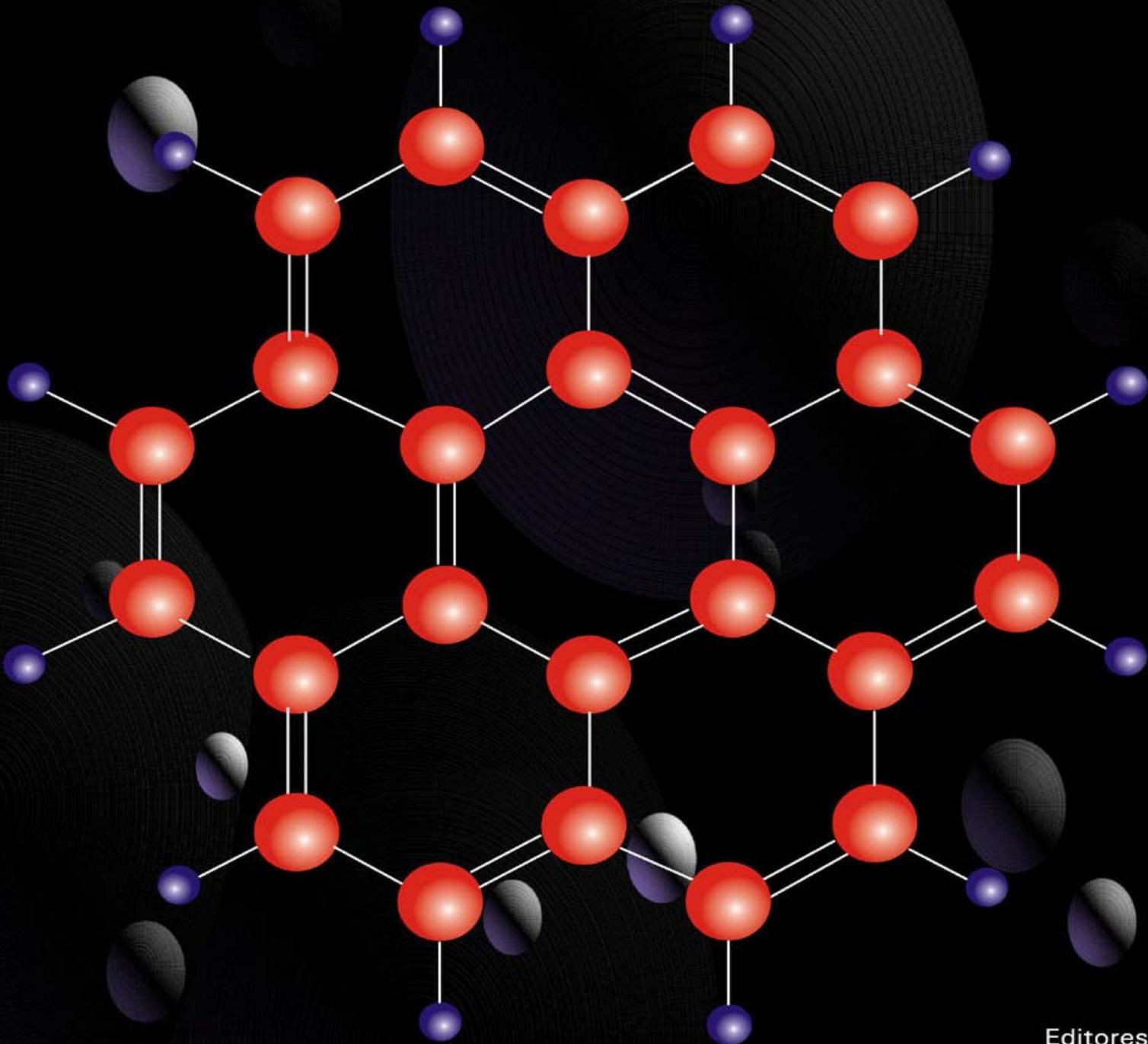


ANAIS DO III WORKSHOP DA REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO



Editores
Odílio Benedito Garrido de Assis
Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi
Wilson Tadeu Lopes da Silva
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Embrapa

Instrumentação Agropecuária

Embrapa Soja, Londrina, 15 e 16 de outubro de 2007

[IR PARA O SUMÁRIO](#)

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Anais do III Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio

Odílio Benedito Garrido de Assis
Mercedes Concórdia Carrão Panizzi
Wilson Tadeu Lopes da Silva
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Editores

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação Agropecuária

Rua XV de Novembro, 1452

Caixa Postal 741

CEP 13560-970 - São Carlos-SP

Fone: (16) 3374 2477

Fax: (16) 3372 5958

<http://www.cnpdia.embrapa.br>

E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz

Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo, Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso

Capa: Henrique Vasconi Santos

1^a edição

1^a impressão (2007): tiragem 150

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Instrumentação Agropecuária

A532 Anais do III Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao
agronegócio / Odílio Benedito Garrido de Assis, Mercedes Concórdia
Carrão Panizzi, Wilson Tadeu Lopes da Silva, Luiz Henrique
Capparelli Mattoso, editores – São Carlos: Embrapa Instrumentação
Agropecuária, 2007.
170 p.

ISBN 978-85-86463-16-7

1. Nanotecnologia – Anais. I. Assis, Odílio Benedito Garrido de. II.
Carrão-Panizzi, Mercedes Concórdia. III. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. IV.
Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. V. Título.

CDD 21 ED 620.5

© Embrapa 2006

Editores

Odílio Benedito Garrido de Assis

Físico, D.Sc. em Engenharia e Ciência dos Materiais pela Universidade Federal de São Carlos, Pesquisador da Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP

Mercedes Concórdia Carrão Panizzi

Engenheira Agrônoma, D.Sc em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina, Pesquisadora da Embrapa Soja, Londrina, PR

Wilson Tadeu Lopes da Silva

Químico, D.Sc. em Ciências (Química Analítica) pela Universidade de São Paulo, Analista da Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP

Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Engenheiro de Materiais, D.Sc. em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de São Carlos, Pesquisador da Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP

A Rede AGRONANO agradece toda a equipe da Embrapa Instrumentação Agropecuária que participou da confecção e elaboração deste livro, em especial: Suzane Ellen Bertoni, Valéria de Fátima Cardoso, Joana Dias Bresolin, Henrique Vasconi dos Santos, Daniel Coutinho Ayub e Valentim Monzane. A Rede agradece também à equipe da Embrapa Soja que colaborou na organização do evento, em especial: Gilceana Soares Moreira Galerani e Suzete Prado.

Prefácio

O agronegócio brasileiro tem ocupado uma posição de destaque mundial, fruto, entre outros fatores, do investimento crescente em pesquisa e desenvolvimento ocorrido nos últimos anos. Nesse cenário, a Embrapa tem exercido papel histórico e fundamental através de seu foco na pesquisa de ponta e na aplicação das novas tecnologias no campo e na agroindústria.

É consenso que para o país continuar crescendo e conquistando novos mercados, diversos setores ainda requerem não só a melhoria de processos, mas a agregação de valor aos seus produtos, o que só pode ser alcançado pela adoção das inovações tecnológicas. Nesse contexto foi criada a Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (AGRONANO), organizada e financiada pela Embrapa, com o objetivo de explorar a aplicação da nanotecnologia para aumentar a competitividade e a sustentabilidade do agronegócio brasileiro, seja pela melhoria da qualidade de produtos e de processos agroindustriais como pelo desenvolvimento de novos usos e produtos de origem agropecuária.

Neste 3º. Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, realizado em Londrina, PR, nos dias 15 e 16 de outubro de 2007, acontece o primeiro encontro técnico da rede, onde objetiva-se agregar seus componentes através da apresentação de resultados técnicos científicos dos temas em pesquisa nesta rede.

Completaremos um ano de atividades em novembro próximo, portanto este volume tem a função de divulgar e registrar os avanços dos trabalhos em andamento no período. Como consequência principal, esperamos ampliar a cooperação entre os grupos de pesquisa que compõem a rede.

Gostaríamos, além de cumprimentar todos os participantes e aqueles que enviaram trabalhos, de registrar nossos agradecimentos à Chefia Geral da Embrapa Instrumentação Agropecuária, unidade líder da rede; à Dra. Mercedes Concórdia Carrão Panizzi e à Embrapa Soja, pela organização local do evento; a todos os responsáveis por atividades e planos de ação; e à Embrapa pelo apoio financeiro através do Macroprograma 1.

Rede AGRONANO

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

MATERIAIS NANOESTRUTURADOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE SENSORES E BIOCENSORES PARA O AGRONEGÓCIO

Organizador: João de Mendonça Naime

MINIATURIZAÇÃO DE MÓDULOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO MEDIANTE O USO DA TECNOLOGIA LTCC E ZEÓLITAS NATURAIS.....	1
Fernanda S. Chaves, Núria Ibáñez-García, Ana Rita A. Nogueira, Julián Alonso Chamarro	
EFEITO ATIVADOR DO COBRE NA FOSFATASE ÁCIDA DE ALGAS: UMA PROPRIEDADE COM POTENCIAL DE USO COMO BIOCENSOR NA DETERMINAÇÃO DO METAL.....	4
Claudio M. Jonsson; Hiroshi Aoyama	
METODOLOGIAS DE ANÁLISE DA ATIVIDADE DE DUAS ENZIMAS COM POTENCIAL USO EM BIOCENSORES.....	7
Claudio M. Jonsson, Vera L.S. de Castro, Christina M. Tessari, Gustavo Granero	
BIOCENSOR AMPEROMÉTRICO PARA DETECÇÃO DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS.....	10
Maria Gardenny R. P. Carlucio R. Alves Maria de Fátima Borges, Maria Izabel F. Guedes, Roselayne F. Furtado ¹	
DESENVOLVIMENTO DE BIOCENSOR PARA DETECÇÃO DE TRAÇOS DE RICINA EM TORTA DE MAMONA.....	13
Roselayne F. Furtado, Rosa A. F. Dutra, Carlucio R. Alves, Wagner Pereira Félix; Maria Izabel F. Guedes, Líia M. de A. Silva	
ELETRODOS COMPÓSITOS GRAFITE-POLIURETANA MODIFICADOS COM NANOTUBOS DE CARBONO PARA A DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DOS HERBICIDAS 2,4-D E METRIBUZIN.....	16
Fernanda R. de Andrade, Renata A. de Toledo, Carlos M. P. Vaz	
UTILIZAÇÃO DO ELETRODO COMPÓSITO DE GPU MODIFICADO COM NTC PARA DETECÇÃO DO INSETICIDA PARATHION METÁLICO EM CAMPO COM O PALM-SENS....	19
Jonatas L. Rodrigues; Wilson T. Lopes, Renata A. de Toledo, Fernanda R. de Andrade e Carlos M. P. Vaz	
CÁLCULO DA ENERGIA LIVRE SUPERFICIAL EM FILMES ENZIMÁTICOS AUTOMONTADOS PARA APLICAÇÕES EM BIOCENSORES.....	22
Luis Carlos de Moraes e Odilio B.G. Assis	
LÍNGUA ELETRÔNICA PARA ANÁLISE DE CAFÉ BASEADA EM SENSORES PREPARADOS PELA TÉCNICA DE AUTOMONTAGEM.....	25
Alessandra A. Correa, Gustavo F. de Paula, Rejane C. T. Pereira, João M. Naime, Luis O. S. Bulhões e Luiz H. C. Mattoso	

ESTUDO DA ESTABILIDADE E REPETIBILIDADE DE FILMES AUTOMONTADOS USADOS COMO SENSORES QUÍMICOS EM UMA LÍNGUA ELETRÔNICA.....	28
Guilherme de S. Braga; Leonardo G. Paterno; Fernando J. Fonseca	
NANOMANIPULAÇÃO DE SUPERFÍCIES POLIMÉRICAS POR AFM: NANOLITOGRAFIA E NANOINDENTAÇÃO.....	32
A. Manzoli, A.A.H.S. Garcia, F. L. Leite, R. Bernardes Filho, P.S.P. Herrmann	
NANOMORFOLOGIA DE POLÍMEROS CONDUTORES: APLICAÇÃO EM SENSORES AMBIENTAIS.....	35
Leite, F. L., Alves, W. F., Oliveira, O. N., Mattoso, L. H. C., Herrmann, P. S. P.	
DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA ELETRÔNICO PARA LEITURA DE SENSORES DESCARTÁVEIS, APLICADO A DETECÇÃO DE VOLÁTEIS, REVESTIDO COM FILMES ULTRAFINOS DE POLI-ANILINAS CONDUTORAS.....	39
Helio José Antunes Franco, Alexandre H. S. Garcia, Paulo Sérgio de Paula Herrmann	
SENSORES POLIMÉRICOS NANOESTRUTURADOS PARA DISCRIMINAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE SUCOS DE FRUTAS.....	42
Leonardo G. Paterno, Alessandra Corrêa, Fábio R. Simões, Sérgio T.R. Ozaki, Fernando J. Fonseca, Luiz Henrique C. Mattoso	
AVALIAÇÃO QUÍMICA, SENSORIAL TRADICIONAL E INSTRUMENTAL (LÍNGUA E NARIZ ELETRÔNICOS) DOS SABORES E DOS GOSTOS CARACTERÍSTICOS DA SOJA..	46
Josemeyre Bonifácio da Silva; Sandra Helena Prudêncio; Mercedes C. Carrão-Panizzi	
CAPÍTULO 2	
MEMBRANAS DE SEPARAÇÃO, FILMES E EMBALAGENS COM NANOESTRUTURA CONTROLADA PARA APLICAÇÕES NA AGROINDÚSTRIA	
Organizador: Odílio Benedito Garrido de Assis	
ESTUDO DAS ISOTERMAS DE SORÇÃO E COEFICIENTE DE DIFUSÃO DE ÁGUA EM BIOPOLÍMEROS À BASE DE QUITOSANA E CARBOXI METIL CELULOSE.....	50
Fábio Rosa Barreira; Lourdes Maria M. Cabral; Murilo Freire Jr.; Suely Pereira Freitas	
A PESQUISA EM FILMES COMESTÍVEIS NA EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA.....	53
Odilio B.G. Assis e Lucimara A. Forato	
PRODUÇÃO DE FILMES COMPOSTOS A BASE DE RESINA EXSUDADA DE CAJU.....	56
Jackeline S. de Rizzo, Douglas de Britto, Odilio B. G. Assis e Lucimara A. Forato	
CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES FINOS DE ZEÍNAS PARA USO COMO COBERTURAS COMESTÍVEIS.....	59
Douglas de Britto; Juliana A. Scarmin; Lucimara A. Forato e Odilio B.G. Assis	
CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES DE N,N,N-TRIMETILQUITOSANA.....	62
Douglas de Britto, Odilio B.G. Assis e Paulo S. Campana Filho	

ALTERAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS HIDROFÍLICAS SUPERFICIAIS DE FILMES DE QUITOSANA POR AÇÃO DE PLASMA A FRIO.....	65
Odilio B.G. Assis e Douglas de Britto	
OBTENÇÃO DE SAIS DE QUITOSANA HIDROSOLÚVEIS POR REAÇÃO COM DIMETILSULFATO.....	68
Douglas de Britto e Odilio B.G. Assis	
AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO USO DE COBERTURAS A BASE DE ZEÍNAS COMO REVESTIMENTO PROTETOR DE FRUTAS.....	71
Juliana A. Scramin, Douglas de Britto, Odilio B.G. Assis, Luiz A. Colnago, Lucimara A. Forato	
UTILIZAÇÃO DO MICROELETRODO DE Au MODIFICADO COM PHMB PARA A ANÁLISE DE METIL PARATION.....	74
Renata A. de Toledo; Paulo R. V. da Silva Junior; Gustavo F. de Paula; Luiz Henrique C. Mattoso e Carlos M. P. Vaz	
SÍNTESE DE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS PARA A INCORPORAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS.....	77
Marcelo P. Bemquerer; Mariana T. Quezado de Magalhães; Maura V. Prates e Carlos Bloch Júnior	
USO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS EM ABACAXI MINIMAMENTE PROCESSADO.....	80
Paulo Ricardo Nascimento Viana; Murillo Freire Júnior; Lourdes Maria Corrêa Cabral	
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICAS DE ABACAXI MINIMAMENTE PROCESSADO REVESTIDOS COM FILMES COMESTÍVEIS.....	83
Paulo Ricardo Nascimento Viana; Murillo Freire Júnior, Lourdes Maria Corrêa Cabral; Regina Silva de Siqueira	
COEFICIENTE RESPIRATÓRIO DE ABACAXI (ANANAS COMOSUS (L.) MEER) MINIMAMENTE PROCESSADO REVESTIDO COM FILMES COMESTÍVEIS.....	86
Paulo Ricardo Nascimento Viana; Maya Orneles Sato; Augusto César Vieira Neves Junior; Murillo Freire Júnior	
DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGENS ATIVAS INCORPORADAS COM NANOCOMPOSTOS E AVALIAÇÃO NA INIBIÇÃO E ADESÃO DO FUNGO <i>Aspergillus flavus</i>	88
Nilda de Fátima Ferreira Soares, Luis Eduardo Reis Gouveia, Nathália Ramos de Melo e Cleuber Antônio de Sá Silva.	
DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE FILMES DE BASE CELULÓSICA INCORPORADOS COM NANOCOMPOSTOS E LACTATO DE SÓDIO PARA A CONSERVAÇÃO DE CARNE BOVINA FRESCA.....	91
Nilda de Fátima Ferreira Soares, Delimiro Galeano Bolaños, Juan Eduardo Delgado, Jhon Jairo Reina Pacheco, Paula Judith Perez Espitia, Cleuber Antonio de Sá Silva e Nathália Ramos de Melo.	

CAPÍTULO 3

NOVOS USOS DE PRODUTOS AGROPECUÁRIOS UTILIZANDO A NANOTECNOLOGIA

Organizadora: Mercedes Concórdia Carrão Panizzi

- CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DE NANO-SiO₂ OBTIDA DE FONTES VEGETAIS PARA USO EM NANOCOMPÓSITOS.....94
Caue Ribeiro, José M. Marconcini, Edson N. Ito, Wilson T.L. da Silva, Washington L.E. Magalhães, Elias Hage Jr e Luis H.C. Mattoso
- FIBRA DE COCO VERDE: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES MECÂNICAS.....97
Elisângela Corradini, Morsyleide F. Rosa, Bruno P. de Macedo, Luiz C. Mattoso
- CARACTERIZAÇÃO DE CASCAS DE ARROZ POR TERMOGRAVIMETRIA E DOS RESÍDUOS DE QUEIMA DE CASCAS DE ARROZ POR ESPECTROCOSPIA NO INFRAVERMELHO.....100
José M. Marconcini, Rodrigo M. Oliveira
- METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE PALHA DE MILHO BASEADA EM MICROSCOPIA ÓTICA E ELETRÔNICA.....103
José M. Marconcini, Edson N. Ito, Maria Cristina D. Paes, Flávia França Teixeira, Luiz H.C. Mattoso
- METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA E TERMO-DINÂMICO-MECÂNICA DE PALHA DE MILHO.....106
José M. Marconcini, Edson N. Ito, Douglas de Britto, Rodrigo M. Oliveira, Maria Cristina D. Paes, Flávia França Teixeira, Odílio B. G. de Assis
- COMPORTAMENTO INTERFACIAL DE COMPÓSITOS DE POLI(TEREFTALATO DE ETILENO) RECICLADO (PETR) COM FIBRAS DE BAGAÇO DE CANA.....109
José M. Marconcini, Edson N. Ito, Elisângela Corradini, Carlos Triveño Rios, José A.M. Agnelli, Luiz H.C. Mattoso
- TÉCNICAS DE OTIMIZAÇÃO DO PROCESSAMENTO DE NANOCOMPÓSITOS DE POLI(METACRILATO DE METILA) E SÍLICA OBTIDA DE FONTES VEGETAIS.....112
José M. Marconcini; Edson N. Ito; Wilson T. L. Silva; Caue Ribeiro, Washington L. E. Magalhães, Elias Hage Jr, Luiz H. C. Mattoso
- CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA E TÉRMICA DE NANOCOMPÓSITOS DE POLI(METACRILATO DE METILA) (PMMA) E SÍLICA OBTIDA DE FONTES VEGETAIS.....116
José M. Marconcini; Edson N. Ito; Washington L. E. Magalhães, Elias Hage Jr, Luiz H. C. Mattoso
- CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS DE POLIPROPILENO (PP) COM MICROFIBRA DE CELULOSE.....119
José M. Marconcini, Edson N. Ito, Elias Hage Jr., Luiz H.C. Mattoso
- OBTENÇÃO DE CERÂMICAS NANOESTRUTURADAS A PARTIR DA CAVALINHA.....122
Cleber Zavarize; Carlos Renato Rambo; Dachamir Hotza; Washington Luiz Esteves Magalhães

CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA DE BIOMASSA.....	124
Guiotoku, M.; Magalhães, W. L. E.; Rambo, C. R.; Hotza, D.	
PERFIL ELETROFORÉTICO DE ZEÍNAS EM ACESSOS DA COLEÇÃO NÚCLEO DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE MILHO DA EMBRAPA.....	126
Maria Cristina Dias Paes, Flávia França Teixeira, Renata França Cassimiro Belo	
CRISTALINIDADE EM COMPÓSITOS AMIDO DE MILHO EXTRUSADO / ARGILA SÓDICA.....	129
Natália F. Magalhães, Cristina T. Andrade	
CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DE BIOFILMES DE AMIDOS DE MILHO E DE TRIGO.....	132
Leonardo M. Fernandes; Luis G.V. Souza; Natália N. Lyrio; José L.R. Ascheri, Cristina T. Andrade e Carlos W.P. Carvalho	
USO DE GRITS DE MILHO NA ELABORAÇÃO DE MATERIAL EXTRUSADO PARA EMBALAGEM.....	135
Leonardo M. Fernandes; Luiz G. V. Souza; José L. R. Ascheri; José M. Marconcini; Cristina T. Andrade e Carlos W. P. Carvalho	
FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA PRODUZIDOS EM ANALISADOR RÁPIDO DE VISCOSIDADE.....	138
Luiz G.V. Souza; Leonardo M. Fernandes; José L.R. Ascheri, Cristina T. Andrade e Carlos W.P. Carvalho	
HIDROGÉIS SUPERABSORVENTES CONSTITUÍDOS DE GOMA ARÁBICA MODIFICADA COPOLIMERIZADA COM ACRILATO DE POTÁSSIO E ACRILAMIDA PARA APLICAÇÃO NO SOLO.....	141
Ana Paula G. Peres, Adriano V. Reis, Altair Bertonha, Adley F. Rubira, Edvani C. Muniz	
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E HIDROFÍLICA DE HIDROGÉIS PARA APLICAÇÃO EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE INSUMOS AGRÍCOLAS.....	144
Fauze A. Aouada , Márcia R. de Moura, Edvani C. Muniz e Luiz H. C. Mattoso	
NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA PARA APLICAÇÃO NA SÍNTESE DE FILMES UTILIZADOS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS.....	147
Márcia Regina de Moura, Fauze Ahmad Aouada, Luiz Henrique Capparelli Mattoso	



MINIATURIZAÇÃO DE MÓDULOS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO MEDIANTE O USO DA TECNOLOGIA LTCC E ZEÓLITAS NATURAIS

Fernanda S. Chaves^{1,2*}(PG), Núria Ibáñez-García³(PG), Ana Rita A. Nogueira^{1,2}(PQ), Julián Alonso Chamorro³(PQ)

¹Embrapa Pecuária Sudeste (Embrapa-CPPSE), ²Grupo de Análise Instrumental Aplicada, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), ³Grupo de Sensores e Biosensores, Universidade Autônoma de Barcelona (UAB).

