011.

BOBROVS, R.; SETON, L.; DEMPSTER, N. The reluctant polymorph: investigation into the effect of self-association on the solvent mediated phase transformation and nucleation of theophylline. **CrystEngComm**, 17, 5237-5251, 2015.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5 ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

BRINCHI, L., COTANA, F., FORTUNATI, E., & KENNY, J. M. Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. **Carbohydrate Polymers**, 94(1), 154-169, 2013.

BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British pharmacopoeia 2001**. London: The Stationery Office, 2001.

BUENO, M. A. S. Papel atual das metilxantinas (aminofilina e teofilina) nas doenças respiratórias. **Einstein**, 1, 141-142, 2003.

BUILDERS,P.F.; BONAVENTURE, A.M.; TIWALADE, A.; OKPAKO, L.C.; ATTAMA, A.A. Novel multifunctional pharmaceutical excipients derived from microcrystalline cellulose–starch microparticulate composites prepared by compatibilized reactive polymer blending. **International Journal of Pharmaceutics**, 388, 159–167, 2010.

CAI, B., JACK, A. M., LEWIS, R. S., DEWEY, R. E., & BUSH, L. P. Nicotine biosynthesis, metabolism and translocation in tobacco as determined by nicotine demethylase mutants. **Phytochemistry**, 95, 188–196, 2013.

CANTOR, S.; AUGSBURGER, L. L.; HOAG, S. W.; GERHARDT, A. Pharmaceutical granulation process, mechanism and the use of binders. In: *Pharmaceutical dosage forms: Tablets. Union operations and mechanical properties*, volume 1, 3rd edition, chapter 8. CRC Press:Boca Raton, FL, 656 p., 2008.

CARLSSON, D.O.; HUA, K.; FORSGREN, J.; MIHRANYAN, A. Aspirin degradation in surface-charged TEMPO-oxidized mesoporous crystalline nanocellulose. **International Journal of Pharmaceutics**, 461, 74-81, 2014.

CHAND, N. et al. Structural and thermal studies on sisal fibre. **Journal of thermal analysis**, 32(2), 595-599, 1987.

CHANDRA, J.; GEORGE, N.; NARAYANANKUTTY, S. K. Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from arecanut husk fibre. **Carbohydrate Polymers**, 142, 158-166, 2016.

CHEN, Z., HU, T. Q., JANG, H. F., & GRANT, E. Modification of xylan in alkaline treated bleached hardwood kraft pulps as classified by attenuated total-internal-reflection (ATR) FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, 127, 418-426, 2015.

CHERIAN, B. M., LEÃO, A. L., DE SOUZA, S. F., THOMAS, S., POTHAN, L. A., & KOTTAISAMY, M. Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. **Carbohydrate Polymers**, 81(3), 720–725, 2010.

CIOLACU, D.; CIOLACU, F.; POPA, V. Amorphous cellulose – structure and characterization. **Cellulose Chemistry and Technology**, 45, 13-21, 2011.

CROUTER, A.; BRIENS, L. The effect of the flowability of pharmaceutical excipients. **AAPS Pharmaceutical Science Technology**, 15(1), 2014.

DAWSON, R. F. The localization of the nicotine synthetic mechanism in the tobacco plant. **Science**, 94(2443), 396-397, 1941.

DEMERLIS, C. Regulatory Update: The IPEC novel excipient safety evaluation procedure, **Pharmaceutical Technology**, 33, 72-82, 2009.

DÍAZ POLANCO, I.; GIL APÁN, J. M.; SUZARTE, A. Evaluación de um granulado de acetato polivinilo como nuevo excipiente para compressión directa. **Latin American Journal of Pharmacy**, 26(4), 548-552, 2008.

DUCHEMIN, B. J. C; MATHEW, A. P.; OKSMAN, K. All-cellulose composites by partial dissolution in the ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, 40(12), 2031-2037, 2009.

DURBIN, R. D. **Nicotiana: procedures for experimental use**. Washington: USDA, Department of Agriculture, Technical Bulletin, 1586, 1979. Disponível em: <<http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/158055/2/tb1586.pdf>>. Acesso em: 22 ago 2016.

DUTRA, E. J.; HILSINGER, R. A cadeia produtiva do Tabaco na região Sul do Brasil: aspectos quantitativos e qualitativos. **Geografia Ensino & Pesquisa**, 17 (3), 17-33, 2013.

ECHEVERRÍA, M. G.; PARDINI, O. R.; DEBANDI, M. V. ; FRANÇOIS, N. J. ; DARAIO, M. E. ; AMALVY, J. I. Polyurethane/poly (2-(diethyl amino)ethyl methacrylate) blend for drug delivery applications. **Polímeros**, 25(4), 336-343, 2015.

EMERY, E.; OLIVER, J.; PUGSLEY, T.; SHARMA, J.; ZHOU, J. Flowability of moist pharmaceutical powders. **Powder Technology**, 189, 409-415, 2009.

ENAYATI, A. A.; HAMZEH, Y.; MIRSHOKRAIE, S. M.; MOLAI, M. Paper making potential of canola stalk. **BioResources**, 4 (1), 245-256, 2009.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA COMMISSION EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES & HEALTHCARE; COUNCIL OF EUROPE. **European pharmacopoeia**. 6.ed. Strasbourg: Council of Europe, c2007. 2 v.