*fernandasantiago05@hotmail.com

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

Resumo

O controle de diferentes parâmetros de qualidade associados às águas superficiais é necessário como forma de garantir seu consumo e sua adequada utilização. O emprego da tecnologia LTCC para a miniaturização de sistemas de gestão de fluidos apresenta numerosas vantagens como: facilidade nos processos de construção, a possibilidade de fabricação em grande escala e o baixo custo dos dispositivos. O objetivo desse trabalho é avaliar a zeólita como natural como material para a construção de filtros empregados na pré-concentração de analitos presentes em águas superficiais, mediante sua integração durante o processo de sinterização da cerâmica verde.

Palavras-chave: LTCC, zeólita natural, fosfato, instrumentação analítica.

Introdução

A conjugação do binômio miniaturização-integração tem permitido estabelecer a base conceitual para o desenvolvimento de uma nova geração de dispositivos miniaturizados, capazes de integrar todas as etapas necessárias para a realização de uma análise química¹.

A tecnologia LTCC (Low Temperature Co-fired Ceramics) apresenta-se muito mais versátil que qualquer técnica aplicada até o momento no campo da miniaturização, dado que possibilita a construção de dispositivos tridimensionais, de maneira rápida e simples². Devido à facilidade de manipulação, as cerâmicas verdes propiciam o arranjo de módulos multicapas com diferentes aplicações como: no campo microeletrônica, na confecção de microválvulas e de sistemas

microfluidicos aplicados em FIA, dentre outras. Zeólitas são minerais naturais ou sintéticos, com uma grande variedade de aplicações tecnológicas. Sua estrutura apresenta canais e cavidades, nas quais se encontram íons de compensação, moléculas de água ou outros adsorvatos e sais. Os canais e cavidades conferem às zeólitas uma estrutura microporosa, que faz com que estes materiais apresentem uma superfície interna extremamente grande, quando comparada com sua superfície externa. Essa estrutura permite a transferência de matéria entre os espaços intracristalinos. Assim, as principais propriedades das zeólitas são: capacidade de troca de catiônica, alto grau de hidratação, adsorção e dessorção de íons, baixa densidade, propriedades catalíticas,

condutividade elétrica, dentre outras. Isso lhes confere grande aplicabilidade na agricultura, na indústria e no tratamento de efluentes³.

O presente trabalho tem como objetivo:

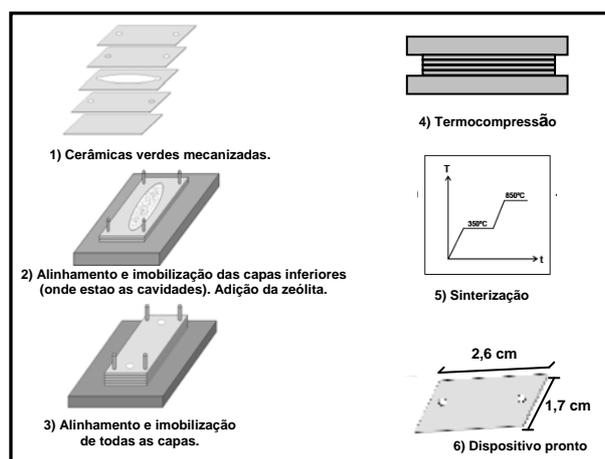
- Avaliar a zeólita natural como material para a construção de filtros mediante sua integração durante a sinterização da própria cerâmica verde.
- Avaliar a aplicabilidade dos dispositivos cerâmicos na pré-concentração de íons fosfato presentes em amostras de águas superficiais.
- Avaliar a capacidade de reutilização dos dispositivos propostos.

Materiais e métodos

Foram construídos sistemas cerâmicos de 2,6 cm de comprimento por 1,7 cm de largura com zeólitas naturais integradas em seu interior. A construção dos dispositivos foi feita pela adaptação destes em forma de capas. Foram utilizados dois equipamentos diferentes para a microfabricação. O primeiro, ProtoMat C100/HF LLPKF, é capaz de definir estruturas de largura mínima de 100 micras. Para estruturas menores que 50 micras, foi utilizado o equipamento que opera a laser (Protolaser, LPKF).

A figura 1 apresenta um diagrama esquemático das capas de cerâmica constituintes do dispositivo e seu processo de fabricação.

Figura 1: Diagrama esquemático do processo de sinterização dos dispositivos cerâmicos.

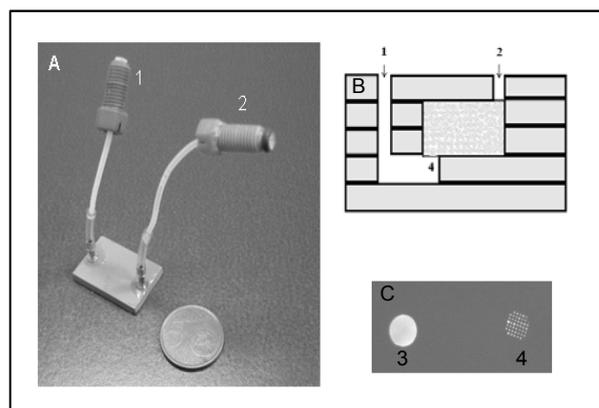


Resultados e discussão

Foram feitos estudos objetivando avaliar o comportamento das zeólitas no interior das cavidades dos sistemas de cerâmica, a principal dúvida era como as amostras do mineral iriam reagir ao aquecimento ao qual são submetidas as capas de cerâmica verde durante o processo de

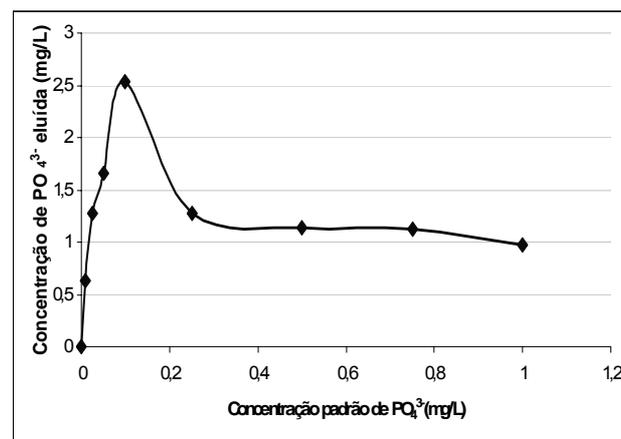
sinterização. Uma das principais dificuldades na confecção dos dispositivos, foi garantir a permanência das amostras de zeólita no interior das cavidades. Para tanto, foram feitos filtros com uma porosidade de 0,50 mm na capa superior à cavidade e na capa inferior (figura 2).

Figura 2: A: Fotografia do módulo de pré-concentração, onde 1: orifício de entrada de líquido, 2: orifício de saída. B: visão axial da estrutura tridimensional do dispositivo, onde 4: filtro cerâmico. C: capa que contém o canal de entrada do líquido 3 ($\varnothing=4\text{mm}$) e o filtro cerâmico 4 ($\varnothing=50\ \mu\text{m}$).



Na figura 3 é apresentada a capacidade de pré-concentração de fosfatos nos dispositivos cerâmicos contendo a zeólita natural. Foram aplicadas soluções padrão de fosfatos em concentrações crescentes (0 – 1 mg/L) procedendo-se após uma etapa de eluição.

Figura 3. Concentração padrão de fosfato injetada nos dispositivos x concentrações eluídas após etapa de pré-concentração.

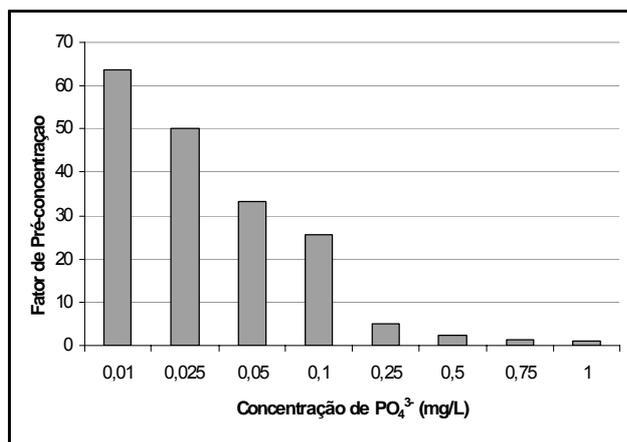


Os seguintes parâmetros experimentais foram adotados: tempo de pré-concentração: 90 segundos, tempo de eluição: 30 segundos, eluente:

água, tempo de limpeza do dispositivo: 20 minutos, limpeza: água e HCl 0,01 mol/L.

A capacidade de pré-concentração foi de até 63 vezes para uma concentração de 0,01 mg/L, tendendo à saturação para concentrações maiores como demonstrado na figura 4.

Figura 4. Fator de pré-concentração de fosfato para as diferentes concentrações padrões injetadas nos dispositivos cerâmicos.



Conclusões

Os resultados demonstraram que o dispositivo apresenta viabilidade de aplicação na pré-concentração de fosfatos em zeólitas naturais integradas a sistemas cerâmicos, visto que no Brasil, a legislação indica como máximo permitido de fósforo total em águas doces de 0,025 mg/L (Conama 357, 2005), razão da necessidade do desenvolvimento de métodos sensíveis.

Referências

- 1 LEMOS, S.G. et al. **J. Agric. Food Chem.**, [S. l.], v. 52, 5810, 2004.
- 2 IBAÑEZ-GARCIA, N. et al. **J. A.; Sensores and actuators.**, [S. l.], v. 118, p. 67, 2006b.
- 3 DA LUZ, A. B. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, 1995. 35p.



EFEITO ATIVADOR DO COBRE NA FOSFATASE ÁCIDA DE ALGAS: UMA PROPRIEDADE COM POTENCIAL DE USO COMO BIOSSENSOR NA DETERMINAÇÃO DO METAL

Claudio M. Jonsson^{1*}; Hiroshi Aoyama²

1-Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

2- Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP

* jonsson@cnpma.embrapa.br

Projeto Componente: PC2

Plano de Ação: 01.05.1.01.02.02

Resumo

O cobre é um elemento presente em formulações de fungicidas e em outras fontes de contaminação de compartimentos ambientais. No presente trabalho é demonstrado o efeito ativador “in vitro” do íon cobre sobre a fosfatase ácida extraída da alga cloroficea *Pseudokirchneriella subcapitata*. O efeito ativador do Cu^{2+} poderia ser devido a uma proteção conferida por este íon contra a desnaturação térmica da enzima. Os valores de concentração efetiva média de ativação (CE50) e constante de dissociação (KdCu^{2+}) foram, respectivamente, equivalentes a 1,80 e 1,64 μM de Cu^{2+} . A baixa magnitude destes valores indica uma forte capacidade de ligação do metal à enzima, cuja atividade poderia medida juntamente com métodos eletroanalíticos propostos na literatura.

Palavras-chave: fosfatase ácida, cobre, alga, *Pseudokirchneriella subcapitata*

Introdução

A fosfatase ácida de algas é uma enzima que desempenha importantes funções metabólicas como a decomposição de fosfatos orgânicos em fosfato livre inorgânico e compostos orgânicos, disponibilidade de fosfato do meio extracelular para o intracelular e hidrólise de material fosfolipídico.

A atividade “in vivo” desta enzima tem sido comumente avaliada para fins de análise de risco ecotoxicológico e de monitoramento de áreas degradadas. Entretanto, fundamentando-se na inibição dessa atividade, alguns autores propuseram a construção de biosensores utilizando fosfatases extraídas de algas ¹ e de outros organismos ², para medir a concentração de poluentes químicos ambientais.

Em trabalhos prévios constatamos que o cobre, um elemento presente em formulações de fungicidas e em outras fontes de contaminação de compartimentos ambientais, possui um efeito ativador da fosfatase ácida da alga cloroficea *Pseudokirchneriella subcapitata*. Devido a esta propriedade, e ao potencial da mesma na utilização para quantificação do metal, no presente trabalho é demonstrado o efeito “in vitro” do íon cobre sobre essa alteração da atividade da fosfatase ácida extraída da microalga *P. subcapitata*

Materiais e métodos

P. subcapitata foi cultivada em meio líquido esterilizado OECD ³, sob temperatura controlada (20 ± 2 °C) e luz contínua fluorescente (3.000 - 4.000 lux).

As algas, estando em fase exponencial de crescimento, foram centrifugadas a 4.000 r.p.m. durante 5 minutos e o precipitado lavado duas vezes com tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,0.

O precipitado algáceo foi suspenso em tampão acetato de sódio 0,1 M pH 5,0 na proporção 1:4 (peso biomassa / volume). Após congelamento/descongelamento, a suspensão foi submetida ao processo de ruptura celular através da sonicação, utilizando-se um sonicador Vibra Cell (Sonics Material Inc.) ajustado na amplitude 70%. Foram aplicados 2 ciclos de sonicação de 50 seg com intervalos de 20 seg. A suspensão resultante foi centrifugada a 10.000 r.p.m. durante 20 min. O líquido sobrenadante (extrato bruto) foi utilizado para os ensaios de avaliação da atividade enzimática. Esta foi avaliada através da incubação do extrato bruto contendo a enzima na presença do substrato p-nitrofenil fosfato (p-NPP) sendo a reação paralizada, com NaOH 1 M. O p-nitrofenol (p-NP) produzido, em meio fortemente alcalino, confere uma coloração amarelada que é medida em espectrofotômetro nos 404 nm.

Nos ensaios para se avaliar o efeito do cobre, a pré-incubação foi realizada expondo-se o extrato bruto na presença do metal, previamente a reação incubada na presença do substrato p-NPP.

O efeito da concentração de íons cobre sobre a enzima e do tempo de pré-incubação na presença destes foi avaliado calculando-se a CE50 (concentração efetiva média de ativação). A alteração nas constantes cinéticas K_m (constante de Michaelis-Menten), E_a (energia de ativação) e K_dCu^{2+} (constante de dissociação) na presença do metal foi avaliada conforme a plotagem de Lineweaver-Burk e os procedimentos descritos por Prista et al.⁴ e Dixon & Webb⁵.

Resultados e discussão

A atividade enzimática em função da concentração de íons cobre para amostras pré-incubadas e não pré-incubadas com fosfatase ácida é demonstrada na Figura 1.

Um aumento na atividade enzimática foi observado por pré-incubação da enzima com Cu^{2+} até uma concentração de 0,05 mM, a partir da qual a velocidade permaneceu constante. A curva resultante permitiu calcular uma CE50 e seu intervalo de confiança 95%, referente a esse efeito, equivalente a 1,80 (1,64-1,90) μM de Cu^{2+} . Por outro lado, na ausência de uma pré-incubação com a enzima, Cu^{2+} não mostrou efeito

significativo na reação de hidrólise de p-NPP (Figura 1, gráfico interno).

Estudos de estabilidade da fosfatase ácida de *P. subcapitata* a 37 °C mostraram que a presença de 0,2 mM Cu^{2+} protegia a enzima da desnaturação térmica, com preservação de sua atividade pelo menos até 60 min (Figura 2). Por outro lado, na ausência do metal, observa-se uma perda de ~60% da atividade neste período de tempo.

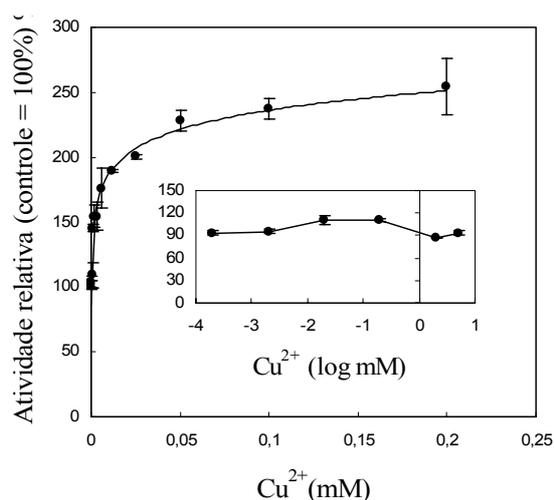


Figura 1 : Efeito da concentração de íons cobre na atividade da fosfatase ácida de *P. subcapitata* : A atividade foi determinada em presença de varias concentrações de Cu^{2+} em amostras pré-incubadas e não pré-incubadas (gráfico interno) contendo a enzima e o íon metálico. A pré-incubação foi realizada por 20 min a 37 °C, sendo que no final deste período a reação, para determinação da atividade enzimática, foi iniciada pela adição de 10 mM de p-NPP como substrato.

Os resultados mostram que o efeito ativador do Cu^{2+} poderia ser devido a uma proteção conferida por este íon à fosfatase ácida, uma vez que na presença deste metal a desnaturação da enzima seria menor que na sua ausência.

Os parâmetros cinéticos na ausência e em presença de cobre estão apresentados na Tabela 1. De modo a avaliar o efeito do íon cobre na interação enzima-substrato, determinou-se a K_m na ausência ou presença do metal, ambas em sistemas pré-incubados. Em presença de Cu^{2+} observou-se uma

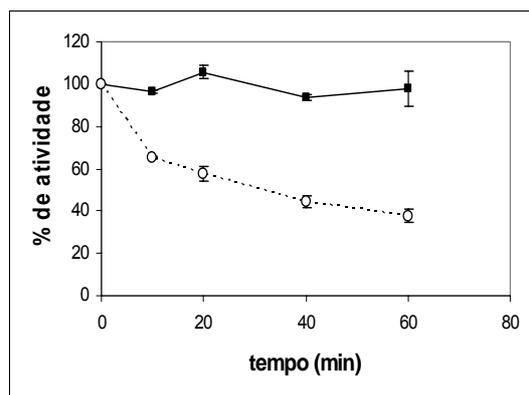


Figura 2: Efeito de íons cobre na estabilidade da fosfatase ácida de *P. subcapitata*. A enzima foi pré-incubada à 37 °C na ausência (○) ou em presença de 0,2 (■) mM de Cu²⁺, nos tempos indicados. Após cada tempo de pré-incubação determinou-se a atividade enzimática remanescente, utilizando-se p-NPP como substrato.

Tabela 1: Parâmetros cinéticos da fosfatase ácida de *P. subcapitata* na presença e ausência de íons cobre.

Parâmetro	Cu ²⁺ (mM)	
	0,0	0,2
KdCu ²⁺ (μM Cu ²⁺)	1,64	-
Km (mM p-NPP)	-	1,21
Ea (cal.mol ⁻¹)	-	6.392

diminuição no valor da Km de cerca de 3,3 vezes, sugerindo que o efeito ativador deste metal também poderia ser devido a um aumento na afinidade enzima-substrato. A baixa magnitude do valor de KdCu²⁺ indica uma forte capacidade de ligação do metal.

As proposições acima para explicar o efeito ativador do Cu²⁺ podem ser somadas à diminuição do valor da energia de ativação na presença do metal que foi de aproximadamente 50%. A propriedade ativadora do cobre sobre enzima poderia ser utilizada em conjunto com um eletrodo desenvolvido que tem a capacidade de realizar a determinação eletroanalítica de p-NP⁶. Ou ainda, em um outro possível método eletroanalítico, como o proposto por Mazzei e

colaboradores.⁷ Estes autores desenvolveram um biossensor tipo fosfatase ácida /glicose oxidase para a determinação de pesticidas.

Conclusões

A ativação da enzima pelo Cu²⁺ poderia ser explicada pelo efeito protetor do metal impedindo a inativação térmica da enzima, pelo aumento na afinidade enzima-substrato (diminuição do valor de Km), e diminuição da energia de ativação. Os baixos valores de CE50 e constante de dissociação indicaram uma forte afinidade enzima - Cu²⁺.

A grande afinidade do íon cobre pela enzima e o efeito ativador observado sugerem o possível uso destas propriedades na determinação do metal com base num método eletroanalítico.

Referências

- DURRIEU, D.; TRAN-MINHW, C. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, [S. l.], v. 51, p. 206–209, 2002.
- GOUDA, M. D.; THAKUR, M. S.; KARANTH, N. G. *Biotechnology Techniques*, [S. l.], v. 11, p. 653–655, 1997.
- OECD. *Guidelines for testing of chemicals*. Paris: [s. n.], 1981.
- PRISTA, N.; ALVES, C. A.; MORGADO, R. H. Estabilidade dos medicamentos. In: PRISTA, N.; ALVES, C. A.; MORGADO, R. H. *Técnica farmacêutica e farmácia galênica*. 2 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1979. v. 2. p. 2465-2510.
- DIXON, M.; WEBB, E. C. *Enzymes*. 3rd ed. London: Longmans Green and Co Ltd., 1979. 1116 p.
- CALVO-MARZAL, P.; ROSATTO, S. S.; GRANJEIRO, P. A.; AOYAMA, H.; KUBOTA, L. T. *Analytica Chimica Acta*, v. 441, p. 207 – 214, 2001.
- MAZZEI, F.; BOTRE, F.; BOTRE, C. *Analytica Chimica Acta*, [S. l.], v. 336, p. 67-75, 1996.



METODOLOGIAS DE ANÁLISE DA ATIVIDADE DE DUAS ENZIMAS COM POTENCIAL USO EM BIOSSENSORES

Claudio M. Jonsson*, Vera L.S. de Castro, Christina M. Tessari, Gustavo Granero

Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

*jonsson@cnpma.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

Resumo

As enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) fazem parte dos sistemas antioxidantes nos seres vivos. A alteração da atividade da CAT e SOD extraídas de organismos expostos a poluentes químicos tem sido estudada na avaliação ecotoxicológica. São apresentados os resultados preliminares referentes à implementação de metodologias para avaliar as atividades de SOD e CAT frente à possível ação de diversos poluentes de origem agrícola. As metodologias empregadas demonstraram ser satisfatórias para estudos do potencial das enzimas no desenvolvimento de biossensores. Entretanto, alguns ajustes metodológicos poderão ser realizados com relação a uma melhor adaptação às condições laboratoriais.

Palavras-chave: biossensor, catalase, superóxido dismutase

Introdução

As enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) fazem parte dos sistemas antioxidantes nos seres vivos pela sua capacidade de neutralizar a ação de espécies reativas de oxigênio como a do anion superóxido e do peróxido de hidrogênio. Estas moléculas altamente reativas fazem parte de subprodutos do metabolismo normal e desempenham papel importante nos processos de sinalização celular. Entretanto, em situações de estresse celular, as espécies reativas de oxigênio podem aumentar significativamente levando a danos celulares como alteração do DNA, peroxidação de lipídeos e oxidação de aminoácidos nas proteínas ¹. Portanto, a alteração da atividade da CAT e SOD extraídas de organismos expostos a poluentes químicos de diversas origens tem sido alvo de

estudo na análise de risco e monitoramento de áreas degradadas ².