EUROPEAN UNION DIRECTIVE 2001/37/EC Official Journal L 194, 18/07/2001:0026-0035 [EURLEX].

FAVERO, J. S.; WEISS-ANGELI, V.; DE SOUZA, K. C. B.; MIRON, D.; SANTOS, V.; CARVALHO, G. A.; BRANDALISE, R. N. Preparação de cápsulas com grânulos de teofilina empregando a mistura polimérica de HPMC/PVA. In **XVII Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS**, 2009.

FINKENSTADT, V. L.; MILLANE, R. P. Crystal structure of Valonia cellulose I β . **Macromolecules**, 31, 7776-7783, 1998.

FONTEYNE, M.; WICKSTRÖM, H.; PEETERS, E.; VERCRUYSSSE, J.; EHLERS, H.; PETERS, B. H.; REMON, J. P.; VARVAET, C.; KETOLAINEN, J.; SANDLER, N.; RANTANEN, J.; NAELAPÄÄ, K.; DE BEER, T. Influence of raw material properties upon critical quality attributes of continuously produced granules and tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 87, 252-263, 2014.

GANE, P., SCHENKER, M., SUBRAMANIAN, R., SCHOLKOPF, J. (2012). Process for the manufacture of structured materials using nano-fibrillar cellulose gels. **United States Patent Application Publication**, US 2012/0107480 A1.

GANI, A., & NARUSE, I. Effect of cellulose and lignin content on pyrolysis and combustion characteristics for several types of biomass. *Renewable Energy*, 32(4), 649–661, 2007.

GARCIA, A. Q. R.; PEREIRA, T. C. B.; DIAS, I. L. T. Estudo das propriedades de fluxo o desenvolvimento de paracetamol pó veiculado em sachê. **Revista Brasileira de Farmácia**, 93(4), 469-475, 2012.

GARDNER, D. J.; OPORTO, G. S.; MILLS, R.; SAMIRMA, S. A. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. **Journal of Adhesion Science and Technology**, 22, 545-567, 2008.

GAREKANI, H. A.; TORSHIZI, M. F.; SADEGHI, F. Surelease as granulating liquid in preparation of sustained release matrices of ethylcellulose and theophylline. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 1-6, 2014.

GELDART, D.; ABDULLAH, E. C.; HASSANPOUR, A.; NWOKE, L.C.; WOUTERS, I. Characterization of powder flowability using measurement of angle of repose. **China Particuology**, 4, 104-107, 2006.

GLYNN-BARNHART, A.; HILL, M.; SZEFLER, S. J. Sustained release theophylline preparations – practical recommendations for prescribing and therapeutic drug monitoring. **Drugs**, 35, 711-726, 1988.

GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA. Global strategy for asthma management and prevention – updated 2015. Disponível em: <<http://www.ginasthma.org>>. Acesso em 10 ago 2016.

GOKHALE, R.; TRIVEDI, N. Wet granulation in low- and high-shear mixers. In: Handbook of pharmaceutical granulation technology, chapter 9, 3rd edition. CRC Press: Boca Raton, FL, 2010.

GÓMEZ-SIURANA, A., MARCILLA, A., BELTRÁN, M., BERENGUER, D., MARTÍNEZ-CASTELLANOS, I., & MENARGUES, S. TGA/FTIR study of tobacco and glycerol–tobacco mixtures. **Thermochemica Acta**, 573, 146–157, 2013.

GRÜNWELLER, S.; SCHRÖDER, E. & KESSELMEIER, J. Biological activities of furosanol saponins from *Nicotiana tabacum*. **Phytochemistry**, 29(8), 2485-2490, 1990.

HAAFIZ, M. K., HASSAN, A., ABDUL KHALIL, H. P. S., NURUL FAZITA, M. R., SAIFUL ISLAM, M. D., INUWA, I. M., MARLIANA, M. M., HAZWAN HUSSIN, M. Exploring the effect of cellulose nanowhiskers isolated from oil palm biomass on polylactic acid properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, 85, 370-378, 2016.

HABIBI, Y., LUCIA, L. A., ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self assembling, and applications. **Chemical Reviews**, 110, 3479–3500, 2010.

HAN, J.; ZHOU, C.; WU, Y.; LIU, F.; WU, Q. Self-assembling behavior of cellulose nanoparticles during freeze-drying: effect of suspension concentration, particle size, crystal structure, and surface charge. **Biomacromolecules**, 14 (5), 1529-1540, 2013.

HANSULD, E. M.; BRIENS, L. A review of monitoring methods for pharmaceutical wet granulation. **International Journal of Pharmaceutics**, 472, 192-201, 2014.

HAWKS, S. N. Jr. **Principle of flue-cured tobacco production**, 2nd ed. New York, John Wiley and Sons, 1978.

HEIM, A.; GLUBA, T.; OBRANIAK, A.; GAWOT-MLYNARCZYK, E.; BLASZCZYK, M. The effect of wetting on silica flour granulation. **Physicochemical Problems of Mineral Processing**, 40, 307-315, 2006.

HENRIKSSON, M.; BERGLUND, L.; ISAKSSON, P.; LINDSTRÖM, T.; NISHINO, T. Cellulose nanopaper structures of high toughness. **Biomacromolecules**, 9, 1579-1585, 2008.