Nesse sentido, Farines e colaboradores ³ testaram “in vitro” a capacidade de estrógenos fenólicos naturais e sintéticos em modular a SOD bovina; constatando que para alguns compostos a inibição da atividade era superior ou equivalente a ~90% na concentração de 100µM dos compostos. A mesma enzima, mas originária de eritrócitos, é inibida “in vitro” pela hidrazida maleica na concentração de ~40 µM ⁴.

Alguns compostos tipicamente inibidores da CAT, entre estes, metais pesados como os sais de cianeto, tem a capacidade de inibir a enzima de origem microbiana em níveis menores de 10 µM. Para alguns desses compostos, como por exemplo, a azida sódica; têm sido propostos biossensores a base de CAT ⁵.

Do mesmo modo biossensores a base de SOD tem sido propostos onde a atividade enzimática é

modulada pela presença de radicais superóxido ⁶. Apesar de um significativo volume de dados da literatura a respeito de alteração das atividades de SOD e CAT em organismos expostos ao estresse de agroquímicos e outros poluentes de origem agrícola (estudos “in vivo”), existe uma carência de resultados de testes “in vitro”. Entretanto, tanto para os estudos “in vivo” como “in vitro”, os dados ainda são escassos frente ao grande número de princípios ativos existentes.

Os resultados destes estudos “in vitro”, nos quais se mede a modulação da atividade enzimática pela adição do xenobiótico em um sistema de reação contendo a enzima e seu substrato, proporcionariam bases para o desenvolvimento de biossensores cujo funcionamento se fundamente na alteração da atividade de SOD e CAT.

No presente trabalho são apresentados os resultados preliminares realizados no Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança no que se refere à implementação de metodologias para avaliar as atividades de SOD e CAT, enzimas que serão testadas frente à possível ação de diversos poluentes de origem agrícola.

Materiais e métodos

A atividade da SOD foi avaliada de acordo com a metodologia proposta por Ukeda e colaboradores ⁷, em meio contendo 50 mM de tampão fosfato pH 8,0 juntamente com solução 3mM de xantina; solução 3mM de EDTA, solução 0,75mM de XTT e SOD (de leite bovino) em diferentes concentrações. A reação foi iniciada pela adição de xantina oxidase. A absorvância da cor púrpura desenvolvida foi medida em um espectrofotômetro Beckman DU-8B no comprimento de onda de 470 nm. A velocidade da reação em termos de mudança de absorvância em função do tempo ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) foi calculada por regressão linear simples.

A atividade da CAT foi medida segundo a metodologia descrita por Aebi ⁸, utilizando-se solução de peróxido de hidrogênio como substrato em solução de tampão fosfato 50 mM pH 7,0. A reação foi iniciada pela adição da CAT de fígado bovino sendo que a absorvância foi monitorada em vários intervalos no comprimento de onda de 240 nm, utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu UV 1605 PC. A adição do inibidor de CAT, a azida sódica, nas suas concentrações finais de 100, 10 e 1 mM foi avaliada. A velocidade da reação foi calculada como descrito anteriormente.

Resultados e discussão

A metodologia de análise de SOD se fundamenta em que a enzima xantina oxidase, tendo como seu substrato a xantina e na presença de O_2 , formam um sistema gerador de anions superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Estas espécies reativas de oxigênio, na presença de um cromóforo como o XTT (sal de tetrazólio), reduzem este composto para formar um derivado de formazano que absorve luz no comprimento de onda de 470 nm. Entretanto esta redução é inibida na presença de SOD pelo fato de requerer $\text{O}_2^{\cdot-}$ para formar peróxido de hidrogênio na presença de cátions H^+ .

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados de um teste onde se avaliou a viabilidade da metodologia a ser adotada na análise da atividade de SOD nos futuros estudos a serem realizados com diferentes substâncias poluentes de origem agrícola.

Analogamente, na Figura 1 estão apresentados os resultados de um teste de avaliação de uso da metodologia proposta para os futuros ensaios com CAT em presença dos xenobióticos.

Tabela 1: Velocidade de redução de XTT na ausência e na presença de diferentes concentrações de SOD.

Concentração de SOD (U/mL)	Velocidade da reação ($\Delta\text{Abs}_{470\text{nm}}/\text{min}$)
0,00	0,0075
0,45	0,0029
0,90	0,0016
2,26	0,0015

Os resultados da Tabela 1 demonstraram a diminuição da redução do XTT em função da concentração de SOD, sugerindo-se que exista uma concentração em que esse fenômeno se mantenha estável, mesmo aumentando-se a concentração desta enzima. O aumento da absorvância nos 20 min iniciais da reação na ausência de SOD foi equivalente a aproximadamente 0,12; estando de acordo com os resultados de Ukeda e colaboradores ⁷.

Os resultados da Figura 1 mostraram a diminuição da absorvância do peróxido de hidrogênio em aproximadamente 60%, para o tempo de reação de 130 segundos, evidenciando assim o consumo do substrato pela CAT. A absorvância inicial na reação foi de aproximadamente 0,2, ou seja dentro da faixa de análise. Entretanto, a ação desta

enzima foi inibida na presença da azida sódica nas três concentrações testadas.

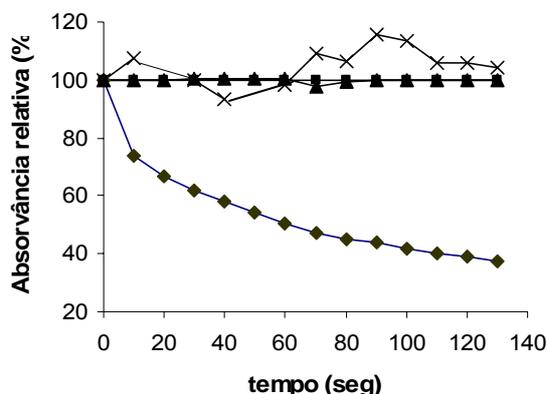


Figura 1: Absorvância (240 nm) do peróxido de hidrogênio em função do tempo de reação com CAT, na ausência (◆) e na presença de azida sódica nas concentrações de 100 (■); 10 (▲) e 1 (x) mM. Os valores são relativos a absorvância inicial, que foi tomada como 100%.

Conclusões

Com base nos dados obtidos até o momento, as metodologias aqui propostas para a avaliação da atividade de SOD e CAT demonstraram ser satisfatórias para o uso em estudos com agentes poluentes de origem agrícola. Entretanto, alguns ajustes poderão ser realizados com relação a uma melhor adaptação às nossas condições laboratoriais.

Referências

1 WORTH, A. C.; BAILEY, B. (Ed). **The Handbook of Oxidative Metabolism**. Chelmsford: ESA Inc, 1995.

2 PANDEY, S.; PARVEZ, S.; SAYEED, I.; HAQUE, R.; BIN-HAFEEZ, B.; RAISUDDIN, S. Biomarkers of oxidative stress: a comparative

study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). **Sci Total Environ.** [S. l.], v. 309, p. 105-115, 2003.

3 FARINES, V.; MONJE, M. C.; TELO, J. P.; HNAWIA, E.; SAUVAIN, M.; NEPVEU, F. Polyphenols as superoxide dismutase modulators and ligands for estrogen receptors. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 513, p. 103-111, 2004.

4 DOWLA, H. A.; PANEMANGALORE, M.; BYERS, M. E. Comparative inhibition of enzymes of human erythrocytes and plasma in vitro by agricultural chemicals. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, [S. l.], v. 31, p. 107-114, 1996.

5 SEZGINTURK, M. K.; GOKTUG, T.; DINÇKAYA, E. A biosensor based on catalase for determination of highly toxic chemical azide in fruit juices. **Biosensors and Bioelectronics**, [S. l.], v. 21, p. 684-688, 2005.

6 CAMPANELLA, L.; PERSI, L.; TOMASSETTI, M. Superoxide and nitric oxide radicals as modulating agents of enzymatic sensor responses. In : WORKSHOP ON CHEMICAL SENSORS AND BIOSENSORS, 2. [Anais...]. Rome: University of Rome "La Sapienza", Chemistry Department, 1999.

7 UKEDA, H.; MAEDA, S.; ISHII, T.; SAWAMURA, M. Spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on tetrazolium salt 3'-1--(phenylamino)-carbonyl--3, 4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro)benzenesulfonic acid hydrate reduction by xanthine-xanthine oxidase. **Anal. Biochem.**, [S. l.], v. 251, p. 251, 206-209, 1997.

8 AEBI, H. E. Catalase. In: BERGMAYER, H.U. **Methods of enzymatic analysis**. 3th ed. Weinheim: Verlagchemie GmbH, 1983. v. 3.



BIOSSENSOR AMPEROMÉTRICO PARA DETECÇÃO DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

Maria Gardenny R. P.¹ Carlucio R. Alves² Maria de Fátima Borges¹, Maria Izabel F. Guedes²,
Roselayne F. Furtado¹

¹Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, fátima@cnpat.embrapa.br

²Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, alvescr@yahoo.com

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

Resumo

Os biossensores possuem enorme aplicabilidade nas diferentes áreas, tendo em vista ser uma técnica de baixo custo e alta sensibilidade para detecção de analitos. As enterotoxinas estafilocócicas estão presentes em uma grande diversidade de alimentos cujas análises através de kits comerciais são onerosas. As atividades deste trabalho estão voltadas para o desenvolvimento de um imunossensor amperométrico capaz de detectar enterotoxinas estafilocócicas. Ao final da pesquisa espera-se a obtenção de um biossensor com potencial para ser comercializado.

Palavras-chave: Biossensor, enterotoxina, anticorpos policlonais

Introdução

O gênero *Staphylococcus* é responsável por aproximadamente 45% das toxinfecções no mundo. Essas bactérias são Gram positivas e têm ampla distribuição nos alimentos. Entre as bactérias do gênero, as toxinas produzidas pelo *Staphylococcus aureus* se destacam nos surtos de intoxicação alimentar¹. O *Staphylococcus aureus* é uma espécie largamente distribuída na natureza, sendo transmitida aos alimentos por manipuladores e também por animais, principalmente, gado leiteiro com mastite². Atualmente, de acordo com as características antigênicas, são reconhecidos oito tipos sorológicos de enterotoxinas: SEA, SEB, SEC, SED e SEE³, onde a SEH, SEG e SEI⁴ são descrições recentes. Segundo Omoe e colaboradores⁵ foram identificadas e caracterizadas nos últimos anos doze enterotoxinas novas.

As enterotoxinas estafilocócicas (SE) são um grupo de proteínas extracelulares de cadeia simples, com baixo peso molecular e ponto isoelétrico de 7,0 a 8,6. São hidrossolúveis e resistentes à ação de enzimas proteolíticas do sistema digestivo, permanecendo ativas após a ingestão⁶. Essas enterotoxinas produzidas são termoestáveis, sendo capazes de provocar intoxicações em quantidades menores que 1 µg e, ainda, na forma de aerossol a dose tóxica é de 0,02 µg /Kg de peso corpóreo. Derivados de leite são frequentemente envolvidos em intoxicação alimentar com níveis de enterotoxinas menores que 0,5 ng/mL. Geralmente, após um período de 2 a 6 horas a partir da ingestão do alimento contaminado, surgem os sintomas mais comuns: cólicas abdominais agudas, náuseas, vômitos e diarreia⁷. Entretanto, os sintomas poderão ocorrer dentro do intervalo de 30 minutos a 8 horas, dependendo do nível de contaminação e da susceptibilidade do indivíduo. Diversas técnicas têm sido empregadas para detectar as enterotoxinas estafilocócicas: radioimunoensaio

(RIA), ensaio de enzima imobilizada (ELISA) e método de aglutinação passiva reversa em látex (RPLA).

Os sensores amperométricos apresentam como característica principal o baixo custo das análises, por exigirem pouco uso de reagentes e o fácil manuseio, qualificando-os como dispositivos com elevado potencial comercial. Diante da enorme aplicabilidade e potencial dos biossensores nas diferentes áreas e da necessidade de desenvolvimento de uma técnica de baixo custo e alta sensibilidade para análise de toxinas em alimentos, este projeto visa desenvolver um imunossensor amperométrico para detecção de enterotoxinas estafilocócicas.

A presente pesquisa terá três etapas que serão apresentadas posteriormente. As etapas de isolamento das toxinas e imunização dos animais já estão sendo realizadas a fim de produzir os anticorpos policlonais para confecção do biossensor anti-enterotoxina estafilocócica.

Materiais e métodos

Produção, detecção e caracterização das enterotoxinas estafilocócicas (SE)

O método utilizado foi *Cellophane-over-Agar* aplicado por Jarwis & Lawrence⁸. Inicialmente, a cepa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênica foi plaqueada para crescimento da cultura. Posteriormente, as colônias foram lavadas com tampão e centrifugadas para o isolamento das toxinas. Como ferramenta auxiliar a detecção e caracterização das enterotoxinas isoladas foram realizados perfis eletroforéticos utilizando gel de poliacrilamida a 12,5% (SDS-PAGE)⁹.

Produção de anticorpos policlonais

Para a produção dos anticorpos policlonais iniciou-se o ensaio de imunização utilizando duas coelhas da raça Nova Zelândia. Segundo teste de Bradford, foi aplicado cerca de 4 µg das enterotoxinas A e D retiradas de géis de eletroforese. No decorrer da etapa de imunização o soro será retirado e analisado posteriormente pelo ensaio de imobilização enzimática (ELISA).

Montagem do biossensor

O procedimento de imobilização do anticorpo será feito segundo Krishnamoorthy e colaboradores¹⁰. O compósito de

polipirrol/carboximetil celulose será utilizado como plataforma de imobilização do anticorpo. Na formação de ligações covalentes entre o anticorpo e o compósito utilizar-se-á o glutaraldeído.

Resultados e discussão

Os perfis eletroforéticos apresentaram bandas entre 25 e 30 KDa que caracterizaram a presença das enterotoxinas estafilocócicas. Seguidamente, os animais foram imunizados por via subcutânea com as proteínas estafilocócicas A e D.

No momento, estão sendo realizados ensaios de imunização e ao final desta etapa os anticorpos produzidos serão analisados pelo teste de ELISA para verificar a sensibilidade dos anticorpos anti-enterotoxina estafilocócica. Seguidamente, os esforços da equipe multidisciplinar serão direcionados para a confecção do biossensor.

Conclusões

Os métodos empregados na produção e caracterização das proteínas foram satisfatórios. Amostras das toxinas foram extraídas e liofilizadas para as etapas de imunização e confecção do biossensor.

Referências

1. RODRIGUES, K. L.; MOREIRA, A. N.; ALMEIDA, A. T. S.; CHIOCHETTA, D.; RODRIGUES, M. J.; BROD, C. S.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. **Ciência Rural**, [S. l.], v. 34, n.1, p.297-299, 2004.
- 2 MACHOSVILI, I. A.; PENNA, T. C. V.; COLOMBO, A.J. Resistência térmica de cepas de *Staphylococcus aureus* em solução tampão fosfato (pH 7,0) e em leite reconstituído. **Revista de Microbiologia**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 323-329, 1991.
- 3 DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 13, n.1, p. 16-34, 2000.

4 OMOE, K.; ISHIKAWA, M.; YU, S.; HU, D.L.; UEDA, S.; SHINAGAWA, K. Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productive of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 40, n. 3, p.857-862, 2002.

5 OMOE, K.; HU, D. L.; TAKAHASHI-OMOE, H.; NAKANE, A.; SHINAGAWA, K. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. **FEMS Microbiology Letters**, [S. l.], v. 246, n. 2, p. 191-198, 2005.

6 LELOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 63-76, 2003.

7 NAIMUSHIN, A. N.; SOELBERG, S. D.; NGUYEN, D. K.; DUNLAP, L.; BARTHOLOMEW, D.; ELKIND, J.; MELENDEZ, J.; FURLONG, C.E. Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin B at

femtomolar levels with a miniature integrated two-channel surface plasmon resonance (SPR) sensor. **Biosensors and Bioelectronics**, [S. l.], v.17, p.573-584, 2002.

8 JARWIS, A. W.; LAWRENCE, R. C. Production of high titers of enterotoxins for te routine testing of staphylococci. **Applied Microbiology**, [S. l.], v.19, p.698-699. 1970.

9 BACTERIOLOGICAL Analytical Manual Online (BAM): electrophoretic and immunoblot analysis of staphylococcal enterotoxins in food. 2001. cap. 13b. Disponível em: <www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-13b.html> Acesso em: 29 Ago. 2007.

10 KRISHNAMOORTHY, S.; BEI, T.; ZOUMAKIS, E.; CHROUSOS, G. P.; ILIADIS, A. A. Morphological and binding properties of interleukin-6 on thin ZnO films grown on (100) silicon substrates for biosensor applications. **Biosensors and Bioelectronics**, [S. l.], v.22, p.707-714, 2006.



DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSOR PARA DETECÇÃO DE TRAÇOS DE RICINA EM TORTA DE MAMONA

Roselayne F. Furtado¹, Rosa A. F. Dutra², Carlucio R. Alves³, Wagner Pereira Félix³; Maria Izabel F. Guedes³, Lía M. de A. Silva³

¹ Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza- CE- roselayne@cnpat.embrapa.br

² Universidade Estadual de Pernambuco, Recife- PE- rfireman@yahoo.com.br

³ Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza- CE - alvescr@yahoo.com

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

Resumo

Atividades desta pesquisa foram iniciadas em agosto do ano corrente com o isolamento da ricina e no momento, estão sendo realizados experimentos de imunização de coelhos com a proteína isolada para a produção de anticorpos policlonais anti-ricina. Posteriormente a esta etapa, inicializar-se-á o desenvolvimento do biossensor eletroquímico a partir da imobilização de anticorpos policlonais anti-ricina sobre eletrodos impressos através da metodologia de monocamadas automontadas. O estudo culminará no desenvolvimento de um biossensor capaz de identificar níveis sensíveis de ricina e procederá a criação de um sistema de detecção portátil para uso em campo.

Palavras-chave: Biossensor, detecção, ricina, torta de mamona

Introdução

As sementes de mamona fornecem entre 40,3 a 46,5% de torta e 47,9 a 54,5% de óleo para as cultivares melhoradas geneticamente ¹. Sendo assim, se percebe que o incentivo à produção de biodiesel, a partir de óleo de mamona, proporcionará um grande volume de torta como subproduto da prensagem das sementes.

A torta da mamona tem elevado valor nutritivo ², sendo rica em proteínas (41,51%), fibras (32,84%), minerais (7,65%) e gorduras (2,62%). Por apresentar essas características, a torta de mamona apresenta grande potencial para ser utilizada como insumo na pecuária. Porém, para ser usada como ração, ela precisa passar por um processo de destoxificação, devido a presença de ricina uma proteína muito tóxica ao homem e animais. Existem diversos métodos que estão sendo estudados para promover a destoxificação, usando agentes físicos ou químicos ³; Ávila Filho

e colaboradores ⁴. No entanto, embora as técnicas de destoxificação sejam definidas e utilizadas pelos agricultores, serão necessárias análises rotineiras de amostras quanto à presença de ricina, para atestar a atoxicidade da torta, visto que o procedimento pode não ter sido adequadamente realizado e quantidades mínimas da proteína são suficientes para conduzir animais a óbito.

Os biossensores surgem neste contexto como alternativa promissora para a detecção de ricina em torta de mamona, por serem de baixo custo, de resposta rápida, não necessitarem do envolvimento de pessoal qualificado, ou equipamentos sofisticados e caros e, por serem passíveis de automação e portatibilidade quando comerciais. Esta última característica permite o seu uso em áreas remotas, beneficiando as comunidades agrárias que pretendem utilizar a torta como ração.

Essa pesquisa tem o objetivo de desenvolver e caracterizar um biossensor

eletroquímico a partir de anticorpos policlonais anti-ricina imobilizados sobre eletrodos impressos (*screen printed*) para detecção de ricina em torta de mamona submetida a processo de destoxificação.

As atividades que antecedem a preparação do desenvolvimento do biossensor estão em andamento e até o momento foi feito o isolamento e início do ensaio de imunização de coelhos com a ricina para a produção dos anticorpos policlonais.

Materiais e métodos

Para o desenvolvimento do biossensor quatro etapas são necessárias e estão discriminadas a seguir:

1- Ensaio para obtenção da ricina

A torta de mamona foi obtida a partir de trituração da semente e extração do óleo por força mecânica e com solvente. As amostras foram centrifugadas para a retirada do sobrenadante e precipitadas com sulfato de amônio. O material precipitado foi ressuspenso em cloreto de sódio 0,15 M e submetido a cromatografia de afinidade em coluna de galactomanana extraída do endosperma de *Adenanthera pavonina* reticulada com epícloridrina segundo metodologia de Fugita e colaboradores⁵ e Appukuttan e colaboradores⁶, modificada por Tavares⁷.

A caracterização da ricina foi feita por eletroforese não desnaturante e desnaturante (10% de sódio dodecil sulfato), a 12,5% de poliácridamida e amperagem constante de 20 mA por cerca de uma hora e quarenta minutos. Uma amostra de 4 mg do material liofilizado foi dissolvido em cerca de 300 µL (q.s.p) de água destilada para os testes de hemaglutinação e de Bradford⁸, no intuito de verificar a bioatividade e concentração da proteína extraída, respectivamente.

2- Produção dos anticorpos policlonais

Nesta etapa, os anticorpos policlonais estão sendo produzidos através da imunização de coelhos pela via subcutânea com ricina desnaturada e não desnaturada retiradas de géis de eletroforese. Serão coletadas amostras

semanais de soro do coelho e na segunda semana após a primeira imunização será aplicado um reforço. A produção de anticorpos será acompanhada pela análise do soro e avaliada quanto a sensibilidade pelo ensaio imunoenzimático ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*).

3-Desenvolvimento de biossensor eletroquímico

Os eletrodos impressos serão produzidos a partir de uma camada metálica de espessura controlada (500 Å) disposta sob a forma de microfios bi-eletródicos a ser obtida sobre suportes de polietileno tereftalato-PET. Consecutivamente, os procedimentos para imobilização dos anticorpos sobre os eletrodos serão efetuados utilizando a técnica de monocamadas automontadas (SAM). Substâncias com grupos ditiois e aldeídicos serão testadas e empregadas para promover a interação entre os eletrodos impressos e os anticorpos.

4- Caracterização e validação do biossensor

Após o desenvolvimento do biossensor, o mesmo será caracterizado e validado quanto as constantes cinéticas de associação que será variada conforme a força iônica, temperatura, concentração de anticorpos empregados durante a etapa de imobilização, determinação do melhor pH para resposta enzimática e escolha do potencial a ser aplicado, utilizando para esses dois últimos parâmetros, as técnicas de voltametria cíclica e cronoamperometria.

Resultados e discussão

A ricina foi isolada satisfatoriamente das outras proteínas contidas na torta de mamona por meio da coluna de cromatografia de afinidade de galactomanana. Esse fato pôde ser comprovado por géis de eletroforeses desnaturante e não desnaturante. Nos géis de eletroforese desnaturante percebeu-se a presença de duas bandas de aproximadamente 32 e 34 KDa. Esses pesos moleculares correspondem as duas cadeias da ricina denominadas A e B, respectivamente. A ricina é uma proteína heterodimérica cuja cadeia

A é responsável pela inibição da síntese protéica, enquanto a cadeia B permite a proteína se ligar a complexos galactosídicos de carboidratos de superfície celulares^{9,10}. Os géis eletroforéticos não desnaturantes indicaram a presença de ricina através da revelação de bandas com peso molecular similar ao da albumina bovina, ou seja, 66KDa.

O teste de Bradford demonstrou uma concentração de proteínas de 1,28 µg/50 µL do material liofilizado. A atividade hemaglutinante para essa mesma amostra foi verificada até a diluição 1:10. A ricina por ser uma lectina, grupo de proteína capaz de reconhecer sítios específicos em moléculas e ligar-se reversivelmente a carboidratos, provoca aglutinação nítida das células.

Os ensaios de desenvolvimento do biossensor começarão após os testes de sensibilidade dos anticorpos que estão sendo produzidos através dos testes de imunização. Acreditamos que a etapa crucial do desenvolvimento do biossensor será a fase de imobilização dos anticorpos sobre os eletrodos impressos, pois a inativação de sítios de reconhecimento do anticorpo prejudicará a identificação dos epítomos da substância de interesse, diminuindo a sensibilidade do biossensor. Diversas técnicas de imobilização dos anticorpos deverão ser empregadas e comparadas, assim como diversas variáveis de detecção como um potencial adequado, diferentes concentrações do anticorpo e do analito, temperatura, pH e outras constantes cinéticas.

Conclusões

As atividades de desenvolvimento do biossensor para detecção de ricina iniciaram com o isolamento e caracterização da proteína com consecutivo ensaio de produção dos anticorpos policlonais. As atividades de construção e validação do biossensor exigirão maior tempo e dedicação da equipe de profissionais envolvida e serão de fundamental importância para a aplicação das técnicas padronizadas na detecção de outros contaminantes e patógenos de interesse para o agronegócio.

Referências

1 DRUMMOND, A. R. F.; GAZINEU, M. H. P.; ALMEIDA, L.; MAIOR, S. A. Produção e valor energético da torta de mamona do agreste. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 2.,

2006, Aracaju. Cenário atual e perspectivas. [Anais...]. Aracaju: Embrapa, 2006. 1 CD ROM.

2 BELTRÃO, N.E.M. **Informações sobre o biodiesel, em especial feito com o óleo de mamona**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 3p.(Comunicado Técnico, 177).

3 ANANDAN, A.; KUMAR, G.K.A.; GHOSH, J.; RAMACHANDRA, K.S. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology**, [S. l.], v. 120, p. 159–168. 2005.

4 ÁVILA FILHO, S.; DUARTE, F.; RIBEIRO, N. M. **Métodos para Desintoxicação de Tortas de Oleaginosas**. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2006/Co-Produtos/MetodosDesintoxicacao7.pdf>> Acesso em: 15 set. 2007.

5 FUGITA, Y.; OISHI, K.; SUZUKI, K. IMA HORI, K. Purification and Properties of an Anti-B Hemagglutinin produced by *Streptomyces sp.* **Biochemistry**, [S. l.], v.14, n.20, p. 4465 – 4470. 1975.

6 APPUKUTTAN, P. S., SUROLLA, A. BACHHAWAT, B. K. Isolation of two galactose-binding proteins from *Ricinus communis* by affinity chromatography. **Indian J. Biochem. Biophys.**, [S. l.], v. 14, n.4, p.382 – 384. 1977.

7 TAVARES, R. O. **Galactomanana de *Adenanthera pavonina* L.**: aplicação para o isolamento de lectinas galactose-específicas. 1998. 85 f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

8 BRADFORD, M. M. A rapid sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, [S. l.], v.72, p. 248 – 254. 1976.

9 LORD, J. M.; ROBERTS, L. M.; ROBERTUS, J. D. Ricin-structure, mode of action, and some current applications, **FASEB J.**, [S. l.], v.8, p. 201–208. 1994.

10 OLSNES, S.; KOZLOV, J. V. **Ricin. Toxicon.**, [S. l.], v. 39, p. 1723-1728. 2001.



ELETRODOS COMPÓSITOS GRAFITE-POLIURETANA MODIFICADOS COM NANOTUBOS DE CARBONO PARA A DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DOS HERBICIDAS 2,4-D E METRIBUZIN

Fernanda R. de Andrade, Renata A. de Toledo, Carlos M. P. Vaz *

Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

* vaz@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 Plano de Ação: 01.05.1.01.02.02

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da modificação do eletrodo de grafite-poliuretana (GPU) com nanotubos de carbono (NTC) para determinação eletroanalítica dos herbicidas 2,4-D e metribuzin. Os voltamogramas de onda quadrada não apresentaram diferenças significativas com relação a intensidade dos picos de redução dos herbicidas em estudo. O perfil voltamétrico do ferricianeto de potássio em eletrodo de GPU contendo 10 % de nanotubo foi praticamente idêntico ao obtido com eletrodo de GPU sem modificação, isso pode ter ocorrido devido à pequena quantidade de nanotubo adicionado que não foi suficiente para promover um aumento no sinal analítico dos herbicidas em estudo. Como alternativa, estão sendo realizados estudos com a deposição de filmes finos de nanotubos de carbono e PHMB (cloridrato de polihexametileno biguanida) por automontagem visando a melhora da sensibilidade analítica da técnica.

Palavras-chave: herbicida, eletrodo compósito, determinação eletroanalítica.

Introdução

Nos últimos anos, tem-se verificado um constante aumento na utilização de pesticidas na agricultura brasileira e mundial ¹. Estas substâncias são utilizadas na agricultura para aumentar a produtividade, melhorar a qualidade dos alimentos e reduzir os custos e o trabalho. Entretanto, seu uso indiscriminado, sem critérios ou cuidados, podem causar problemas como contaminações de águas, de alimentos e de solos e, conseqüentemente, intoxicações e doenças em animais e no homem. A maioria das metodologias analíticas desenvolvidas para determinação de herbicidas no meio ambiente

emprega técnicas cromatográficas. Estes métodos são precisos, sensíveis e seletivos, porém são caros e trabalhosos devido ao fato da necessidade de etapas de *clean-up* da amostra. Em virtude dessas limitações, observa-se um crescimento expressivo de trabalhos que utilizam técnicas eletroanalíticas para determinação de pesticidas em diversas matrizes ².

O eletrodo compósito de grafite-poliuretana (GPU) foi utilizado na determinação eletroanalítica da dopamina, hidroquinona e antidepressivos com boa sensibilidade e seletividade, tornando-se, portanto, um material promissor para desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas para determinação de outros compostos, tais como os pesticidas.

Além disso, este eletrodo apresenta algumas vantagens sobre eletrodos clássicos, como melhoria no sinal ruído, elevada resistência mecânica e estabilidade em sistemas de fluxo^{3,4}. Os NTC possuem algumas propriedades físicas e químicas originais. Devido a sua estrutura especial e características eletrônicas, os NTC possuem a habilidade de intermediar reações de transferência de elétrons com as espécies eletroativas. Como por exemplo, a determinação de pesticidas, hormônios vegetais e dopamina. Os eletrodos de NTC modificados promovem a oxidação de compostos fenólicos e minimizam as sujeiras superficiais, associadas aos processos de oxidação. Além disso, estes eletrodos apresentam-se extremamente útil para melhorar a sensibilidade e estabilidade das medidas oxidativas dos compostos fenólicos⁵.

Materiais e métodos

Todos os reagentes utilizados são de pureza analítica (Sigma) e foram usados sem purificação prévia. As soluções foram preparadas em água purificada em sistema Milli-Q da Millipore[®]. Para as medidas voltamétricas dos herbicidas 2,4-D e metribuzim foram utilizados como eletrólito de suporte uma solução tampão Britton-Robinson (TBR) 0,1 mol L⁻¹ e água acidificada com ácido sulfúrico (1,0 mol L⁻¹), respectivamente. O TBR foi preparado a partir dos ácidos acético, fosfórico e bórico e o valor de pH desejado foi ajustado pela adição de uma solução de hidróxido de sódio 1,0 mol L⁻¹. A solução estoque do padrão do herbicida 2,4-D (1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹) foi preparada em metanol, enquanto que a solução estoque do herbicida metribuzim (1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹) foi preparada em água. Estas soluções foram conservadas sob refrigeração. As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT 30. A célula eletroquímica utilizada foi confeccionada com vidro boro-silicato 7740 com tampa em Teflon[®], contendo orifícios para o posicionamento do eletrodo de trabalho de grafite-poliuretana ($\phi = 3,0$ mm), do eletrodo de referência de Ag/AgCl em KCl 3,0 mol L⁻¹ e auxiliar (fio de platina $\phi = 0,3$ mm). O eletrodo composto (GPU 60%) foi preparado de acordo com a metodologia proposta por Mendes e colaboradores⁶. O eletrodo de GPU modificado com NTC foi preparado misturando 10% de NTC, 50% de grafite e 50% de poliuretana.

Resultados e discussão

Os eletrodos de GPU modificado com 10% de NTC e o GPU sem modificação foram caracterizados eletroquimicamente utilizando a técnica de voltametria cíclica. Os voltamogramas cíclicos obtidos de uma solução 5 x 10⁻³ mol L⁻¹ Fe(CN)₆³⁻ em 0,5 mol L⁻¹ KCl estão apresentados na Figura 1. Como pode ser observado nesta figura, valores similares de correntes foram obtidos para os dois eletrodos.

O estudo para avaliar a eletroatividade dos herbicidas 2,4-D e metribuzim sobre os eletrodos em estudo consistiu em aplicar a técnica de voltametria de onda quadrada.

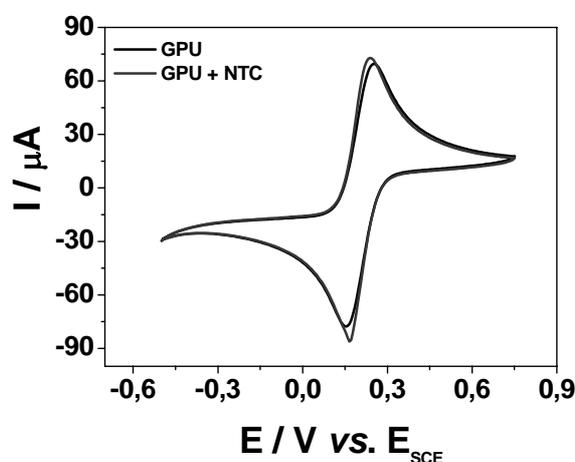


Figura 1: Voltamogramas cíclicos obtidos como resposta dos eletrodos compostos para uma solução 5,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] em KCl 0,5 mol L⁻¹. Velocidade de varredura 100 mV s⁻¹ e potencial variando de -0,25 a +0,75 V.

Na Figura 2 estão apresentados os voltamogramas de onda quadrada para o herbicida 2,4-D. Para obtenção destes voltamogramas foram utilizados os mesmos parâmetros experimentais e da técnica, que foram pH 2,0, $f = 50$ s⁻¹, $a = 50$ mV e $\Delta E_i = 3$ mV. Podemos observar que a corrente de pico obtida com o eletrodo de GPU foi somente um pouco maior que a obtida com o eletrodo de GPU + NTC.

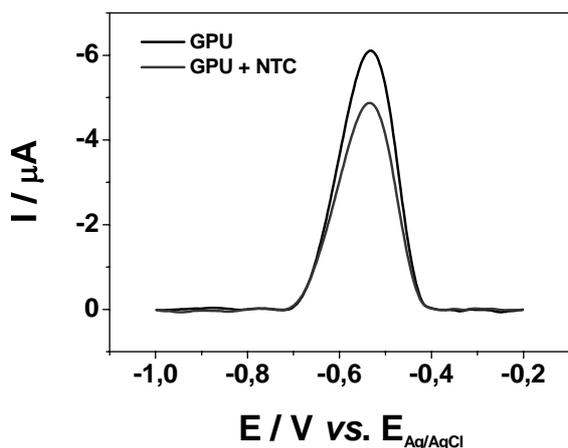


Figura 2: Voltamogramas de onda quadrada para o herbicida 2,4-D ($C = 4,3 \text{ mg L}^{-1}$).

A Figura 3 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para o herbicida metribuzim. Para obtenção destes voltamogramas foram utilizadas as mesmas condições experimentais, $\text{pH } 2,0$, $f = 40 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_i = 5 \text{ mV}$. Nesta Figura podemos constatar que a utilização dos NTC não influencia na resposta analítica do herbicida, dado que as correntes obtidas foram muito parecidas.

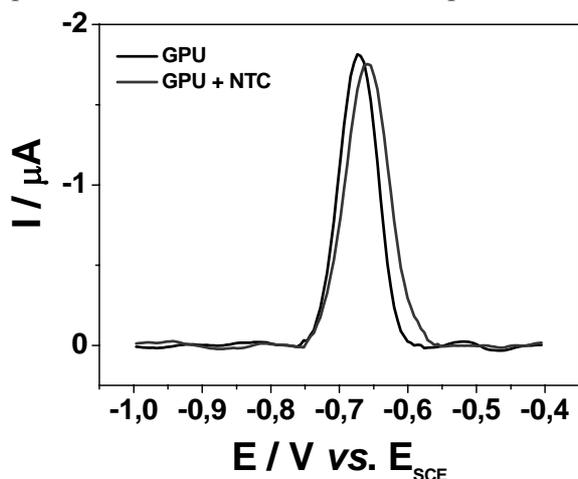


Figura 3: Voltamogramas de onda quadrada para o herbicida metribuzim ($C = 4,2 \text{ mmol L}^{-1}$).

Os voltamogramas de onda quadrada para o metribuzim não apresentaram diferenças significativas em relação à intensidade de pico para o eletrodo de GPU modificado com 10 % de nanotubo e o eletrodo de GPU sem modificação. Para o 2,4-D a intensidade de corrente foi menor para o eletrodo de GPU contendo 10 % de nanotubo.

Conclusões

Como o perfil voltamétrico do ferricianeto de potássio em eletrodo de GPU contendo 10 % de nanotubo foi praticamente idêntico ao obtido com eletrodo de GPU sem modificação, pode-se concluir que a quantidade de nanotubo adicionado não foi suficiente para promover um aumento no sinal analítico dos herbicidas em estudo. Como alternativa, estão sendo realizados estudos com a deposição de filmes finos de nanotubos de carbono e PHMB (cloridrato de poli-hexametileno biguanida) por automontagem visando a melhora da sensibilidade analítica da técnica.

Referências

- 1 VAZ, C.M.P; CRESTANA, S.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; MASSAROPI, M. R. C.; AVACA, L. A. **Pesticidas R. Téc. Cient.**, [S. l.], v. 6, p. 56-74, 1996.
- 2 CASTANHO, G. M.; VAZ, C. M. P.; MACHADO, S. A. S. **J. Braz. Chem. Soc.**, [S. l.], v. 14, p. 594-600, 2003.
- 3 TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; SILVA, A. B. F.; HONÓRIO, K. M.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. **Analytical Letters**, [S. l.], v. 39, p. 507-520, 2006.
- 4 TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; K. M.; CAVALHEIRO, E. T. G.; MAZO, L. H. **Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 381, p. 1161-1166, 2005.
- 5 LABORATÓRIO de Química do Estado Sólido – Instituto de Química – UNICAMP. Disponível em: http://lqes.iqm.unicamp.br/images/vivencia_lqes_monografias_odair_nanotubos_carbono.pdf. Acesso em: 24 out. 2006.
- 6 MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Talanta**, [S. l.], v. 257, p. 909-917, 2002.



UTILIZAÇÃO DO ELETRODO COMPÓSITO DE GPU MODIFICADO COM NTC PARA DETECÇÃO DO INSETICIDA PARATION METÍLICO EM CAMPO COM O PALM-SENS

Jonatas L. Rodrigues; Wilson T. Lopes, Renata A. de Toledo, Fernanda R. de Andrade e Carlos M. P. Vaz*

Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

* vaz@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de utilização do eletrodo compósito de GPU modificado com nanotubo de carbono (NTC) para análise do inseticida comercial paration metílico em campo com auxílio do potenciostato portátil Palm-Sens. O inseticida apresentou um pico de redução em $-0.73 \text{ V vs. } E_{SCE}$ sobre o eletrodo compósito de GPU modificado com NTC. Os testes foram realizados em solução extraída do solo e água Milli-Q utilizando-se o inseticida comercial Folisuper e o padrão analítico do inseticida. Curvas analíticas foram construídas no intervalo de 0,1 a 10 mg L⁻¹ com boa linearidade ($r^2 = 0.995$). Foi observado uma ótima reprodutibilidade e um baixo limite de quantificação (0,1 mg L⁻¹) para esta técnica, além da especificidade do método, pois não houve interferência de outros componentes da matriz na resposta voltamétrica do paration metílico.

Palavras-chave: paration metílico, Palm-Sens, GPU modificado, pesticida, solo.

Introdução

As técnicas eletroanalíticas têm sido utilizadas desde a década de 60 para a determinação de pesticidas¹. Entretanto, apenas nas últimas duas décadas é que sua utilização se popularizou, permitindo o desenvolvimento de metodologias e procedimentos de análise de um grande número de pesticidas. Dentre as vantagens das técnicas eletroanalíticas, comparativamente com outras técnicas mais comumente utilizadas, como cromatografia e cintilação líquida, estão a simplicidade de análise, menor custo dos equipamentos e das análises e a possibilidade da medida direta em soluções contendo partículas sólidas dispersas e soluções coloridas. Como desvantagens têm-se, em alguns casos, uma

menor seletividade e sensibilidade da análise. Entretanto, a grande facilidade operacional das técnicas eletroanalíticas faz com que elas sejam extremamente atrativas para algumas aplicações específicas na agricultura, meio-ambiente, indústria de alimentos, dentre outras. Uma revisão de literatura realizada² mostrou que pesticidas pertencentes as mais diversas classes como herbicidas triazinas, inseticidas organoclorados, inseticidas organofosforados, inseticidas carbamatos, compostos nitro, derivados da uréia, dentre outros já foram estudados por técnicas eletroanalíticas. O paration metílico é um inseticida organofosforado, cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 1.

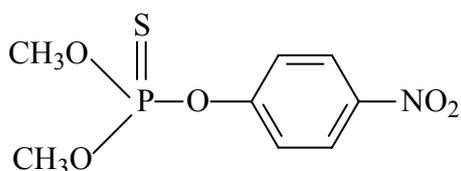


Figura 1. Estrutura química do metil paration.

Compostos derivados de grupamento nitroaromáticos, como o inseticida paration metílico, podem ser analisados por técnicas eletroquímicas como as de polarografia e voltametria, pelo fato que o grupo do nitro-benzeno é reduzido facilmente em potencial catódico³.

Dentre os eletrodos empregados para a análise do metil paration, podem-se citar o eletrodo de gota pendente de mercúrio⁴ e os biossensores enzimáticos⁵, os quais são caracterizados por apresentar grande toxicidade e alto custo das enzimas, respectivamente. Estes fatores impulsionam o desenvolvimento de novos eletrodos para a análise deste inseticida, uma vez que sua aplicação na agricultura é bastante comum. O eletrodo composto de GPU além de não apresentar toxicidade, é de fácil montagem e a renovação de sua superfície pode ser feita por meio de polimento em feltro contendo solução de sílica.

Materiais e métodos

Utilizou-se o inseticida comercial Folisuper 600BR (Agripec), que tem como princípio ativo o metil paration. Este foi diluído em álcool inicialmente para uma concentração de 12000 e, posteriormente, para 400 mg L⁻¹. A solução padrão foi preparado com reagentes de pureza analítica (Sigma) em etanol numa concentração de 2216 mg L⁻¹. O eletrólito utilizado foi o CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, simulando a concentração de eletrólitos no solo². A solução de solo foi extraída com auxílio de uma cápsula porosa conectada a tubos e com uma bomba a vácuo. As medidas voltamétricas foram realizadas no potenciostato portátil Palm-Sens (Figura 2), utilizando-se célula convencional de vidro Pirex[®], com tampa em Teflon[®] para o posicionamento dos eletrodos de trabalho (compósito de GPU modificado com NTC), de referência (eletrodo de calomelano saturado) e auxiliar (fio de platina). Os eletrodos compósitos a base de GPU foram confeccionados por uma mistura de resina de poliuretana, misturando-se 0,85 partes do pré-polímero (A-249) e 1,0 parte do polioliol (B-471). A resina foi então homogeneizada com pó de grafite

(Acheson-38 da Fisher) a fim de se obter 60% (m/m) de grafite no compósito. A mistura foi inserida em uma prensa extrusora para a obtenção do tarugo. Após a cura da resina, a qual dura 24 horas, o tarugo pode ser embutido. O contato elétrico foi feito pela inserção de um fio de cobre no compósito, por meio da cola de prata. O conjunto foi inserido em um tudo de vidro e este é preenchido com resina poliéster.



Figura 2. Esquema de utilização do Palm-Sens.

Para renovação da superfície, o eletrodo foi lavado em solução de etanol e logo após foi polido em feltro contendo solução de sílica. Este procedimento foi feito após cada medida e realizado em triplicata para cada concentração.

Resultados e discussão

A voltametria de onda quadrada foi a técnica que apresentou maior sensibilidade analítica. Os parâmetros da técnica foram otimizados e uma condição ótima foi encontrada utilizando uma frequência de 20 Hz, 200 mV de amplitude e incremento de 1 mV. Pela análise dos voltamogramas da Figura 3, pode-se observar um aumento de cerca de 30 % na intensidade de corrente de pico do metil paration quando se utiliza o eletrodo modificado com nanotubo de carbono, suportando a utilização deste eletrodo para as medidas realizadas. Este aumento no sinal pode ser atribuído ao aumento da superfície ativa do eletrodo quando se adiciona o nanotubo.

Curvas analíticas foram construídas sob as mesmas condições no Palm Sens, tanto para o Folisuper como para o metil paration padrão, utilizando-se soluções extraídas do solo com adição de CaCl₂ e água Milli-Q, em um intervalo

de 0,1 mg mL⁻¹ a 10 mg mL⁻¹ do inseticida. Os voltamogramas obtidos e as curvas analíticas são representados na Figura 4.