HERTING, M. G.; KLEINEBUDDE, P. Studies on the reduction of tensile strength of tablets after roll compaction/dry granulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, *70*, 372-379, 2008.

IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores. Disponível em: <<http://www.iba.org>>. Acesso em 09 jan 2017.

IVENSON, S. M.; LITSTER, J. D. ; HAPGOOD, K. ; ENNIS, B. J. Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation process: a review. **Powder Technology**, *117*, 3-39, 2001.

IWAMOTO, S., NAKAGAITO, A. N., & YANO, H. Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. **Applied Physics A**, *89*, 461–466, 2007.

IWAMOTO, S., MASAYA, N., NAKAGAITO, A., HIROYUKI, Y. Optically transparent nanofiber paper. **Advanced Materials**, *21*, 1595-1598, 2009.

JIA, X., CHEN, Y., SHI, C., YE, Y., ABID, M., JABBAR, S., et al. Rheological properties of an amorphous cellulose suspension. **Food Hydrocolloids**, *39*, 27-33, 2014.

JIANG, F., & HSIEH, Y.-L. Chemically and mechanically isolated nanocelulose and their self-assembled structures. **Carbohydrate Polymers**, *95*, 32-40, 2013.

JOOD, S., CHAUHAN, B. M., KAPOOR, A. C. Saponin content of chickpea and black gram: varietal differences and effects of processing and cooking methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, *37*(11), 1121-1124, 1986.

JONOOBI, M., HARUN, J., TAHIR, P. M., SHAKERI, A., SAIFUL AZRY, S., & MAKINEJAD, M. D. Physicochemical characterization of pulp and nanofibers from kenaf stem. **Materials Letters**, *65* 1098-1100, 2011.

KAUSHIK, A., & SINGH, M. Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from wheat straw using steam explosion coupled with high shear homogenization. **Carbohydrate Research**, *346*, 76–85, 2011.

KALÁSZ, H.; ANTAL, I. Drug excipients. **Current Medicinal Chemistry**, *13*, 2535-2563, 2006.

KALIA, S.; BOUFI, S.; CELLI, A.; KANGO, S. Nanofibrillated cellulose: surface modification and potential applications. **Colloid Polymer Sciences**, *31*, 292-295, 2014.

KAO, C. Y.; LO, T. C.; LEE, W. C. Influence of polyvinylpyrrolidone on the hydrophobic properties of partially porous poly(styrene-divinylbenzene) particles for biological applications. **Journal of Applied Polymer Science**, *87*, 1818-1824, 2003.

KHOSHKAVA, V.; KAMAL, M. R. Effect of drying conditions on cellulose nanocrystal (CNC) agglomerate porosity and dispersibility in polymer nanocomposites. **Powder Technology**, *261*, 288-298, 2014.

KIRK, J. H.; DANN, S. E.; BLATCHFORD, C. G. Lactose: a definitive guide to polymorph determination. **International Journal of Pharmaceutics**, *334*, 103-114, 2007.

KLEMM, D., HEUBLEIN, B., FINK, H. P., BOHN, A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International Edition**, *44*(22), 3358-3393, 2005.

KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D. et al. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie International Edition**, *50*, 5438-5466, 2011.

KOCZKUR, K. M.; MOURDIKOU DIS, S. ; POLAVARAPU, L. ; SKRABALAK, S. E. Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. **Dalton Transactions**, *44*, 17883-17905, 2015.

KOLAKOVIC, R.; PELTONEN, L.; LAAKSONEN, T.; PUTKISTO, K.; LAUKKANEN, A.; HIRVONEN, J. Spray-dried cellulose nanofibers as novel tablet excipient. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, 1366-1373, 2011.

KOLAKOVIC, R., PELTONEN, L., LAUKKANEN, A., HIRVONEN, J., & LAAKSONEN, T. Nanofibrillar cellulose films for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, *82*(2), 308-315, 2012.

KOLAKOVIC, R.; PELTONEN, L.; LAUKKANEN, A.; HELLMAN, M. LAAKSONEN, P.; LINDER, M.B.; HIRVONEN, J.; LAAKSONEN, T. Evaluation of drug interactions with nanofibrillar cellulose. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, *85*, 1238-1244, 2013.

KULIĆ, G., & RADOJIČIĆ, V. Analysis of cellulose content in stalks and leaves of large leaf tobacco. **Journal of Agricultural Sciences**, *56*(3), 207-215, 2011.

LADE, B. D., PATIL, A. S., PAIKRAO, H. M., KALE, A. S., & HIRE, K. K. A comprehensive working, principles and applications of thin layer chromatography. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, 5(4), 486-503, 2014.

LAKIO, S.; SIIRIÄ, S.; RÄIKKÖNEN, H.; AIRAKSINEN, S.; NÄRVÄNEN, T.; ANTIKAINEN, O.; YIRUUSI, J. New insights into segregation during tableting. **International Journal of Pharmaceutics**, 397, 19-26, 2010.

LAMOLHA, M. A.; SERRA, C. H. R. Avaliação das propriedades de fluxo dos granulados e dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida 50 mg obtidos por granulação úmida. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 43(3), 435-446, 2007.