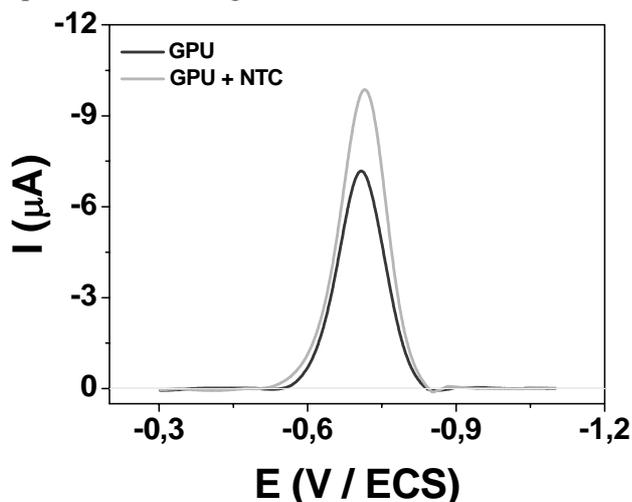


Figura 3: Voltamogramas de onda quadrada comparando os eletrodos compostos de GPU não modificado e modificado com NTC.

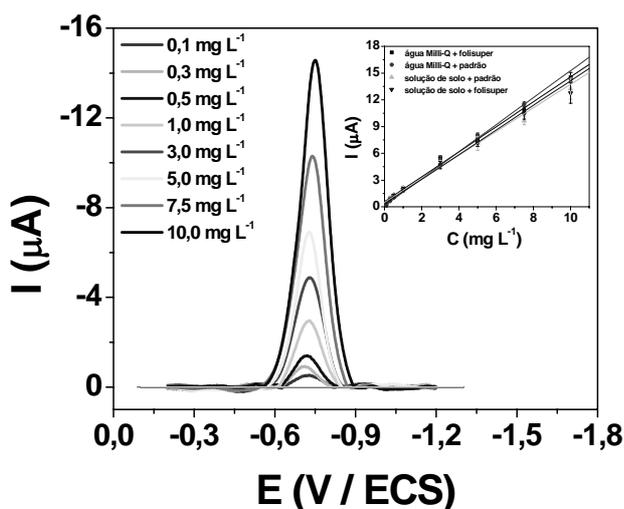


Figura 4. Voltamogramas de onda quadrada variando a concentração de folisuper adicionado em água Milli-Q. Inseto: curvas analíticas.

A proximidade dos valores da tangente das curvas, apresentados na Tabela 1, mostra o bom comportamento do eletrodo composto de GPU modificado com NTC, podendo ser utilizado para detecção *in situ* do inseticida paration metílico.

Pode-se notar que as correntes de pico para uma mesma concentração são muito semelhantes, mesmo em soluções diferentes, comprovando a boa reprodutibilidade do eletrodo. Os limites de detecção encontrados foram de 1,2 mg L⁻¹ para água Milli-Q e 1,3 mg L⁻¹ para solução extraída

do solo quando se utilizou solução padrão de metil paration.

Tabela 1. Valores da tangente das curvas analíticas.

solução	pesticida	Tg	LD (ppm)	r ²
Água Milli-Q	padrão	1,52	1,2	0,99
Água Milli-Q	folisuper	1,38	1,3	0,99
solo	padrão	1,33	1,3	0,97
solo	folisuper	1,38	1,2	0,99

Conclusões

A utilização do eletrodo composto de GPU modificado com nanotubo para detecção do pesticida metil paration foi bastante satisfatória. A não toxicidade e a fácil montagem deste eletrodo mostra que este pode ser empregado para análises ambientais de compostos eletroativos *in situ*, com auxílio de um Palm-Sens. A boa reprodutibilidade (menor que 10% para todas as concentrações) e a fácil limpeza da superfície são fatores positivos para utilização deste eletrodo. Esta análise também se mostrou muito específica, uma vez que para o folisuper observou-se apenas o pico do metil paration, sem nenhum tipo de interferente.

Deve-se ainda citar que um estudo comparativo com outros tipos de eletrodos vem sendo desenvolvido, afim de se encontrar as metodologias e condições ideais de análise de pesticidas e outros compostos eletroativos em alimentos e águas naturais.

Referências

- HANCE, R.J. **Pesticides Science**, [S. l.], v. 1, p. 112-113, 1970.
- VAZ, C. M. P.; CRESTANA, S.; MACHADO, S. A. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 62, p. 65-76, 1996.
- LIU, G.; LIN, Y., **Electrochemistry Communications**, [S. l.], v. 7, p. 339-343, 2005.
- NI, Y.; QIU, P.; KOKOT, S. **Anal. Chim. Acta**, [S. l.], v. 516, p. 516, 7-17, 2004.
- ALBUQUERQUE, Y. D. T.; FERREIRA, L. F. **Anal. Chim. Acta.**, [S. l.], v. 596, p. 210-221, 2007.
- MENDES, R. K.; CLARO-NETO, S.; CAVALHEIRO, E. T. G. **Talanta**, [S. l.], v. 257, p. 909-917, 2002.



CÁLCULO DA ENERGIA LIVRE SUPERFICIAL EM FILMES ENZIMÁTICOS AUTOMONTADOS PARA APLICAÇÕES EM BIOCENSORES

Luis Carlos de Moraes (1) e Odilio B.G. Assis (2)

(1) Departamento de Ciências da Natureza
Universidade Federal do Acre – UFAC, Rio Branco, AC
luiscarlos_morais@yahoo.com.br

(2) Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.02

Resumo

Através da medida do grau de molhabilidade por água em superfícies planas enzimáticas, é efetuado o cálculo da energia livre superficial. O objetivo é caracterizar a interação de superfícies de enzimas proteases (pepsina, tripsina e lisozima), na forma de filmes automontados, para avaliar a potencial aplicação como sensores na detecção de bactérias em água e alimentos, de forma a otimizar os padrões de resposta elétrica característica da interação de microorganismos. Os filmes foram construídos pela técnica de automontagem em soluções aquosas na concentração de 10^{-5} M sobre lâminas de vidro previamente funcionalizadas.

Palavras-chave: molhabilidade, superfície enzimática, automontagem, biossensores.

Introdução

De um modo geral pode-se dizer que sensores são dispositivos que transformam diversos estímulos em sinais mensuráveis, podendo estes serem formados somente por componentes eletrônicos ou se utilizarem de agentes químicos, enzimáticos, poliméricos, entre outros.

Os sensores que operam com biomoléculas, são assim considerados “biossensores”. O termo “biossensor” pode ser entendido como uma ferramenta ou sistema analítico composto por um material biológico imobilizado em contato íntimo com um sistema transdutor adequado que converte o sinal bioquímico em um sinal elétrico mensurável. Em um dispositivo funcional, a porção sensível geralmente é pequena, o que permite análises em frações reduzidas de amostras, sendo desejável uma atividade para

certo intervalo de compostos e com mínima interferência possível, para que o sinal seja identificável com facilidade¹. Neste contexto, superfícies enzimáticas têm sido estudadas como sistemas promissores na confecção de sensores de bactérias, devido às interações específicas existentes entre os sítios ativos das enzimas e as paredes de polissacarídeos das bactérias. Sabe-se de um modo geral que enzimas proteases, mesmo na condição imobilizada, quando em contato com células bacterianas Gram-negativas, destrói as ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ entre o ácido N-acetilmurâmico (NAM ou MurNAc) e N-acetilglicosamina (NAG ou GlcNAc) dos peptidoglicanos da parede celular, conhecido como “mecanismo de Phillips”².

A literatura mostra³ que diferentes bactérias entéricas possuem componentes químicos transdutores similares, os quais seriam sítios receptores de grupos metílicos, o que

possibilitaria a discriminação dos distintos grupos bacterianos.

Uma característica para o desenvolvimento de sensores de bactérias em meio líquido é a molhabilidade entre a superfície ativa e o meio aquoso, o que é fundamental para favorecer o transporte e interação dos microorganismos nos sítios ativos gerando em decorrência o sinal específico da hidrólise.

Neste trabalho caracterizamos a molhabilidade superficial para diversos solventes de três enzimas proteases imobilizadas sobre sensores: pepsina, tripsina e lisozima, eleitas como superfícies ativas para a confecção de biossensores.

Materiais e métodos

As enzimas empregadas neste trabalho (pepsina, tripsina e lisozima) são produtos comerciais da Sigma. Os depósitos foram conduzidos sobre lâminas de vidro funcionalizadas, segundo procedimento adotado ⁴

Após a limpeza e preparo das lâminas, estas foram imersas em soluções enzimáticas aquosas na concentração de 10^{-5} M, sendo retiradas, lavadas em água ultra pura e deixadas secar espontaneamente. Cada etapa equivale à formação de um depósito ou “camada”, sendo avaliado neste trabalho a molhabilidade sobre 10 depósitos. Os ângulos de contato foram obtidas a partir de microgotas de 50 μ L de volume depositadas nas superfícies por uma seringa Hamilton. Os solventes avaliados foram: água, etilenoglicol, formamida e diiodometano. As imagens das gotas foram coletadas por um microscópio ótico acoplado a uma câmera digital.

As imagens foram tratadas com o software Fta32 versão 2.0 de domínio público. O cálculo da energia superficial foi realizado através da equação de Owens-Wendt na forma simplificada ⁵.

Resultados e discussão

As medidas de ângulos de contato permitem avaliar as interações entre os solventes com diferentes polaridades e as superfícies enzimáticas. De um modo geral é observado diferenças nos ângulos e formatos no molhamento. A Figura 1 ilustra o aspecto de gotas de água sobre as diferentes superfícies enzimáticas.

Observamos que a variação no formato das gotas se deve essencialmente ao efeito da polaridade do solvente, que após interagirem com as superfícies formam gotas com diferentes ângulos de contato interno (θ). A seqüência encontrada foi $\theta_{\text{água}} < \theta_{\text{formamida}} < \theta_{\text{diiodometano}}$ o que mostra que quanto menor o ângulo θ maior a interação entre o solvente e a superfície. Para o etilenoglicol e o diiodometano, as contribuições polares e dispersivas são responsáveis pela significativa diferença existente na magnitude de interação entre esses dois solventes e uma superfície sólida.

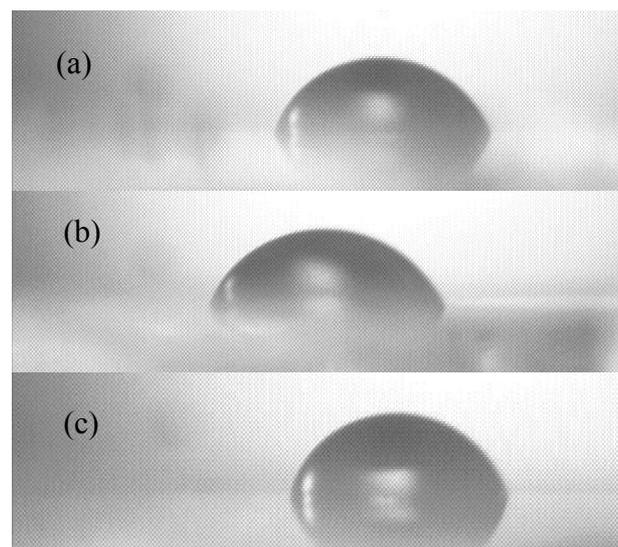


Figura 1: Imagens ilustrativas de gotas de água sobre lâminas recobertas com (a) lisozima, (b) pepsina e (c) tripsina.

Os gráficos da Figura 2 a apresentam as medidas da variação angular que ocorre com o ângulo interno de uma gota ao longo de um tempo muito curto (em segundos) para os diferentes solventes.

O tratamento matemático teve por base a equação de Owens-Wendt na forma simplificada ⁵, permitindo estabelecer os parâmetros de energia nas diferentes superfícies:

$$(1 + \cos\theta)\gamma_l = 2(\gamma_{sd} + \gamma_{sp})/2 + (\gamma_{ld} + \gamma_{lp})/2$$

$$e \quad \gamma_s = \gamma_{sd} + \gamma_{sp}$$

Onde γ_l é a energia livre de superfície do líquido e γ_s a do sólido, γ_{lp} e γ_{ld} são as componentes polar e de dispersão do líquido, respectivamente. Estas equações mostram que a energia livre total é obtida pela soma das componentes polar e dispersiva. As energias de superfície calculadas estão sumarizadas na tabela 1.

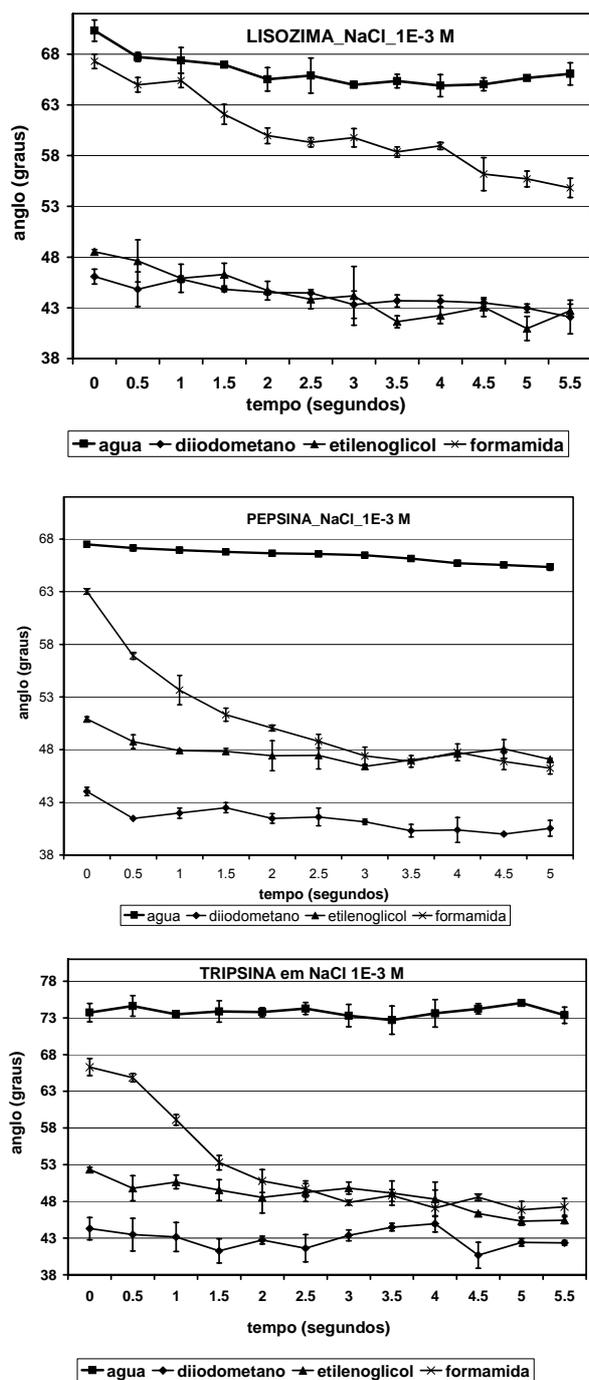


Figura 1. Ângulo de contato para água, diiodo metano, etilenoglicol e formamida medidos sob as superfícies de lisozima, pepsina e tripsina ao longo do tempo.

Os valores desta tabela 1 indicam que para a lâmina de vidro sem filme a contribuição total foi de 66,9 mN/m, a qual se aproxima do valor de tensão superficial tabelado para a água (72,10 mN/m). Dados disponíveis mostram que as energias de superfície de vidro podem apresentar valores até próximos de 73 mN/m⁶.

Tabela 1: Energias de superfícies para lâminas de vidro recobertas com filmes automontados de enzimas.

Amostras	Energia livre de superfície (mN/m)		
	γ_{total}	$\gamma_{dispersiva}$	γ_{polar}
Lâmina sem filme	66,9	13,4	53,5
Filme lisozima*	34,7	23,4	11,2
Filme pepsina*	35,9	23,2	12,8
Filme tripsina*	34,3	25,6	8,7
Filme pepsina**	33,3	22,7	10,6

Para as superfícies enzimáticas os valores de energia livre de superfície foram similares e se mantiveram próximos a 34,5 + 1,07 mN/m. Da mesma forma, as contribuições parciais polares e apolares foram também similares, sendo esta última a maior. A parte apolar contribui significativamente para um aumento de hidrofobicidade superficial dos filmes enzimáticos e assim, ajudam a explicar a baixa solubilidade em água que foram observadas nos experimentos de dessorção.

Referências

- Villaverde, A. Allosteric enzymes as biosensors for molecular diagnosis. FEBS Letters, 554 (2003), 169-172.
- Lehninger, A. et al., Principles of Biochemistry. Ed. Worth Publishers, N.Y., 1993, 1013p.
- Nowlin, D.M. et al., Chemotactic Transducer Proteins of Escherichia coli Exhibit Homology with Methyl-Accepting Proteins from Distantly Related Bacteria. J. of Bacteriology, July, 262-266, 1985.
- Assis, O.B.G. & Claro, L.C. Immobilized lysozyme protein on fibrous medium: preliminary results for microfiltration applications. Electronic J. of Biotechnology, 6[2]:14 - 20, 2003.
- Nishino, T. et al., The Lowest Surface Free Energy Based on -CF₃ Alignment. Langmuir, 15: 4321-4323, 1999.
- Disponível em: <http://www.firsttenangstroms.com>. Acesso em: 2007



LÍNGUA ELETRÔNICA PARA ANÁLISE DE CAFÉ BASEADA EM SENSORES PREPARADOS PELA TÉCNICA DE AUTOMONTAGEM

Alessandra A. Correa¹, Gustavo F. de Paula¹, Rejane C. T. Pereira¹, João M. Naime¹, Luis O. S. Bulhões² e Luiz H. C. Mattoso^{1*}

¹Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP

²Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica, UFSCar, SP

*mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

Resumo

O objetivo deste trabalho é analisar a estabilidade e resposta elétrica de filmes de PHMB/PEDOT-PSS e PHMB/Ftalocianina. Os filmes foram depositados pela técnica de automontagem e o crescimento foi acompanhado por espectroscopia de UV-Vis até atingir 10 bicamadas. Os filmes foram considerados estáveis e então foram depositados em microeletrodos interdigitados de ouro para compor uma língua eletrônica juntamente com um microeletrodo interdigitado sem filme. Foram realizados estudos de impedância sendo que os sensores foram capazes de classificar a qualidade do café.

Palavras-chave: automontagem, língua eletrônica, polímeros, café.

Introdução

As principais qualidades necessárias em um sensor são alta sensibilidade, estabilidade e seletividade para distinguir conjuntos de substâncias químicas presentes no meio, realizando desta maneira a diferenciação e classificação de diferentes tipos de soluções em análise. A denominação “língua eletrônica” é utilizada para um sensor que analisa sistemas líquidos como, por exemplo, o café, que é estudado neste trabalho, servindo para diferenciar os tipos de paladar dentro das categorias de classificação de cafés.

No ser humano, o sistema gustativo consegue distinguir cinco tipos básicos de paladares: azedo, produzido por íons hidrogênio presentes em substâncias ácidas em geral; salgado, representado

principalmente pelo cloreto de sódio; doce, produzido por sacarose, frutose, glicose e substâncias similares; amargo, normalmente produzido por quinino, cafeína e cloreto de magnésio; e umami, presentes em carnes e frutos do mar, provenientes de dissódio inosinato e monossódio glutamato. Essas substâncias são detectadas em uma membrana biológica composta principalmente por lipídios e proteínas, localizadas em canais especiais na língua. As informações trazidas pelas diferentes substâncias são transformadas em sinais elétricos que são transmitidos pelos nervos ao cérebro, onde o gosto é identificado.

A construção de sensores gustativos tem a função de imitar o sistema biológico humano no processo de identificação e classificação de paladares através de membranas artificiais compostas por materiais transdutores, que transformem informações químicas em sinais elétricos através

de uma variação na sua impedância, como as línguas eletrônicas¹⁻⁹.

A Associação Brasileira das Indústrias de Café (ABIC) tem se preocupado bastante com a qualidade do café torrado e moído e então desenvolveu o Programa de Qualidade do Café (PQC) onde são estabelecidos requisitos técnicos para a concessão do selo PQC, sendo que o produto precisa ter uma qualidade mínima exigida¹⁰. Assim, neste trabalho tem-se o interesse no desenvolvimento de sensores capazes de determinar a qualidade do café.

Materiais e métodos

Poli(3,4-etilenodioxitiofeno) dopado com poliestireno sulfonado (PEDOT-PSS), foi doado pela Bayer do Brasil, polihexametileno biguanida (PHMB), comercialmente Vantocil[®] IB foi doado pela Arch Chemical do Brasil, ftalocianina tetrasulfonada de níquel foi comprada da Aldrich, sendo que todos os reagentes foram usados sem purificação.

Os filmes de PHMB/PEDOT-PSS e PHMB/Ftalocianina foram depositados pela técnica de automontagem. Os filmes nanoestruturados contendo 10 bicamadas foram depositados sobre placas de vidro. A deposição de multicamadas foi feita pela imersão alternada durante 5 minutos na solução catiônica (PHMB) e aniônica (PEDOT-PSS ou ftalocianina). Após a deposição de cada camada o sistema substrato/filme foi lavado com água e seco. O crescimento das multicamadas foi monitorado em cada deposição usando espectroscopia de UV/Vis.

O estudo da estabilidade do filme em café foi feito pela imersão do substrato em solução de café durante 15 minutos e em álcool etílico durante 10 minutos. Este procedimento foi feito 10 vezes e a lavagem foi acompanhada por espectroscopia de UV-Vis.

O espectro de impedância elétrica foi obtido usando um Analisador de Impedância Solartron 1260 A ligado a um multiplexador o qual permitiu as medidas simultâneas dos três sensores. As medidas de impedância foram realizadas em quatro frequências: 100 Hz, 1 kHz, 10 kHz e 100 kHz.

A língua eletrônica foi constituída por três unidades sensoriais diferentes: (1) PHMB/PEDOT-PSS; (2) PHMB/Ftalocianina e (3) microeletrodo sem filme.

As análises em café foram feitas a partir de amostras com diferentes notas. Treze cafés foram analisados e todas as medidas foram repetidas três vezes. Os cafés medidos foram fornecidos pela Associação Brasileira das Indústrias de Café (ABIC) e todos os cafés vieram com notas atribuídas por degustadores de acordo com a qualidade do café.

Resultados e discussão

A Figura 1a mostra que a absorvância no pico de 800 nm aumenta com o número de bicamadas para camadas de PHMB alternada com PEDOT-PSS. A Figura 2b mostra que a absorvância no pico de 620 nm aumenta com o número de bicamadas para camadas de PHMB alternada com ftalocianina. Os picos escolhidos para cada filme são característicos de cada material.

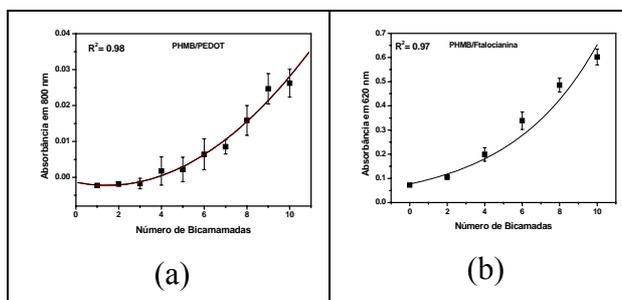


Figura 1: Absorbância em função do número de bicamadas para: (a) PHMB/PEDOT-PSS em 800 nm e (b) PHMB/Ftalocianina em 620 nm.