LANI, N. S.; NGADI, N.; JOHARI, A.; JUSOH, M. Isolation, characterization, and application of nanocellulose from oil palm empty fruit bunch fiber as nanocomposites. **Journal of Nanomaterials**, 2014.

LAVOINE, N., DESLOGES, I., DUFRESNE, A., BRAS, J. Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. **Carbohydrate Polymers**, 90, 735-764, 2012.

LAVORATTI, A., SCIENZA, L., & ZATTERA, A. Dynamic-mechanical and thermomechanical properties of cellulose nanofiber/polyester resin composites. **Carbohydrate Polymers**, 136, 955–963, 2016.

LEFFINGWELL, J. C. Chemical constituents of tobacco leaf and differences among tobacco types. **Leffingwell Reports**, 1, 1-56, 2001.

LENGOWSKI, E. **Caracterização e predição da cristalinidade de celulose através de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada**. Dissertação (mestrado), Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2012.

LENGOWSKI, E. C., MUNIZ, G. I. B., NIGOVSKI, S., & MAGALHÃES, W. L. B. Cellulose acquirement evaluation methods with different degrees of crystallinity. **Scientia Forestalis**, 41, 185–194, 2013.

LEUENBERGER, H. New trends in the production of pharmaceutical granules: the classical batch concept and the problem of scale-up. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 52, 279-288, 2001.

LI, J.; TAO, L.; DALI, M.; BUCKLEY, D.; GAO, J.; HUBERT, M. The effect of the physical states of binders on high-shear wet granulation and granule properties: a mechanistic approach toward understanding high-shear wet granulation process. Part II. Granulation and granule properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, *100*(1), 294-310, 2011a.

LI, J.; TAO, L.; DALI, M.; BUCKLEY, D.; GAO, J.; HUBERT, M. The effect of the physical states of binders on high-shear wet granulation and granule properties: a mechanistic approach towards understanding high-shear wet granulation process. Part I: Physical characterization of binders. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, *100*(1), 164-173, 2011b.

LI, J.; TAO, L.; BUCKLEY, D.; TAO, J.; GAO, J.; HUBERT, M. Effect of physical states of binders on high-shear wet granulation and granule properties: a mechanistic approach toward understanding high-shear wet granulation process. Part III: effect of binder rheological properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, *101*, 1877-1887, 2012.

LI, X., WU, Z., & YU, G. Influence of the Mechanical Properties of Tobacco Stalk Fiber Cell Wall on Particleboard Panels. **Advances in Materials Science and Applications**, *3*(1), 1-5, 2014.

LIMA, M. M. S., & BORSALI, R. Rodlike cellulose microcrystals: structure, properties and applications. **Macromolecular Rapid Communications**, *25*(7), 771-787, 2004.

LISTIOHADI, Y.; HOURIGAN, J. A.; SLEIGH, R. W.; STEELE, R. J. Thermal analysis of amorphous lactose and α -lactose monohydrate. **Dairy Science & Technology**, *89*, 43-67, 2009.

LIU, H.; ZHANG, B.; SHI, H.; TANG, Y. ; JIAO, K. ; FU, X. Hydrothermal synthesis of monodisperse Ag₂Se nanoparticles in the presence of PVP and KI and their application as oligonucleotide labels. **Journal of Materials Chemistry**, *18*, 2573-2580, 2008.

LOJEWSKA, J., MISKOWIEC, P., LOJEWSKI, T., PRONIEWICZ, L. M. Cellulose oxidative and hydrolytic degradation: in situ FTIR approach. **Polymer Degradation and Stability**, *88*, 512-520, 2005.

MA, Y. J.; JIANG, D. Q. ; MENG, J. X. ; LI, M. X. ; ZHAO, H. H. ; WANG, Y. ; WANG, L. Q. Theophylline: a review of population pharmacokinetic analyses. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, 2-8, 2016.

MAAFI, E. M., MALEK, F., TIGHZERT, L., DONY, P. Synthesis of polyurethane and characterization of its composites based on alfa cellulose fibers. **Journal of Polymer Environment**, *18*, 638-646, 2010.

MANGWANDI, C.; ADAMS, M. J.; HOUNSLOW, M. J.; SALMAN, A. D. Effect of impeller speed on mechanical and dissolution properties of high-shear granules. **Chemical and Engineering Journal**, *164*, 305-315, 2010.

MARQUES, L. C.; PIERI, C.; ROMAN-JÚNIOR, W. A. ; CARDOSO, M. L. C.; MILANESE-GUTIERRE, M. A.; MELLO, J. C. P. Controle farmacognóstico das raízes de *Heteropteris afrodisiaca* O. Mach. (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, *17*(4), 604-615, 2007.

MARTIN, A. R.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H. C.; et al. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade Agave sisalana. **Polímeros**, *19* (1), 40-46, 2009.

MARTINS, V. A.; RENNER, J. D. P. ; CORBELINI, V. A. ; PAPPEN, M. ; KRUG, S. B. F. Doença da folha verde do tabaco no período da classificação do tabaco : perfil sociodemográfico e ocupacional de fumicultores de um município do interior do Rio Grande do Sul. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, *6*(4), 1-11, 2016.

MENDES, L. et al. **Anuário brasileiro do tabaco 2015**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2015.

MERCK INDEX. An encyclopedia of chemicals and drugs and biologicals, 13th edition. Merck and Co., Inc., New Jersey, 2001.

MOHANTY, A. K., MISRA, M., & DRZAL, L. T. Sustainable Bio-Composites from renewable resources: Opportunities and challenges in the green materials world. **Journal of Polymers and the Environment**, *10*(1-2), 19-26, 2002.

MONEGHINI, M.; CARCANO, A.; ZINGONE, G.; PERISSUTI, B. Studies in dissolution enhancement of atenolol. Part I. **International Journal of Pharmaceutics**, *175*, 177-183, 1998.

MONTEIRO, J. P.; ALVES, M. G.; OLIVEIRA, P. F.; SILVA, B. M. Structure bio-activity relationships of methylxanthines: trying to make sense of all the promises and the drawbacks. **Molecules**, *21*, 974, 2016.

MONTEYNE, T.; VANCOILLIE, J.; REMON, J. P. ; VERVAET, C. ; DE BEER, T. Continuous melt granulation : influence of process and formulation parameters upon granule and tablet properties. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, *10*, 249-262, 2016.

MORETON, R.C., Panel member for Discussion on New Excipients - From Idea to Market, **2nd Symposium on Macromolecules used as Pharmaceutical Excipients** – New Opportunities, Characterization and Applications, Stockholm, Sweden, February – 1997.

MORRIS, K. R.; GRIESSER, U. J.; ECKHARDT, C. J.; STOWELL, J. G. Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing process. **Advanced Drug Delivery Reviews**, *48*, 91-114, 2001.

MURAKAMI, H.; YONEYAMA, T.; NAKAJIMA, K.; KOBAYASHI, M. Correlation between loose density and compactability of granules prepared by various granulation method. **International Journal of Pharmacy**, *216*, 159-164, 2001.

NATIONAL RENEWABLE ENERGY LABORATORY (NREL). **Determination of structural carbohydrates and lignina in biomass**. Technical Report, NREL/TP-510-42618, 2012. Disponível on line em: <http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html>. Acesso em 22 jun. 2016.

NEWITT, D. M.; CONWAY-JONES, J. M. A contribution to the theory and practice of granulation. **Transactions of the Institution of Chemical Engineers**, *36*, 142, 1958.

NORDSTRÖM, J.; ALDERBORN, G. The granule porosity controls the loss of compactibility for both dry- and wet-processed cellulose granules but at different rate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, *104*, 2029-2039, 2015.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (*spay drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, *20*(4), 641-650, 2010.

OSEI-YEBOAH, F.; FENG, Y.; SUN, C. C. Evolution of structure and properties of granules containing microcrystalline cellulose and polyvinylpyrrolidone during high-shear wet granulation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, *103*, 207-215, 2014.

OUAJAI, S., HODZIC, A., & SHANKS, R. A. Morphological and grafting modification of natural cellulose fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, *94*, 2456-2465, 2004.

OULAHNA, D.; CORDIER, F.; GALET, L.; DODDS, J. A. Wet granulation: the

effect of shear on granule properties. **Powder Technology**, *130*, 238-246, 2003.

PACHUAU, L. S. A mini review on plant-based nanocelulose: production, sources, modifications and its potential in drug delivery applications. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, *15*, 543-552, 2015.

PANDEY, S. N., DAY, A., & MATHEW, M. D. Thermal analysis of chemically treated jute fibers. **Textile Research Journal**, *63*(3), 143-150, 1993.

PANKOW, J. F., BARSANTI, K. C., & PEYTON, D. H. Fraction of free-base nicotine in fresh smoke particulate matter from the eclipse "cigarette" by ¹H NMR spectroscopy. **Chemical Research in Toxicology**, *16*, 23-27, 2003.

PANTOJA-CORTÉS, J.; SÁNCHEZ-BAJO, F.; ORTIZ, A. L. A line-broadening analysis model for the microstructural characterization of nanocrystalline materials from asymmetric x-ray diffraction peaks. **Journal of Physics: Condensed Matter**, *24*(21), 2012.

PAKOWSKI, Z. Modern methods of drying nanomaterials. **Transport in Porous Media**, *66*, 19-27, 2007.

PARADKAR, A.; AMBIKE, A. A.; JADHAV, B. K.; MAHADIK, K. R. Characterization of curcumin-PVP solid dispersion obtained by spray drying. **International Journal of Pharmaceutics**, *271*, 281-286, 2004.

PATEL, H.; SHAH, V.; UPADHYAY, U. New pharmaceutical excipients in solid dosage forms – a review. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, *2* (8), 1006-1019, 2011a.

PATEL, S.; DAHIYA, S.; SUN, C. C.; BANSAL, A. K. Understanding size enlargement and hardening of granules on tableability of unlubricated granules prepared by dry granulation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, *100*(2), 758-766, 2011b.

PENG, Y., GARDNER, D. J., & HAN, Y. Drying cellulose nanofibrils: In search of a suitable method. **Cellulose**, *19*(1), 91-102, 2012.

PENG, Y.; GARDNER, D. J.; HAN, Y.; KIZILTAS, A.; CAI, Z.; TSHABALALA, M. A. Influence of drying method on the material properties of nanocellulose I: thermostability and crystallinity. **Cellulose**, *20*(5), 2379-2392, 2013.