A fim de verificar a estabilidade dos filmes em café e o efeito da lavagem dos sensores em álcool etílico foram realizadas medidas de UV-Vis dos sensores antes e após o contato desses sensores com o café. A Figura 2a e 2b apresenta a absorvância com o número de imersões de cada sensor em café, sensor PHMB/PEDOT-PSS e sensor PHMB/Ftalocianina, respectivamente.

Analisando a Figura 2 pode ser observado que os dois sensores são estáveis após 10 imersões em café, e que o sensor PHMB/PEDOT-PSS é o mais estável.

Deste modo foi montada uma língua eletrônica utilizando estes dois sensores e também um microeletrodo interdigitado de ouro como sensor e então foram realizadas medidas de impedância. Através dos valores de capacitância e resistência obtidos calculou-se a $\tan \delta$ e através de um modelo matemático obteve-se a nota do café. A Figura 3 apresenta a nota real, a qual foi obtida

pelos degustadores, em função da nota predita, obtida pelo modelo calculado. Um resultado ideal deve ser uma linha com inclinação de 45° através da origem. Os pontos em azul representam todas as medidas de café e os pontos em rosa representam a média de cada café. A linha preta significa o ajuste linear obtido através da nota predita e a nota real. O valor de $R^2 = 1$ significa uma correlação perfeita, assim um valor maior do que 0,85 é considerado um bom resultado considerando a avaliação do café.

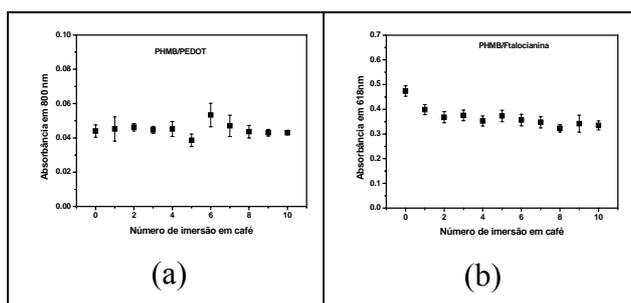


Figura 2: Absorbância em função do número de imersão em café para: (a) PHMB/PEDOT-PSS em 800 nm e (b) PHMB/Ftalocianina em 620 nm.

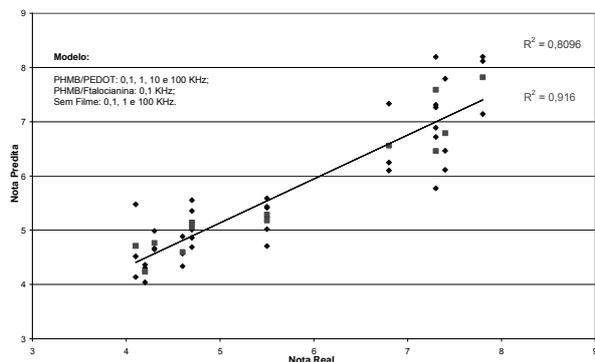


Figura 3: Nota predita do café, atribuída pelo modelo, em função da nota real do café. Os pontos em azul representam todas as medidas de café e os pontos em rosa representam a média de cada café. O parâmetro elétrico utilizado foi Tan δ .

Conclusões

Neste trabalho foi estudada a estabilidade e a resposta da impedância elétrica de filmes nanoestruturados: PHMB/PEDOT-PSS e PHMB/Ftalocianina em café. Os filmes analisados foram considerados eficientes na utilização como sensores para café devido à boa estabilidade. Uma língua eletrônica composta pelos dois filmes

analisados depositados em microeletrodos interdigitados de ouro e também por um microeletrodo interdigitado de ouro sem filme mostrou que este sistema foi capaz de diferenciar algumas classes de café. A análise foi feita usando quatro frequências e assim foi possível obter a resposta de capacitância e resistência. O valor de Tan δ calculado foi então associado com um modelo estatístico que prediz a nota de cada café.

Referências

- 1 TOKO, K. **Biosensors and Bioelectronics**, [S. l.], v. 13, p. 701, 1998.
- 2 IYAMA, S.; MIYAZAKI, Y.; HAYASHI, K.; TOKO, K.; YAMAFUJI, K.; IKEZAKI, H.; SATO, K. **Sensors and Materials**, [S. l.], v. 4, p. 4, 21, 1992.
- 3 TOKO, K. **Measur. Sci Technol.**, [S. l.], v. 9, p. 1919, 1998.
- 4 LEGIN, A.; RUDNITSKAYA, A.; VLASOV, Y.; DI NATALE, C.; MAZZONE, E.; D'AMICO, A. **Sensors and Actuators B**, [S. l.], v. 65, p. 232, 2000.
- 5 RIUL JR., A.; DOS SANTOS, D. S.; WHOHNATH, K.; DI TOMMAZO, R.; CARVALHO, A. C. P. L. F.; FONSECA, F. J.; OLIVEIRA JR., O. N.; TAYLOR, D. M.; MATTOSO, L. H. C. **Langmuir**, [S. l.], v. 18, p. 239, 2002.
- 6 RIUL JR., A.; SOTO, A. M. G.; MELLO, S. V.; BONE, S.; TAYLOR, D. M.; MATTOSO, L. H. C. **Synthetic Metals**, [S. l.], v. 132, p. 109, 2003.
- 7 RIUL JR., A.; DE SOUSA, H. C.; MALMEGRIM, M. M.; DOS SANTOS, D. S.; CARVALHO, A. C. P. L. F.; FONSECA, F. J.; OLIVEIRA JR., O. N.; MATTOSO, L. H. C. **Sensors and Actuators B**, v. 98, p. 77, 2004.
- 8 CARVALHO, E. R.; CONSOLIN-FILHO, N.; FIRMINO, A.; OLIVEIRA JR., O. N.; MATTOSO, L. H. C.; MARTIN-NETO, L. **Sensor Letters**, [S. l.], v. 4, p. 129, 2006.
- 9 CARVALHO, E. R.; CORREA, A. A.; CONSOLIN-FILHO, N.; OLIVEIRA JR., O. N.; GOMES, H. L.; MATTOSO, L. H. C.; MARTIN-NETO, L. **Sensor Letters**, [S. l.], v. 5, p. 1, 2007.
- 10 ABIC. Disponível em: <<http://abic.com.br/>>. Acesso em: 2007.



ESTUDO DA ESTABILIDADE E REPETIBILIDADE DE FILMES AUTOMONTADOS USADOS COMO SENSORES QUÍMICOS EM UMA LÍNGUA ELETRÔNICA

Guilherme de S. Braga *; Leonardo G. Paterno; Fernando J. Fonseca

Escola Politécnica da Universidade de São Paulo

* gbraga@lme.usp.br

Projeto Componente: PC2 Plano de Ação: 01.05.1.01.02.03

Resumo

A estabilidade de sensores químicos formados por filmes automontados de polianilina/poli(estireno-sulfonato de sódio) (PANI/PSS) após sucessivas imersões em sucos de fruta e ciclos de limpeza é avaliada para longos períodos de tempo usando um robô feito em nosso laboratório, chamado *Haubenteuer*. Com esse mesmo equipamento estudaram-se os efeitos da automação do procedimento de deposição de filmes automontados de PANI/PSS, verificando-se que os filmes depositados com o robô possuem um grau de repetibilidade maior do que os fabricados manualmente.

Palavras-chave: língua eletrônica, sensores químicos, filmes automontados, estabilidade, repetibilidade, polianilina.

Introdução

A técnica de automontagem ¹ é amplamente usada para depositar filmes ultrafinos de materiais orgânicos, como polímeros, devido à facilidade do procedimento de deposição, o baixo custo do equipamento experimental e o controle da espessura dos filmes na escala nanométrica. Considerando o uso prático dos filmes automontados, é importante desenvolver um processo de deposição que assegure a reprodução dos filmes com propriedades morfológicas e elétricas similares.

Para obter isso, é necessário depositar os filmes de modo repetitivo e reprodutível. Normalmente esses filmes são depositados a mão e, portanto, estão sujeitos a erros humanos, levando a baixas repetibilidade e reprodutibilidade de suas propriedades entre diferentes lotes ². Uma

possível maneira de resolver esse problema é automatizar o procedimento de deposição, reduzindo a interação humana e a desuniformidade induzida pelo operador. Assim, desenvolvemos um robô ², chamado *Haubenteuer*, dedicado a fabricação de filmes automontados (Figura 1).

Para verificar a eficiência da automação na deposição de filmes com alto grau de repetibilidade e reprodutibilidade, filmes fabricados com o robô foram comparados com filmes fabricados manualmente.

Há um interesse particular no uso desses filmes como sensores químicos em línguas eletrônicas (LE) ³. Nesta aplicação, os sensores que compõem a LE permanecem em contato com as amostras dos líquidos a serem analisados por vários minutos. Depois, eles são transferidos para um recipiente contendo água destilada com agitação

(etapa de limpeza) e são então secos, antes que outras amostras sejam analisadas. Dependendo do número de amostras, esses sensores são submetidos a vários ciclos de imersão/limpeza/secagem. Portanto, conhecimento sobre a estabilidade dos filmes para este tipo de uso é crítico para o desenvolvimento de sensores confiáveis e estáveis para serem aplicados em LEs.



Figura 1. Vista frontal do robô desenvolvido em nosso laboratório.

Materiais e métodos

Materiais: todos os filmes foram depositados sobre substratos de vidro ótico (1x10x30mm). As soluções poliméricas usadas na deposição dos filmes foram polianilina – PANI (0,06g/L) e poli(estireno-sulfonato de sódio) – PSS (0,057g/L), cujos pHs foram ajustados em 2,8 com a adição de HCl.

Deposição dos filmes por automontagem: os substratos de vidro foram imersos, alternadamente, nas soluções de PANI e PSS por 3 minutos (em cada uma). Entre cada imersão, eram colocados na solução de limpeza (água ultrapura com agitação) por 30 segundos e posteriormente, eram secos através do contato da parte inferior do substrato com um papel absorvente. O ciclo descrito permite a deposição de uma bicamada, assim para se obter filmes com 10 bicamadas, o ciclo descrito foi repetido por 10 vezes. Esse procedimento foi empregado na deposição manual dos filmes e com o auxílio do robô.

Estudo da estabilidade dos filmes automontados (AM): usou-se o robô para simular os ciclos de operação de uma LE, possibilitando o estudo da estabilidade dos filmes

AM como sensores químicos. O robô imergiu, simultaneamente, 3 filmes AM similares de PANI/PSS (10 bicamadas) em uma solução de suco de maracujá diluída (1:10) por 3 minutos, enquanto que um quarto filme similar foi mantido como filme de referência. Em seguida, os filmes eram imersos em uma solução de limpeza (água destilada com agitação) por 5 minutos, e então ficavam secando (no ar) por 3 minutos antes de serem novamente imersos na solução de suco (estas etapas compreendem um ciclo de operação). Estes ciclos foram repetidos 160 vezes e a cada 10 ciclos cada filme era avaliado por espectroscopia de UV-vis. A rugosidade dos filmes de referência e usados nos ciclos foi obtida com a técnica de AFM, no modo intermitente. O experimento foi realizado por 4 dias consecutivos.

Resultados e discussão

Deposição dos filmes automontados

Para verificar a eficiência da automação, filmes AM depositados a mão por diferentes operadores (cada um preparou 3 filmes) foram comparados com os filmes depositados com o auxílio do robô. Os filmes depositados pelos operadores e pelo robô foram preparados simultaneamente, com condições idênticas. Como mostrado na Figura 2, a espessura dos filmes e a quantidade de PANI adsorvida para cada operador foram bem diferentes, demonstrando que a fabricação manual está sujeita a erros humanos. A experiência e atenção da pessoa responsável pela deposição influem diretamente na qualidade dos filmes. Quando a média da absorção e da espessura são calculadas, observa-se que as barras de erros são maiores do que as obtidas para os filmes feitos com o robô.

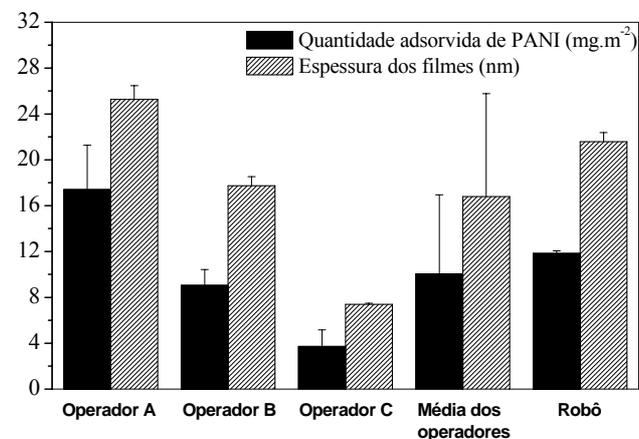


Figura 2. Quantidade adsorvida de PANI e espessura de filmes de PANI/PSS com 10

bicamadas preparados com métodos diferentes (manual e mecânico).

Usando a técnica de espectroscopia de UV-vis, acompanhou-se o crescimento de 3 filmes de PANI/PSS até 60 bicamadas. Como pode ser visto na Figura 3, os filmes apresentaram um crescimento linear, havendo um incremento constante na massa de PANI adsorvida, mostrando a grande repetibilidade do sistema.

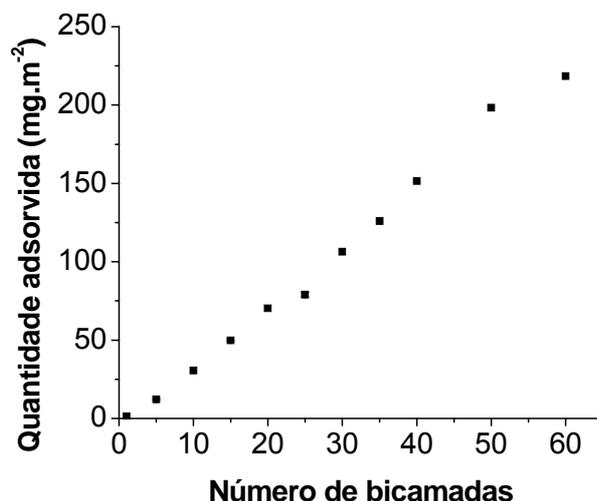


Figura 3. Quantidade de PANI adsorvida em função do número de bicamadas.

Estes resultados demonstram que usando o robô, o processo de fabricação dos filmes é mais reprodutível e conseqüentemente, filmes com características similares podem ser obtidos.

Estabilidade dos filmes automontados

Para acompanhar uma eventual perda de polímero dos filmes AM devido aos ciclos de operação de uma LE, monitorou-se o valor do pico de absorvância (842nm), o qual representa a banda polarônica da PANI. Os resultados são mostrados na Figura 4, onde se nota uma pequena variação na absorvância (7,29%) à medida que os ciclos são executados, indicando que uma quantidade mínima de polímero foi retirada dos filmes.

A rugosidade dos filmes de referência e dos filmes usados nos ciclos de operação é praticamente a mesma (4,898 e 4,956 nm, respectivamente). Imagens de AFM desses filmes também são similares, demonstrando que não há mudanças significativas em suas superfícies (Figura 5). Estes resultados demonstram que o uso destes filmes em uma LE é viável.

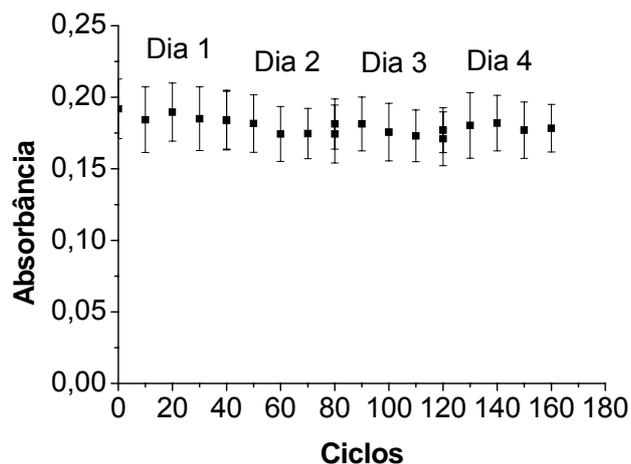


Figura 4. Absorvância UV-vis de filmes automontados de PANI/PSS em função do número de ciclos de operação (imersão/limpeza/secagem).

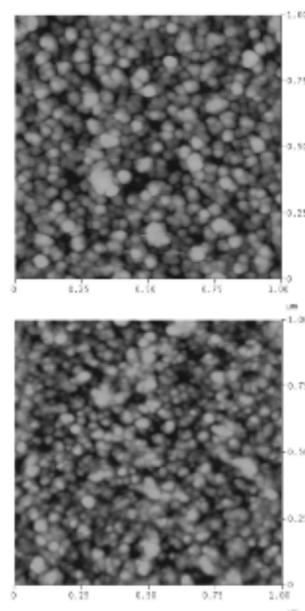


Figura 5. Imagens de AFM de filmes de PANI/PSS com 10 bicamadas (1 μ m²). A) filme de referência (0 ciclos); B) filme após 160 ciclos.

Conclusões

A automação do procedimento de deposição dos filmes automontados mostrou-se eficiente, possibilitando a fabricação de filmes de PANI/PSS com grau de repetibilidade e reprodutibilidade maior do que os filmes fabricados a mão, o que é muito importante ao se considerar as aplicações práticas desses filmes. A experiência e atenção da pessoa responsável pela deposição influem diretamente na qualidade dos filmes, demonstrando que os

filmes feitos a mão estão sujeitos a erros humanos.

Os filmes automontados são suficientemente estáveis para serem usados em línguas eletrônicas com o propósito de avaliar sucos de frutas. Atualmente estamos usando esse procedimento para avaliar a estabilidade de filmes de PANI/PSS em outras bebidas.

Referências

1 LVOV, Y. M.; DECHER, G. **Crystallography Reports**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 628-647, 1994.

2 BRAGA, G.; PATERNO, L. G.; LIMA, J. P. H.; FONSECA, F. J.; ANDRADE, A. M. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], 2007. no prelo. (doi:10.1016/j.msec.2007.06.003).

3 RIUL, A.; GALLARDO SOTO, A. M.; MELLO, S. V.; BONE, S.; TAYLOR, D. M.; MATTOSO, L. H. C. **Synthetic Metals**, [S. l.], v. 132, p. 109-116, 2003.



NANOMANIPULAÇÃO DE SUPERFÍCIES POLIMÉRICAS POR AFM: NANOLITOGRAFIA E NANOINDENTAÇÃO

A. Manzoli¹, A.A.H.S. Garcia¹, F. L. Leite¹, R. Bernardes Filho¹, P.S.P. Herrmann^{1*}

¹Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

* herrmann@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

Resumo

Neste trabalho foram avaliadas as possibilidades de manipulação, utilizando a técnica de microscopia de força atômica, por meio das ferramentas de nanolitografia e de nanoindentação, das superfícies de policarbonato de uma mídia de CD e do polímero PHMB (polihexametileno biguanida). Um polígono com cinco arestas foi riscado sobre a superfície do CD e, por meio de nanoindentações sobre a superfície do PHMB foi possível avaliar a relação entre a força aplicada sobre a ponta e a profundidade de penetração da mesma na amostra.

Palavras-chave: nanolitografia, nanoindentação, MFA, PHMB, policarbonato

Introdução

Há um crescente interesse na miniaturização em escala nanométrica tanto de circuitos eletrônicos como de estruturas mecânicas. A transição da microtecnologia para a nanotecnologia requer a habilidade de fabricar estruturas menores e, conseqüentemente, de explorar e de aplicar os fenômenos físicos associados à escala nanométrica. Nesse sentido, a microscopia de força atômica (MFA)^{1,2} surge como uma técnica poderosa para a obtenção tanto da morfologia das superfícies nanométricas com grande resolução espacial, como também, para a fabricação e manipulação dessas superfícies, por meio da exploração da interação ponta-amostra a partir das ferramentas de nanolitografia e de nanoindentação.

Materiais e métodos

A nanolitografia foi utilizada para riscar um polígono com cinco arestas iguais sobre a

superfície de policarbonato de uma mídia de CD (*Compact Disc*). Nanoindentações foram obtidas, por meio de curvas de força, sobre a superfície de um filme do polímero PHMB (polihexametileno biguanida), depositado por automontagem sobre eletrodo de ouro (eletrodo de ouro imerso em solução aquosa 1×10^{-3} mol L⁻¹ do polímero por 5 minutos).

As imagens foram obtidas utilizando um microscópio de força atômica modelo **Nanoman V** e o respectivo conjunto de ferramentas NanoScope, com softwares para scanner de imagem, litografia e, indentação, por curva de força. O procedimento consistiu em obter uma imagem em módulo tapping de uma região selecionada da superfície do CD e do polímero, fazer a nanolitografia e as nanoindentações em módulo contato e, então, obter uma nova imagem em módulo tapping das superfícies modificadas. As imagens topográficas foram obtidas utilizando velocidade de varredura de 1 Hz, área quadrada de 5 μ m para a nanolitografia e de 2,5 μ m para as nanoindentações, com 256 linhas de resolução. A nanolitografia foi realizada com profundidade de

100nm, velocidades de deslocamento sobre o plano XY a e de deslocamento vertical Z correspondentes, respectivamente, a 1µm/s e a 10nm/s e, limiar de conexão do ponto início-fim com campo de raio de 10nm. Foram feitas cinco identificações variando-se a profundidade aplicada na curva de força (de 400 a 800 nm). Para o cálculo da força de interação ponta-amostra aplicada em cada identificação foi utilizado a Lei de Hooke:

$$F = K \cdot h \quad (\text{equação 1})$$

Sendo F a força aplicada em N, h deslocamento vertical obtido com a força aplicada e K a constante de proporcionalidade ou constante de mola, em N/m. A constante de mola foi determinada por meio do “Thermal Tune” como sendo 150 N/m.

Resultados e discussão

Parte A: Nanolitografia

As Figuras 1 e 2 contêm os dados preliminares referentes a investigação da nanomanipulação de uma superfície de mídia de CD por meio da riscagem da mesma. Ao se analisar as Figuras 1 e 2, observa-se que o polígono não foi riscado de maneira satisfatória, pois as arestas não ficaram do mesmo tamanho e não houve o fechamento do mesmo de maneira adequada, o que sugere que os parâmetros utilizados precisam ser melhor definidos.

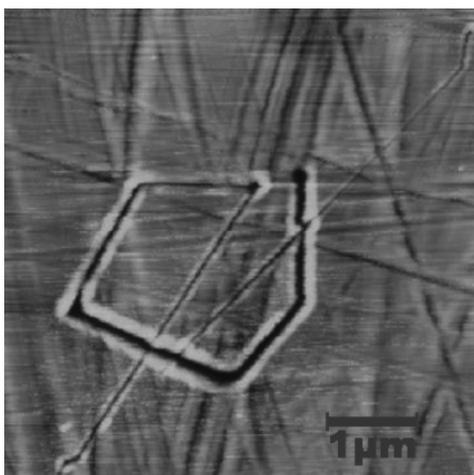


Figura 1 - Imagem topográfica 2D do polígono sobre superfície de policarbonato de um mídia de CD (Compact Disc), (5,0µm x 5,0µm).