PENG, Y.; HAN, Y.; GARDNER, D. J. Spray-drying cellulose nanofibrils: effect of

drying process parameters on particle morphology and size distribution. **Wood and Fiber Science**, 44(4), 1-14, 2012.

PEŠEVSKI, M.; ILIEV, B.; ŽIVKOVIĆ, D.; JAKIMOVSKA-POPOVSKA, V.; SRBINOSKA, M.; FILIPOSKI, B. Possibilities for utilization of tobacco stems for production of energetic briquettes. **Journal of Agricultural Sciences**, 55(1), 45-54, 2010.

PETROVICK, G. F.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Granulação e revestimento em leite fluidizado. **Caderno de Farmácia**, 22(2), 107-118, 2006.

PITNER, T. P., EDWARDS, III, W. B., BASSFIELD, R. L., & WHIDBY, J. F. The solution conformation of nicotine. A ¹H and ²H Nuclear Magnetic Resonance investigation. **Journal of the American Chemical Society**, 100(1), 246-251, 1978.

PLACKETT, D. V.; LETCHFORD, K.; JACKSON, J. K.; BURT, H. M. A review of nanocelulose as a novel vehicle for drug delivery. **Nordic Pulp and Paper Research Journal**, 29(1), 105-118, 2014.

POLETTI, M., ZATTERA, A. J., FORTE, M. M. C., & SANTANA, R. M. C. Thermal decomposition of wood: Influence of wood components and cellulose crystallite size. **Bioresource Technology**, 109, 148–153, 2012a.

POLETTI, M., ZATTERA, A. J., SANTANA, R. M. C. Thermal decomposition of wood: kinetics and degradation mechanisms. **Bioresource Technology**, 126, 7-12, 2012b.

POLITI, G.; HEILAKKA, E. Granules, tablets and granulation. **United States Patent Application Publications**, US2008/0111269A1, 2008.

POLITI, G.; HEILAKKA, E. Method and apparatus for drug granulation. **United States Patent Application Publications**, US2010/0184861A1, 2010.

PRISTA, L. V. N. et al. **Tecnologia farmacêutica**. 6.ed. Lisboa, Portugal: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. 3 v.

QUIÉVY, N.; JACQUET, N.; SCLAVONS, M. ; DEROANNE, C. ; PAQUOT, M. ; DEVAUX, J. Influence of homogenization and drying on the thermal stability of microfibrillated cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, 95(3), 306-314, 2010.

RAJABI, F.; HEENE, E.; MAISCH, J.; NICK, P. Combination of plant metabolic modules yields synthetic synergis. **PLoSOne**, 12(1), 2017.

RAMIAH, M. V. Thermogravimetric and differential thermal analysis of cellulose, hemicellulose and lignin. **Journal of Applied Polymer Science**, 14, 1323-1337, 1970.

RAMOS, G.; MORAIS, D. C. M. Revisão de literatura sobre excipientes em farmácia de manipulação. **Foco**, 4(5), 2013.

ROSA, S. M. L., REHMAN, N., MIRANDA, M. I. G., NACHTIGALL, S. M. B., BICA, C. I. D. Chlorine-free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. **Carbohydrate Polymers**, 87, 1131-1138, 2012.

SANTOS, M. L.; LIMA, O.J.; NASSAR, E.J.; et al. Estudo das condições de estocagem de cana-de-açúcar por análise térmica. **Química Nova**, 34 (3), 507-511, 2011.

SCHALL, N., KRÜGER, E., BLUM, R., & RÜBENACKER, M. Soda-Aq pulping of wheat straw and its blending effect on old corrugated cardboard (OCC) pulp properties. **TAPPI Journal**, 35–39, 2009.

SEGAL, L., CREELY, J. J., MARTIN, A. E., & CONRAD, C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, 29(10), 786–794, 1959.

SHAKHES, J., MARANDI, M. A., ZEINALY, F., SARAIAN, A., & SAGHAFI, T. Tobacco residuals as promising lignocellulosic material for pulp and paper industry. **BioResources**, 6(4), 4481–4493, 2011.

SHANMUGAM, S. Granulation techniques and technologies: recent progresses. **BioImpacts**, 5(1), 55-63, 2015.

SHEN, D. K.; GU, S.; BRIDWATER, A. V. The thermal performance of the polysaccharides extracted from hardwood: cellulose and hemicellulose. **Carbohydrate Polymers**, 82 (1), 39-45, 2010.

SHITAN, N., MORITA, M., & YAZAKI, K. Identification of a nicotine transporter in leaf vacuoles of *Nicotiana tabacum*. **Plant Signaling & Behavior**, 4(6), 530–2, 2009.

SEKHARAN, T. R.; PALANICHAMY, S.; TAMILVANAN, S.; SHANMUGANATHAN, S.; THIRUPATHI, A. J. Formulation and evaluation of hydroxypropyl methylcellulose-based controlled release matrix tablets for theophylline. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 73(4), 451-456, 2011.

SILVA, F. R.; ERDMANN, B.; DALPIAZ, T.; NUNES, E.; FERRAZ, A.; MARTINS, T. L. C.; DIAS, J. F.; ROSA, D. P.; PORAWSKIE, M.; BONA, S.; SILVA, J. Genotoxicity of *Nicotiana tabacum* leaves on *Helix aspersa*. **Genetics and Molecular Biology**, *36*(2), 269-275, 2013.