Observa-se, também, que o processo de riscagem acarretou em acúmulo de material nas bordas, o

que pode ser melhor visualizado na Figura 2 (tridimensional). Esse material acumulado pode voltar para dentro da trincheira e, dessa forma, causar prejuízos quando se pretende aplicar, por exemplo, esse método na fabricação de sensores. Esse acúmulo de material está mais diretamente associado à profundidade e as velocidades de deslocamento sobre o plano XY e a de deslocamento vertical Z, as quais, dessa forma, precisam ser melhor investigadas.

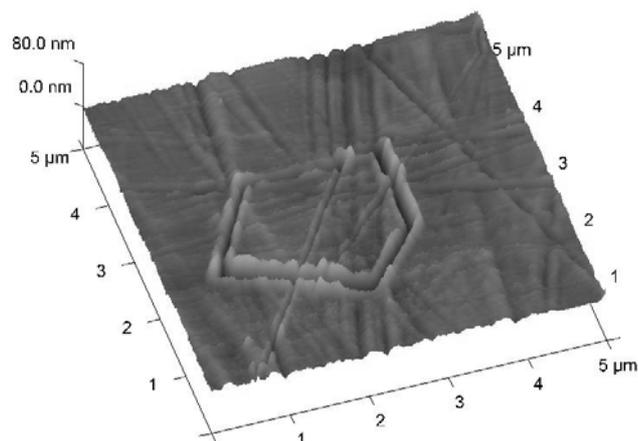


Figura 2 - Imagem 3D do polígono sobre a superfície de policarbonato de um mídia de CD (5.0µm x 5.0µm).

Parte B: Nanoindentação

A Figura 3 contém os dados preliminares referentes a investigação da manipulação da superfície do polímero PHMB por meio de nanoindentações.

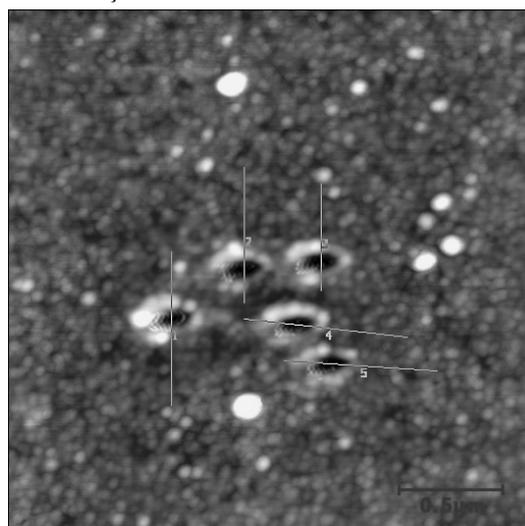


Figura 3 - Imagem topográfica 2D de nanoindentações sobre a superfície do polímero PHMB (2,5µm x 2,5µm)

Foram feitas 5 nanoindentações sobre a superfície do polímero PHMB, variando-se a profundidade de 400nm a 800nm. Por meio da equação de Hooke (equação 1) e da obtenção da constante de Spring por Thermal Tune, calculou-se a força aplicada em cada indentação (tabela I). A Figura 3 representa a imagem topográfica 2D das nanoindentações feitas sobre o substrato do polímero PHMB, sendo que os segmentos de 1 a 5 correspondem a região em que o perfil de profundidade foi traçado para cada nanoindentação. Foi utilizado, como exemplo, o perfil de profundidade da nanoindentação 1, representado na Figura 4.

Observa-se, por meio da Tabela I, que a profundidade de penetração da agulha correspondeu ao aumento da profundidade aplicada durante a nanoindentação. Pode-se observar, então, que pelo controle da força de interação ponta-amostra, consegue-se manipular a profundidade de penetração da ponta na amostra. Por meio das Figuras 3 e 4, pode-se observar que, como no caso da nanolitografia, houve, também, acúmulo de material nas bordas de indentação.

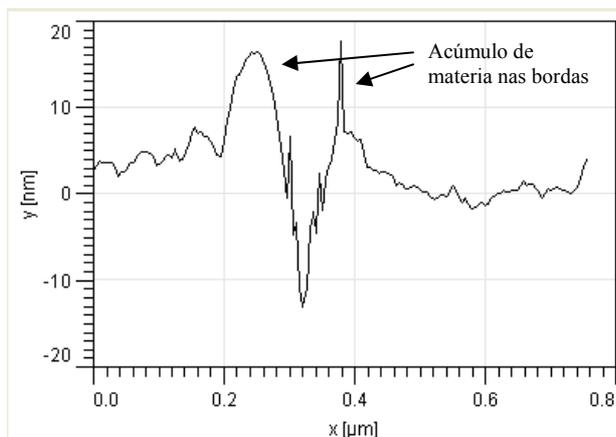


Figura 4 – Perfil obtido para a nanoindentação 1, correspondendo y a profundidade e x a área escaneada na amostra

Tabela I – Profundidade e força obtida em cada uma das nanoindentações apresentadas na figura 2

Nanoindentação	Profundidade (nm)	Força (μN)
1	12.57	1.90
2	13.61	2.04
3	14.69	2.20
4	15.65	2.35
5	16.69	2.50

Por meio da Figura 5 observa-se a relação de linearidade entre a profundidade e a força aplicada.

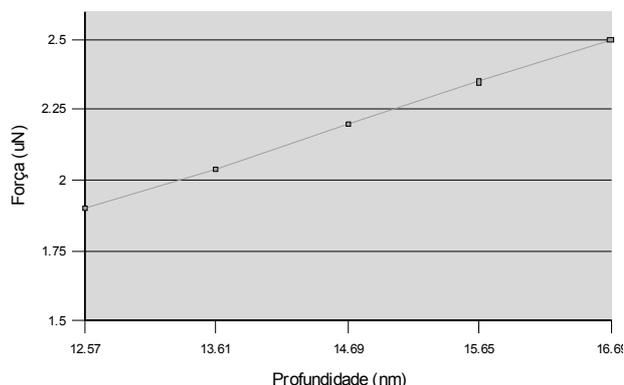


Figura 5 – Relação entre a profundidade de indentação e a força aplicada.

Conclusões

Utilizando a ferramenta de nanolitografia, por meio da técnica de MFA, foi possível riscar linhas com largura submicrométrica, de maneira adequada, sobre a superfície de uma mídia de CD. As nanoindentações realizadas sobre a superfície do polímero demonstraram a possibilidade de controlar fatores tais como a profundidade de penetração da ponta na amostra, por meio do controle da força de interação ponta-amostra. Esses resultados indicam a possibilidade de aplicação dessas ferramentas na miniaturização de dispositivos eletrônicos e avaliação na escala nanométrica de resistência superficial de uma amostra.

Referências

- 1 TEIXEIRA, F. S.; MANSANO, R. D.; SALVADORI, M. C.; CATTANI, M.; BROWN, I. G. **Review of Scientific Instruments**, [S. l.], v. 78, p. 053702, 2007.
- 2 BALOCCO, C.; JONES, A. G.; KINGSLEY, J. M.; CHAN, J. R.; HUANG, X. Q.; SONG, A. M. **Japanese Journal of Applied Physics**, [S. l.], v. 45, n. 3B, p. 2095-2098, 2006.



NANOMORFOLOGIA DE POLÍMEROS CONDUTORES: APLICAÇÃO EM SENSORES AMBIENTAIS

Leite, F. L.^{1,2}, Alves, W. F.^{2,3}, Oliveira, O. N.², Mattoso, L. H. C.¹, Herrmann, P. S. P.¹

¹ Embrapa Instrumentação Agropecuária, ² Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, ³ Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos.
herrmann@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

Resumo

O trabalho é dedicado ao estudo de processos de adsorção de filmes de polímeros condutores a partir de uma solução. Empregamos espalhamento de raios X de baixo ângulo (SAXS) para investigar poly(o-etoxinilina) (POEA) em soluções aquosas e microscopia de força atômica para estudar os filmes adsorvidos. Utilizando procedimento *ab initio*, envelopes de baixa resolução (DAM) foram gerados e observaram-se domínios esféricos e ordenação molecular. Uma consequência importante destes resultados é que a adsorção é governada por processos na escala mesoscópica, e não mais molecular.

Palavras-chave: AFM, polímeros condutores, SAXS, *ab initio*, POEA.

Introdução

Métodos de obtenção de filmes ultrafinos (*Langmuir-Blodgett* - LB) e automontagem (*self-assembly*) - SA) são hoje ponto de partida para viabilizar aplicação tecnológica de materiais orgânicos. A necessidade de construir arquiteturas moleculares com controle estrutural e de propriedades pode ser satisfeita pela técnica de automontagem¹, que permite fabricação de filmes ultrafinos a partir de diferentes tipos de materiais, de maneira rápida e barata. Este método é baseado em interações eletrostáticas, além de interações secundárias, como as ligações de hidrogênio².

A adsorção de polímeros na interface sólido-líquido é importante para vários processos tecnológicos, como estabilização coloidal, floculação, adesão, revestimentos e lubrificação³. Filmes finos também desempenham função

essencial nos dispositivos e circuitos integrados. São utilizados nas conexões das regiões ativas de um dispositivo, na comunicação entre dispositivos, para isolar camadas condutoras, para proteger as superfícies do ambiente externo e como materiais ativos e transdutores em sistemas químicos e biológicos, como sensores^{4,5}. Sensores químicos e biológicos, capazes de detectar, identificar e quantificar determinadas substâncias, podem permitir simular sistemas biológicos, como as línguas e os narizes eletrônicos encontrados na literatura^{6,7}. O interesse nesse campo de pesquisa, devido, principalmente, à facilidade de síntese e baixo custo, tem estendido o uso dos polímeros condutores em sensores^{8,9}.

Para fornecer alta qualidade e rendimento na fabricação de sensores e dispositivos, os filmes finos devem apresentar características rigorosamente controladas – a espessura, a composição química, a morfologia e rugosidade. Normalmente as propriedades de um material na forma de filme nanoestruturado diferem

substancialmente das propriedades do mesmo material na sua forma maciça devido à influência da superfície: a relação entre a superfície e o volume é muito maior no caso do filme. Por outro lado, as propriedades dos filmes são altamente dependentes dos processos de deposição. É importante, portanto, entender os processos de adsorção de macromoléculas, para otimizar sensores baseados em filmes organizados¹⁰, sendo que um salto qualitativo pode ser dado com a manipulação de nanoestruturas, *e.g.*, utilizando microscopia de força atômica com funcionalização de pontas¹¹.

Materiais e métodos

A fabricação de filmes automontados foi realizada da seguinte forma:

- i) Imersão do substrato na solução de um polycation (ES) ou polímero isolante (EB) por 3 minutos e, dependendo do estudo, em diferentes tempos de imersão;
- ii) Lavagem em abundância com água ultra-pura de mesmo pH das soluções poliméricas;
- iii) Secagem do filme e repetição dos processos (i) e (ii) de acordo com a espessura desejada.
- iv) Se desejar, fazer imersão do filme obtido em uma solução de poliânion para construção de um filme LbL (*Layer – by – Layer*).

A nanomorfologia dos polímeros condutores foi estudada por Espalhamento de Raios X a Baixo Ângulo (Small Angle X-Ray Scattering – SAXS)¹², que ocorre em materiais em que há flutuação de densidade eletrônica. Estas flutuações se devem à presença de poros, de cristalitos, de partículas dispersas em uma matriz, e à separação de fases. Podem se comportar como uma solução diluída, caso estejam suficientemente afastadas, ou apresentar correlação espacial¹³. Em geral, as curvas de SAXS são expressas pela variação da intensidade de espalhamento $I(q)$ em função do vetor de espalhamento q . Os dados de SAXS dos polímeros condutores foram coletados na linha de SAXS do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS, Campinas, Brasil) utilizando comprimento de onda $\lambda=1,488$ Å, detector unidimensional (1D) sensível à posição e distância amostra-detector de 733,1 mm.

Resultados e discussão

Para compreender a adsorção, analisamos algumas hipóteses sobre propriedades da solução e da interface. Resultados de AFM mostrados na Fig. 1 indicam que filmes fabricados com soluções de POEA-EB em Dimetilacetamida (DMAc) são menos rugosos que filmes em água. Resultados alcançados para quantidades intermediárias (v/v) de água e DMAc, *e.g.*, 10/90, 20/80, 50/50 e 80/20, respectivamente, indicaram que as proporções <70/30 fornecem superfícies com valores próximos de rugosidade àqueles alcançados para 100% de DMAc.

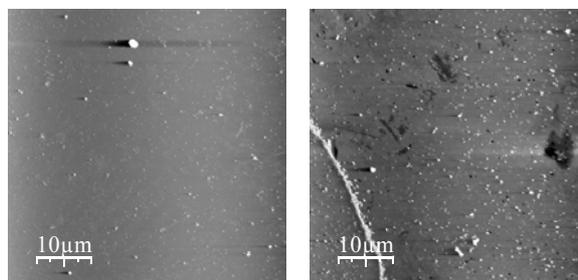


Figura 1. Imagens de AFM ($50 \times 50 \mu\text{m}^2$) para filmes finos de POEA, em mica muscovita, usando os seguintes solventes: (a) água ultra-pura (milli-Q) (RMS = 330 Å) e (b) DMAc (RMS = 140 Å).

As diferenças de morfologia dos filmes apontam para estados de agregação diferentes para os sistemas POEA-EB+água e POEA-EB+DMAc. A Fig. 2 mostra os envelopes de baixa resolução utilizando o procedimento *ab initio* descrito por Svergun¹⁴ e implementado no programa Gasbor¹⁵. Os resultados demonstram que a conformação das cadeias em água é mais empacotada (conformação tipo-oval) enquanto que as cadeias em DMAc apresentam conformação tipo-espiral. Isso comprova que o solvente influencia a adsorção porque muda a configuração do polímero e a estabilidade do mesmo em solução. O polímero expande em um bom solvente (DMAc) ($\chi > 1$), ocupando área superficial maior, enquanto em solvente ruim (água) ($\chi \sim 1$), o polímero se contrai. Assim, uma maior adsorção será observada para um solvente ruim (água) formando um filme mais

irregular, já que quando a interação solvente-polímero não é boa (diminuição da solubilidade do polímero) é maior a tendência das moléculas do polímero adsorverem na superfície¹⁶.

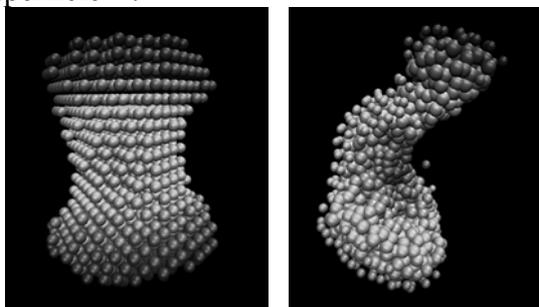


Figura 2. Modelo resíduo Dummy para as cadeias de POEA-EB em água (a) e em DMAc (b).

Na adsorção de polímeros em solução sobre superfície sólida há vários fatores a considerar: (i) quantidade de material adsorvido por unidade de massa ou área do sólido, (ii) concentração de soluto necessário para produzir uma determinada cobertura ou grau de adsorção, (iii) concentração de soluto para saturação da superfície, (iv) orientação das moléculas adsorvidas sobre a superfície e efeitos da adsorção nas propriedades do sólido.

A Fig. 3 mostra os envelopes de baixa resolução, indicando que a conformação das cadeias em valores de pH > 8,0 (EB) é mais empacotada (conformação tipo-oval) enquanto as cadeias para pH < 5,0 apresentam conformação espiral (mais estendida), já que as cargas que protonam as cadeias impedem seu empacotamento.

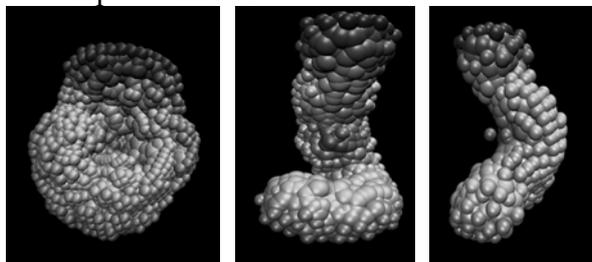


Figura 3. Modelo de átomos DAM (Dummy Atoms Model) para as cadeias de POEA em valores de pH igual à 10,0 (EB) (i), 5,0 (ii) e 3,0 (iii).

Conclusões

Análises de AFM mostraram que os filmes fabricados com soluções de POEA-EB em água (solvente) são mais rugosos que os filmes em DMAc (solvente), *i.e.*, apresentam mais irregularidades. Isto se deve à conformação das cadeias em solução: em água é mais empacotada (conformação tipo-oval) enquanto em DMAc apresentam conformação espiral. As análises de SAXS confirmaram a polidispersividade das polianilinas em diferentes pHs e forneceram a melhor condição para a fabricação de filmes finos: pH \geq 5. Os raios dos glóbulos medidos por AFM, nos instantes iniciais (1s a 3s), confirmam a hipótese de que, para tempos de imersão > 5s, a formação de pequenos agregados origina-se na superfície do substrato, já que para tempos < 3s, os tamanhos dos glóbulos são da mesma ordem que as entidades *dummy*. Tais resultados serão importantes no desenvolvimento de filmes finos e na aplicação em sensores específicos, já que a interface governa, de forma incontestável, boa parte dos fenômenos relacionados com sensores ambientais.

Referências

- 1 DECHER, G.; HONG, J. D. **Phys. Chem.**, [S. 1.], V. 95, p. 1430, 1991.
- 2 PONTES, R. S.; RAPOSO, M.; CAMILO, C. S.; DHANABALAN, A.; FERREIRA, M.; OLIVEIRA Jr, O. N. **Phys. Stat. Sol. A**, [S. 1.], v. 173, p. 41, 1996.
- 3 KAWAGUSHI, M.; TAKAHASHI, A. **Adv. Colloid Interface Sci.**, [S. 1.], v. 37, p. 220, 1991.
- 4 ULMAN, A. **An Introduction to Ultrathin Films: From Langmuir-Blodgett to Self Assembly**. 1ST ed. Boston: Academic Press, 1991. 440 p.
- 5 BORATO, C. E.; LEITE, F. L.; OLIVEIRA JR, O. N.; MATTOSO, L. H. C. **Sens. Lett.**, [S. 1.], v. 4, p. 1, 2006.
- 6 SOUZA, J. E. G.; B NETO, B.; SANTOS, F. L.; MELO, C. P.; SANTOS, M. S.; LUDERMIR, t. b., [S. 1.] **Synth. Met.**, [S. 1.], v. 102, p. 1296, 1999.
- 7 SHURMER, H. V.; CORCORAN, P.; GARDNER, J. W. **Sens. Actuator B**, [S. 1.], v. 4, p. 29, 1991.
- 8 BARKER; P. S.; MONKMAN, A. P.; PETTY, A. C.; PRIDE, R. **Synth. Met.**, [S. 1.], v. 85, p. 1365, 1997.
- 9 KEMP, N. T.; FLAGANAN, G. U.; KAISER, A. B.; TRODAHL, H. J.; CHAPMAN, B.;

PARTRIDGE, A. C.; BUCKLEY, R. G. **Synth. Met.**, [S. l.], v. 101, p. 434, 1999.
10 RIUL JR, A.; GALHARDO SOTO, A. M.; MELLO, S. V.; BONE, S.; TAYLOR, D. M.; MATTOSO, L. H. C. **Synth. Met.**, [S. l.], v. 132, p. 109, 2003.
11 DUWEZ, A. S.; NYSTEN, B. **Langmuir**, v. 17, p. 8287, 2001.
12 GLATER, O.; KRATTY, O. **Small angle X-ray scattering**. London: Academic Press, 1982.

13 DEBYE, P. J. **Phys. Chem.**, [S. l.], v. 234, 1957.
14 SEMENYUK, A. V.; SVERGUN, D. I. **J. Appl. Cryst.** [S. l.], v. 24, p. 537, 1991.
15 SVERGUN, D. I.; PETOUKHOV, M; V.; KOCH, M. H. J. **Biophys. J.**, [S. l.], v. 80, p. 2946, 2001.
16 JONSON, L.; HOMBERG, K. **Surfactants and Polymer in Aqueous Solution**. [S. l.]: Wiley, 1998.



DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA ELETRÔNICO PARA LEITURA DE SENSORES DESCARTÁVEIS, APLICADO A DETECÇÃO DE VOLÁTEIS, REVESTIDO COM FILMES ULTRAFINOS DE POLI-ANILINAS CONDUTORAS.

Helio José Antunes Franco^{1,2}, Alexandre H. S. Garcia^{1,2}, Paulo Sérgio de Paula Herrmann^{1*}

1 – Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2 – Universidade de São Paulo

*herrmann@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

Resumo

O desenvolvimento de um sistema eletrônico, para a leitura e aquisição de dados de cinco diferentes sensores descartáveis a base de grafite, construídos por intermédio da técnica de formação de trilhas sobre papel vegetal, para verificar o efeito a resposta de vapores orgânicos, que são emanados por uma fruta (banana (*Musa spp*)), utilizando como camada ativa a polianilina e um oligômero tetranilina terminação fenil-NH₂ no estado de oxidação esmeraldina foi realizado. Os resultados mostraram que todos os sensores respondem diferentemente.

Palavras-chave: Sistema Eletrônico, Sensores Descartáveis, Polímeros e Oligômeros Condutores, Filmes Ultrafinos.

Introdução

Nos últimos anos o interesse para o desenvolvimento de novos sensores para indústria, agricultura, meio ambiente e medicina tem aumentado vertiginosamente¹⁻⁴. O tamanho do mercado de produtos manufaturados, nos Estados Unidos, combinado com o mercado para sensores esta sendo esperado estar acima de US\$ 6 bilhões de dólares pelo ano de 2010. Especial interesse tem sido dirigido em sensores para compostos orgânicos voláteis (VOC), especialmente para compostos que não possua reação química com polímeros condutores, tais como compostos aromáticos e alifáticos, álcoois, éteres, ésteres e halocarbonos¹. A evolução dos sistemas de narizes eletrônicos artificiais (sensores químicos e biosensores) está tendo um forte impacto no processo de monitoramento de alimentos, produtos químicos e detecção de fogo. Esses sistemas podem reconhecer diferentes compostos químicos,

mesmo em uma complexa mistura de vapores usando um rápido teste². Por exemplo, este pode ser utilizado para monitoramento do processo de amadurecimento de frutas⁵⁻⁷. Durante esse processo a fruta pode produzir diferentes compostos químicos voláteis (CQVs). Narizes eletrônicos comerciais podem ser encontrados e uma atenção especial tem sido demonstrada no desenvolvimento de narizes eletrônicos baseados em polímeros condutores^{2,5}. Entretanto, muito desses conjuntos de sensores e/ou narizes eletrônicos são desenvolvidos utilizando tecnologias sofisticadas e caras, como por exemplo, equipamentos sofisticados totalmente dedicados e programas de computador também projetados para esse fim²⁻⁴. Desta forma métodos que reduzam o custo de produção e apresentem um processo simples e barato para o desenvolvimento de sensores será capaz de criar novas oportunidades em termos de produção e aplicação. Portanto se visualiza na técnica de “line patterning” desenvolvida por MacDiarmid et al.⁹

um forte potencial no desenvolvimento de sensores com alta sensibilidade, reprodutibilidade e baixo custo.

Materiais e métodos

Todo o esquema eletrônico proposto, e que fora desenvolvido, utilizou tecnologia CMOS, e pode ser visto no diagrama de blocos da figura 1.

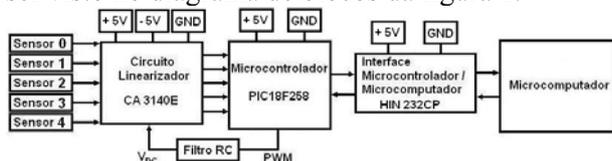


Figura 1: Diagrama de Blocos

Para obtenção dos sensores de baixo custo utilizou-se a técnica de formação de trilhas com grafite (TFTG) em papel vegetal. Para construção dos sensores foram necessários os seguintes materiais: solução de grafite, papéis vegetais e reagentes para realização da síntese do filme ultrafino do polímero da polianilina no estado de oxidação esmeraldina, dopado com Ácido Clorídrico (HCl) “*in-situ*”, ácido camforsulfônico (HCSA) e Ácido Dodecilbenzenosulfônico (HDBSA) pela troca de ânion segundo metodologia proposta por Gregory e colaboradores⁸. Um oligômero da polianilina também foi utilizado neste experimento, no caso obteve-se o sal da tetranilina com terminação fenil-NH₂ no estado de oxidação esmeraldina, através da síntese por acoplamento oxidativo¹, dopado com HDBSA. O monitoramento da umidade relativa (%), com resolução de 1,0% e para a temperatura interna (°C), com 0,1 °C, no interior da câmara onde foi realizada as medidas.

Resultados

Síntese do oligômero tetranilina com terminação fenil NH₂.

A massa obtida do oligômero tetranilina com terminação fenil NH₂, após todo o procedimento de síntese foi de 0,7015 g. Temperatura: 24,3 °C; Umidade Relativa: 60%. Para avaliação da síntese, com ressonância magnética nuclear (RMN) o solvente utilizado foi: Dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆ deuterado) Os espectros de RMN foram obtidos através da técnica de deslocamento químico.

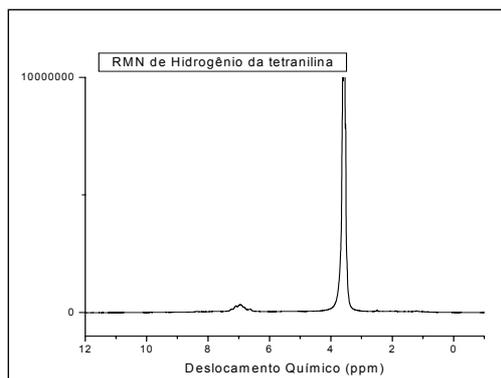
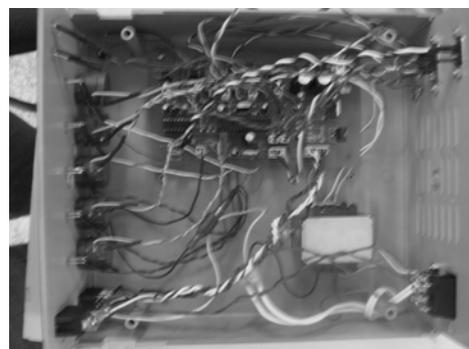


Figura 2 – Espectro de RMN da tetranilina terminação fenil-NH₂ no estado de oxidação esmeraldina.

O pico localizado na região de 7,0 ppm é característico de hidrogênios presentes em grupos aromáticos. O pico intenso na região de 3,5 ppm é típico de hidrogênios de aminas aromáticas ligados a heteroátomos, que para nosso composto trata-se do nitrogênio e que tem alto potencial de realizar ligações de hidrogênio.

Monitoramento da amostra de banana

A eletrônica desenvolvida para leitura de cinco diferentes sensores pode ser visualizada na figura 3(a) e detalhe da câmara para colocação dos sensores na figura 3(b).



(a)

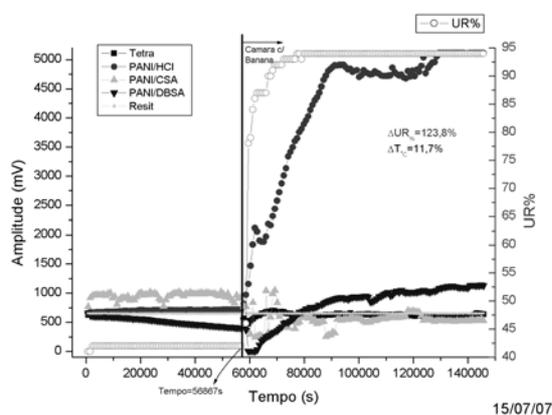


(b)

Figura 3 – (a) Detalhe do sistema eletrônico desenvolvido para leitura de cinco sensores descartáveis. (b) Foto da câmara onde se pode observar a disposição dos sensores de baixo custo para avaliação do amadurecimento da banana.

Os resultados obtidos com o sistema desenvolvido estão apresentados nas figuras 3(a) e (b). A figura 3(a) apresenta a resposta dos quatro sensores quando exposto a dois ambientes distintos, para o período do experimento com e sem banana nanica (*musa sp*), durante 41 horas e 29 minutos, com aquisição de dados ininterruptas a cada 10 minutos, os quais as etapas foram assim definidas: 1) Na câmara sem a fruta, durante 16 horas e 19 minutos e 2) Submetido a emissão dos voláteis da fruta, pelo período de 25 horas e 10 minutos. A U.R. (%) variou 123,8%, permanecendo constante, em torno de 42% sem banana e chegando a 95% com a fruta e a temperatura oscilou em 11,7% quando as medidas foram feitas com a banana.

Observa-se pela figura 4 que cada sensor respondeu de forma diferenciada, quando submetido à medida com a fruta, durante o seu amadurecimento. Esta resposta elétrica mostra que a estrutura química dos polímeros e oligômero condutor com diferentes dopantes, utilizadas com camada ativa do sensor, possui afinidades distintas com os elementos voláteis emanado pela fruta, durante o tempo de medidas. A comparação da resposta elétrica dos sensores foi realizada, verificando o monitoramento constante da medida de um resistor (47,0K Ω \pm 5,0%), que estava colocado na câmara, em um dos



canais do sistema eletrônico.

Figura 4 – Resposta dos quatro diferentes sensores (Tetranilina (■); Pani/HCl (●), Pani/CSA (▲) e Pani/DBSA (▼)), ao processo de amadurecimento da fruta. O quinto sensor utilizado para monitorar todo o processo, foi um resistor no valor de 47K Ω \pm 5,0% (♦). A umidade relativa (%) foi monitorada no mesmo tempo (○).

A instrumentação eletrônica utilizada possibilitou monitorar todo processo continuamente, bem como estabelecer que todos os sensores, com diferentes valores de resistência elétrica [Ω], tenham uma mesma linha de base (LB). O valor em tensão, utilizado para LB foi de (650 mV).

Conclusões

A eletrônica desenvolvida permitiu acoplar cinco sensores desenvolvidos pela técnica de formação de trilhas com grafite sobre papel vegetal, e usando filmes ultrafinos de polianilina e tetranilina condutoras como camada ativa de sensores químicos de baixo custo e descartáveis. A resposta elétrica dos sensores aos voláteis orgânicos emitidos pela banana, durante seu amadurecimento, mostrou que têm grande potencial para esse tipo de aplicação.

Referências

- FENG, J.; MACDIARMID, A. G. Sensors Using Octaaniline for Volatile Organic Compounds. **Synthetic Metals**, v. 102, p.1304-1305, 1999.
- SNOPOK, B. A.; KRUGLENKO, I. V. Multisensor Systems for Chemical Analysis: State-of-the-Art in Electronic Nose Technology and New Trends in Machine Olfaction. **Thin Solid Films**, v.418, p.21-41, 2002.
- WEETBALL, H. H. Chemical Sensors and Biosensors, Update, What, Where, When and How. (Editorial Contribution). **Biosensors & Bioelectronics**, v.14, p.237-242, 1999.
- PILETSKY, S. A.; TURNER, A. P. F. Electrochemical Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers. **Electroanalysis**, v. 14, n. 5, p. 317-323, 2002.
- BAKKER, E.; TELTING-DIAZ, M. Electrochemical Sensors. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 12, p. 2781-2800, 2002.
- MELO, C. P.; NETO, B.; LIMA, E. G.; LIRA, L. F.; SOUZA, J. E. G. Use of conducting polypyrrole blends as gas sensors. **Sensors and Actuators B – Chemical**, [S. l.], v. 109, p. 348- 354, 2005.
- LLOBET, E.; HINES, E. L.; GARDNER, J. W.; FRANCO, S. Non-destructive banana ripeness determination using a neural network-based electronic nose. **Meas. Sci. Technol.**, [S. l.], v. 10, p. 538-548, 1999.
- GREGORY, R. V.; KIMBRELL, W. C.; KUHN, h. H. Conductive Textiles. **Synthetic Metals**, [S. l.], v. 28, p.C823-C835, 1989.
- HOHNHOLZ, D.; OKUZAKI, H.; MACDIARMID, A. G. Plastic Electronic Devices Through Line Patterning of Conducting Polymers. **Advanced Functional Materials**, [S. l.], v. 15, n. 1, p.51-56, 2005.



SENSORES POLIMÉRICOS NANOESTRUTURADOS PARA DISCRIMINAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE SUCOS DE FRUTAS

Leonardo G. Paterno¹, Alessandra Corrêa², Fábio R. Simões², Sérgio T.R. Ozaki², Fernando J. Fonseca¹, Luiz Henrique C. Mattoso²

Depto. Engenharia de Sistemas Eletrônicos –EPUSP, 05508-900, São Paulo-SP
Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos-SP

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

Resumo

Uma língua eletrônica (LE) formada por sensores poliméricos nanoestruturados é desenvolvida e utilizada para discriminação e classificação de sucos de abacaxi pela marca do fabricante. A LE foi capaz de classificar os sucos de acordo com a marca, com um índice de acerto acima dos 80%. Os resultados abrem perspectivas para utilização da LE na certificação da qualidade de sucos de frutas.

Palavras-chave: filmes poliméricos nanoestruturados, polímeros condutores, sensor químico, língua eletrônica, análise multivariada de dados

Introdução

Existe um consenso de que a maneira mais confiável de se avaliar o paladar de gêneros alimentícios é através da utilização de painéis de provadores humanos. Entretanto, esta prática apresenta algumas desvantagens, incluindo-se as dificuldades para uma seleção efetiva dos provadores, alto custo e longo tempo de análise. Problemas similares são encontrados durante a utilização de técnicas analíticas, como a cromatografia, que também demanda pessoal especializado para sua execução. Como alternativa, o uso de arranjos de sensores químicos, também conhecidos como “língua eletrônica” (LE), tem recebido grande atenção na última década¹⁻³. Diferentes investigações têm demonstrado que existe uma boa correlação entre a resposta da LE e a de painéis de provadores para diferentes gêneros alimentícios^{3,4}. A LE ainda oferece algumas vantagens sobre as técnicas analíticas, incluindo seu baixo custo, resposta rápida, confiável e facilidade de operação. Além

disso, os sistemas sensores podem ser introduzidos na linha de produção, permitindo o monitoramento constante da qualidade dos alimentos produzidos.

Neste trabalho é investigada a utilização de uma LE baseada em sensores poliméricos nanoestruturados na discriminação e classificação de sucos de frutas de diferentes marcas de fabricante. Técnicas de análise multivariada, como análise das componentes principais (ACP) e redes neurais artificiais (RNA) são implementadas para o reconhecimento das amostras de sucos.

Materiais e métodos

O sistema LE é formado por 4 unidades básicas, conforme ilustrado na Figura 1: os sensores químicos, o sistema multiplexador, o medidor de capacitância e o computador. Os sensores, mostrados em detalhe na Figura 2a, são conectados a um suporte, formando a LE propriamente dita, Figura 2b. O sistema multiplexador permite que as capacitâncias dos sensores sejam medidas simultaneamente. A

aquisição de dados é feita pelo computador. Neste trabalho, a LE utilizada foi composta por 10 sensores poliméricos feitos a partir de diferentes polímeros condutores e outros materiais, listados na Tabela 1.

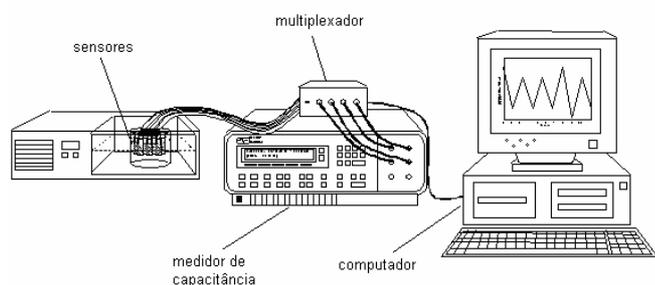


Figura 1. Ilustração esquemática do sistema sensor LE.



Figura 2. a) sensor (microeletrodo interdigitado); b) suporte com sensores.

Tabela 1. Sensores e respectivas especificações (tipo de filme e resistência elétrica).

sensor	método de deposição	resistência (Ω)
PANI/Ni-TS-Pc	automontagem	$1,0 \times 10^3$
PANI/LS	automontagem	$2,4 \times 10^3$
POEA/PSS	automontagem	$2,2 \times 10^3$
POMA/PEDOT	automontagem	$2,1 \times 10^3$
POMA/PPy	automontagem	$4,0 \times 10^3$
PPy	eletroquímico	$5,0 \times 10^3$
PMTh	eletroquímico	$4,6 \times 10^6$
NT/POEA/PSS	casting/automontagem	$1,5 \times 10^3$

A capacitância elétrica dos sensores imersos nos sucos de interesse foi medida com um medidor de capacitância/analizador de impedância Solartron 1260, numa faixa de frequência de 1mHz a 1MHz e tensão AC de 50 mV. Sucos de abacaxi do tipo “pronto para beber” de 3 marcas diferentes foram analisados. Para cada marca foram avaliadas 5 amostras de um mesmo lote, em dias diferentes. As amostras foram avaliadas numa seqüência aleatória de marcas. Todos os experimentos foram conduzidos em temperatura controlada (25°C). Os resultados obtidos foram tratados com os métodos

de análise multivariada: análise das componentes principais (APC) e redes neurais artificiais (RNA).

Resultados e discussão

Na Figura 3 são apresentadas as impressões digitais em capacitância, C (F), de sucos de abacaxi de três marcas diferentes, obtidas com a LE operando em 1 kHz. Nota-se que para cada marca, o arranjo de sensores gera uma impressão digital única, o que permite qualitativamente a discriminação entre os sucos pela marca do fabricante usando-se a LE. Em comparação à análise de sucos de maracujá, no caso dos sucos de abacaxi existe uma maior variabilidade nas intensidades médias do sinal de cada sensor. Isso origina impressões digitais mais distintas e, por conseguinte, aumenta a capacidade de discriminação de amostras pela LE.

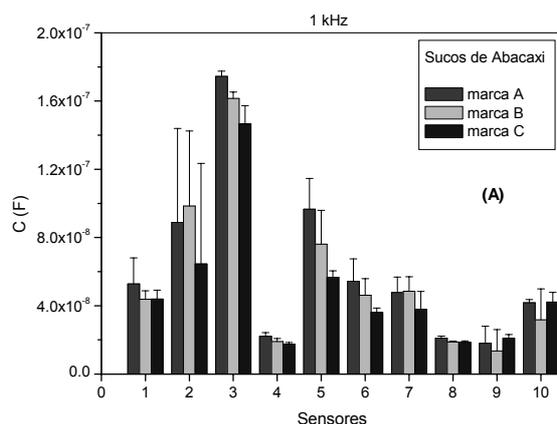


Figura 3. Impressão digital em capacitância, C (F), de sucos de abacaxi de diferentes marcas, obtidas com a LE. Freqüência: 1 kHz.

Na Figura 4 são apresentados os resultados de APC obtidos a partir da análise das impressões digitais de sucos de abacaxi gerados pela LE. Cerca de 60% da variância são descritos pelas componentes PC 1 e PC 2, fato que nos permite a análise da resposta da LE utilizando o gráfico apenas com essas duas componentes. Observa-se a presença de três classes de amostras, localizadas em regiões distintas do gráfico de PCA e que se diferenciam pela marca do suco avaliado. Os limites ocupados por cada classe são bem definidos, com uma pequena intersecção entre as classes B e C. Desse modo, podemos

concluir que a LE foi capaz de discriminar os sucos de abacaxi pela marca do fabricante. Considerando ainda que as amostras foram avaliadas em dias diferentes, podemos inferir que a capacidade de discriminação desses sucos pela LE é sistemática e reprodutível, independentemente do dia em que foi utilizada.

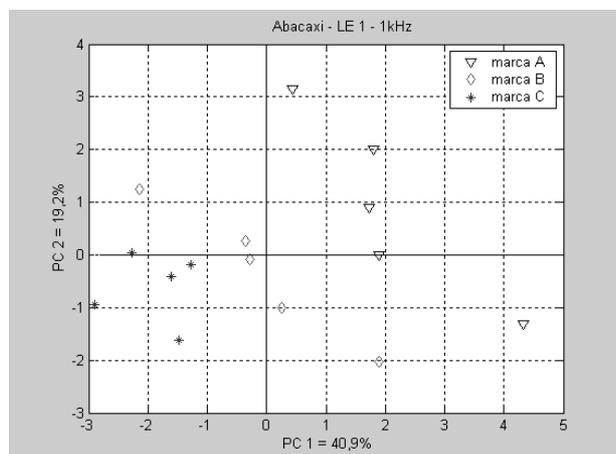


Figura 5. Gráfico de APC para amostras de sucos de abacaxi de diferentes marcas analisadas em diferentes dias com a LE. Frequência: 1 kHz.

A classificação de sucos foi realizada com a utilização de redes neurais do tipo *Multilayer Perceptron* (MLP) modulares propostas por R. Anand e colaboradores em 1995⁶. O propósito das redes neurais é realizar a classificação das amostras, o que significa que, através das características de cada suco adquiridas pela LE, se buscará determinar a que classe uma amostra de suco pertence. Uma rede neural modular contém n redes independentes entre si, com n igual ao número de classes. Cada uma das redes é responsável pela identificação de uma classe e terão as saídas ativadas se o exemplo a que forem submetidas pertencer à sua respectiva classe. A grande vantagem de se utilizar uma técnica de classificação é que se consegue avaliar quantitativamente o desempenho dos sensores através da porcentagem de acertos de classificação. Para cada matriz de dados da LE, as capacitâncias das colunas, relativas a cada sensor, foram redimensionados para terem valores entre 0,2 e 0,8. Para cada treinamento foi utilizada uma taxa de treinamento unitária, número máximo de iterações igual a 10.000 e foram avaliadas redes com número de nós intermediários variando entre 5 e 30 neurônios. Como o número de dados é reduzido, o conjunto de validação também foi

utilizado para avaliar o desempenho do sistema de classificação.

O resultado da classificação pode ser visto na Tabela 2. No geral, houve 82% de acertos, 4,83% de erros e 12,67% de não classificados. Separadamente, o índice de acerto foi de 85,00%, 75,00% e 87,50% para as marcas A, B e C, respectivamente.

Tabela 2. Resultado da rede neural para sucos de abacaxi treinamento e validação entre amostras de dias distintos. (NC – Não classificado).

Conjunto de treinamento: 3 dias (LE-2 e LE-3)				
A(%)	B(%)	C(%)	NC(%)	<=Classificação como
33.33	0.00	0.00	0.00	Marca A
0.00	33.33	0.00	0.00	Marca B
0.00	0.00	32.22	1.11	Marca C

Conjunto de validação: 2 dias (LE-2 e LE-3)				
A(%)	B(%)	C(%)	NC(%)	<=Classificação como
28.33	0.00	0.00	4.00	Marca A
0.00	25.00	1.67	5.33	Marca B
0.00	0.00	29.17	3.33	Marca C

Conclusões

Os resultados apresentados demonstram que a LE baseada em sensores poliméricos nanoestruturados pode ser usada para discriminação e classificação de sucos de frutas pela marca do fabricante. A LE desenvolvida foi capaz de classificar os sucos de acordo com a marca, com um índice de acerto acima dos 80%. Como próxima etapa pretende-se avaliar possíveis correlações entre a resposta da LE com a análise sensorial realizada por degustadores humanos para diferentes tipos de sucos.

Referências

- VLASOV, Y.; LEGIN, A.; RUDNITSKAYA, a. **Anal. Bioanal. Chem.**, [S. l.], v. 373, p. 136, 2002.
- VLASOV, Y.; LEGIN, A.; RUDNITSKAYA, A.; DI NATALE, C.; D'AMICO, a. **Pur. Appl. Chem.**, [S. l.], v. 77, n. 11, p. 1965, 2005.

3 DEISINGH, A. K.; STONE, D. C.;
THOMPSON, m. **Int. J. Food Sci. Tech.**, [S. l.],
v. 39, p. 587, 2004.
4 DYMINSKI, D. S.; PATERNO, L. G.;
TAKEDA, H. H.; BOLINI, H. M. A.;

MATTOSO, L. H. C.; CÂNDIDO, L. M. B.
Sensor Letters, [S. l.], v. 4, p. 1, 2006.
5 ANAND, R.; MEHROTRA, K.; MOHAN, C.
K.; RANKA, s. **IEEE Transactions on Neural
Networks**, [S. l.], v. 6, n. 1, Janeiro, 1995.



AVALIAÇÃO QUÍMICA, SENSORIAL TRADICIONAL E INSTRUMENTAL (LÍNGUA E NARIZ ELETRÔNICOS) DOS SABORES E DOS GOSTOS CARACTERÍSTICOS DA SOJA

Josemeyre Bonifácio da Silva¹; Sandra Helena Prudêncio¹; Mercedes C. Carrão-Panizzi^{2*}

¹Universidade Estadual de Londrina; ²Embrapa Soja, Londrina, PR.
* mercedes@cnpso.embrapa.br

Projeto Componente: PC2 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.02.03

Resumo

Sabores e gostos característicos de grãos de soja provenientes de cultivares convencionais e com características próprias para alimentação humana foram analisados por meio da análise descritiva sensorial, para estudos de correlação com análise instrumental (língua e nariz eletrônicos) e determinação de compostos relacionados com sabor da soja, tais como constituintes voláteis (n-hexanal, ácidos graxos), compostos não voláteis (saponinas, isoflavonas), aminoácidos e carboidratos