SINDITABACO. Sindicato da Indústria do Fumo. Disponível em: <<http://www.sinditabaco.com.br>>. Acesso em 16 fev. 2017.

SIRÓ, I., & PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. **Cellulose**, *17*(3), 459–494, 2010.

SOFIA, M. R. K.; BROWN, R. J.; TSUZUKI, T.; RAINEY, T. J. A comparison of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibres extracted from bagasse using acid and ball milling methods. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, *7*, 1-9, 2016.

SONI, B.; HASSAN, E. B. & MAHMOUND, B. Chemical isolation and characterization of different cellulose nanofibers from cotton stalks. **Carbohydrate Polymers**, *134*, 581-589, 2015.

SOUZA, E. E.; VALE, R. S.; VIEIRA, J. G.; RIBEIRO, S. D.; FILHO, G. R.; MARQUES, F. A.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; MEIRELES, C. S.; BARUD, H. S. Preparação e caracterização de membranas de celulose regenerada a partir da celulose extraída de resíduos agroindustriais para aplicação em processos de separação. **Química Nova**, *38*(2), 202-208, 2015.

SPENCE, K., VENDITTI, R., ROJAS, O., HABIBI, Y., PAWLAK, J. A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods. **Cellulose**, *18*, 1097-1111, 2011.

STENSTAD, P.; ANDRESEN, M.; TANEM, B. S.; STENIUS, P. Chemical surface modifications of microfibrillated cellulose. **Cellulose**, *15*, 35-45, 2008.

SUGIYAMA, J.; VUONG, R.; CHANZY, H. Electron diffraction study on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall. **Macromolecules**, *24*, 4168-4175, 1991.

SVAGAN, A. J.; BENJAMINS, J. W.; AL-ANSARI, Z.; SHALOM, S. B.; MÜLLERTZ, A.; WAGBERG, L.; LÖBMANN, K. Solid cellulose nanofiber based foams-towards facile design of sustained drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, 2016.

TASSEW, Z., & CHANDRAVANSI, B. S. Levels of nicotine in Ethiopian tobacco leaves. **Springer Plus**, 4: 649, 2015.

TECHNICAL ASSOCIATION OF PULP AND PAPER INDUSTRY. **T203 cm-99**. Alpha, beta- and gamma-cellulose in pulp. Georgia: 1999.

_____. **T204 cm-97**. Solvent extractives of wood and pulp. Georgia: 1997.

_____. **T211 om-02**. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525 °C. Georgia: 2002.

_____. **T222 om-02**. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Georgia: 2002.

_____. **T257 cm-12**. Sampling and preparing wood for analysis. Georgia: 2006.

TERRONI, H. C.; DE JESUS, J. M.; ARTUZO, L. T.; VENTURA, L. V.; SANTOS, R. F.; DAMY-BENEDETTI, P. C. Liofilização. **Revista Científica UNILAGO**, 1(1), 271-284, 2013.

THOORENS, G.; KRIER, F.; LECLERCQ, B.; CARLIN, B.; EVRARD, B. Microcrystalline cellulose, a direct compression binder in a quality by design environment – a review. **International Journal of Pharmaceutics**, 473, 64-72, 2014.

TRACHE, D., DONNOT, A., KHIMECHE, K., BENELMIR, R., BROSSE, N. Physico-chemical properties and thermal stability of microcrystalline cellulose isolated from Alfa fibres. **Carbohydrate Polymers**, 104, 223-230, 2014.

TONOLI, G. H. D.; TEIXEIRA, E. M.; CORRÊA, A. C.; MARCONCINI, J. M.; CAIXETA, L. A.; PEREIRA-DA-SILVA, M. A. et al. Cellulose micro/nanofibers from Eucalyptus kraft pulp: preparation and properties. **Carbohydrate Polymers**, 89, 80-88, 2012.

TUZZIN, G., GODINHO, M., DETTMER, A., & ZATTERA, A. J. Nanofibrillated cellulose from tobacco industry wastes. **Carbohydrate Polymers**, 148, 69–77, 2016.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **USP 31 NF 26: 2** supplement. Rockville, MD, USA: United States Pharmacopeial Convention, 2008.

VARTAINEN, J., PÖHLER, T., SIROLA, K., PYLKKÄNEN, L., ALENIUS, H. et

al. Health and environmental safety aspects of friction grinding and spray drying of microfibrillated cellulose. **Cellulose**, *18*, 775-786, 2011.

VELÁSQUEZ-COCK, J.; GAÑÁN, P.; POSADA, P.; CASTRO, C.; SERPA, A.; GÓMEZ, C. H.; PUTAUX, J.-L.; ZULUAGA, R. Influence of combined mechanical treatments on the morphology and structure of cellulose nanofibrils: thermal and mechanical properties of the resulting films. **Industrial Crops and Products**, *85*, 1-10, 2016.

VIANA, L. **Desenvolvimento de filmes celulósicos nanoestruturados a partir da polpa kraft de Pinus sp.** Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2013.

VILA, C.; ROMERO, J.; FRANCISCO, J.L.; GARROTE, G.; PARAJÓ, J.C. Extracting value from Eucalyptus wood before kraft pulping: Effects of hemicelluloses solubilization on pulp properties. **Bioresource Technology**, *102*, 5251-5254, 2011.

VILA JATO, J. L. **Tecnología farmacéutica**. Madrid: Síntesis, 2001. 2 v.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, *20*(1), 51-64, 2010.

WAGNER, H.; BLADT, S. **A thin layer chromatography atlas**. 2 ed. Berlin: Heidelberg New York, 2001.

WAKEHAM, H., & SILBERMAN, H. (1966). Effect of cellulose on taste of cigarette smoke. **Beiträge Zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research**, *3*(9), 1-6, 1966.

WALKING, W. D. Povidone. In: Handbook of pharmaceutical excipients. American Pharmaceutical Association/The Pharmaceutical Press: Washington, DC / London, p. 392-399, 1994.

WANG, S. N.; XU, P.; TANG, H. Z.; MENG, J.; LIU, X. L.; HUANG, J.; CHEN, H.; DU, Y.; BLANKESPOOR, H. D. Biodegradation and detoxification of nicotine in tobacco solid waste by *Pseudomonas* sp. **Biotechnology Letters**, *26*(19), 1493-1496, 2004.

WESTERMARCK, S.; JUPPO, A. M.; KERVINEN, L.; YILIRUUSI, J. Pore structure and surface area of mannitol powder, granules and tablets determined with mercury porosimetry and nitrogen adsorption. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, *46*, 61-68, 1998.

WONGSIRIAMNUAY, T., & TIPPAYAWONG, N. Non-isothermal pyrolysis characteristics of giant sensitive plants using thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, *101*(14), 5638–5644, 2010.

WU, C. Y.; RUDDY, O. M.; BENTHAM, A. C.; HANCOCK, B. C.; BEST, S. M.; ELLIOTT, J. A. Modelling the mechanical behavior of pharmaceutical powders during compaction. **Powder Technology**, *152*, 107-117, 2005.

ZAMMIT, M.; SHOEMAKE, C.; ATTARD, E.; AZZOPARDI, L. M. The effects of anabasine and the alkaloid extract of *Nicotiana glauca* on Lepidopterous larvae. **International Journal of Biology**, *6*(3), 46-53, 2014.

ZANINI, M., LAVORATTI, A., ZIMMERMANN, M. V. G., GALIOTTO, D., MATANA, F., BALDASSO, C., ZATTERA, A. J. Aerogel preparation from short cellulose nanofiber of the *Eucalyptus* species. **Journal of Cellular Plastics**, *0*(0), 1-10, 2016.

ZIMMERMANN, T.; BORDEANU, N.; STRUB, E. Properties of nanofibrillated cellulose from different raw materials and its reinforcement potential. **Carbohydrate Polymers**, *79*, 1086-1093, 2010.

ZIMMERMANN, M. V. G.; BORSOI, C.; LAVORATTI, A.; ZANINI, M.; ZATTERA, A. J.; SANTANA, R. M. C. Drying techniques applied to cellulose nanofibers. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, *35* (8), 682-697, 2016.

ZUURMANN, K.; RIEPMA, K. A.; BOLHUIS, G. K.; VROMANS, H.; LERK, C. F. The relationship between bulk density and compactibility of lactose granulations. **International Journal of Pharmacy**, *102*, 1-9, 1994.

ANEXOS

ANEXO I

Resumo dos resultados da ANOVA para ângulo de repouso

Fonte	gl	SQ	MQ	F	Valor-p
Dispersão	2	98,992	49,496	85,67	0,000
Concentração	1	3,960	3,960	6,85	0,015
Teofilina	1	12,318	12,318	21,32	0,000
Dispersão x Concentração	2	12,388	6,194	10,72	0,000
Dispersão x Teofilina	2	2,914	1,457	2,52	0,101
Concentração x Teofilina	1	4,435	4,435	7,68	0,011
Dispersão x Concentração x Teofilina	2	0,070	0,035	0,06	0,941
Erro	24	13,866	0,578		

gl: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; MQ: média quadrática

ANEXO II

Resumo dos resultados ANOVA para friabilidade

Fonte	gl	SQ	MQ	F	Valor-p
Dispersão	2	1269,3	634,6	160,59	0,000
Concentração	1	1,5	1,5	0,37	0,546
Teofilina	1	16516,5	16516,5	4179,34	0,000
Dispersão x Concentração	2	125,1	62,5	15,82	0,000
Dispersão x Teofilina	2	1447,1	723,5	183,08	0,000
Concentração x Teofilina	1	4,1	4,1	1,03	0,320
Dispersão x Concentração x Teofilina	2	84,7	42,4	10,72	0,000
Erro	24	94,8	4,0		

gl: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; MQ: média quadrática

ANEXO III

Análise de variância da força de compactação dos grânulos com teofilina e Branco

Fonte	gl	SQ	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	13	168,0805843	12,92927571	193,9356726	1,39995E-41	1,899264953
Dentro dos grupos	56	3,7334	0,066667857			
Total	69	171,8139843				

SQ: soma dos quadrados; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática

Análise de variância da força de compactação dos grânulos com teofilina em relação ao aglutinante utilizado

Fonte	gl	SQ	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	5	3,458377	0,691675	21,62161	3,56E-08	2,620654
Dentro dos grupos	24	0,76776	0,03199			
Total	29	4,226137				

SQ: soma dos quadrados; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática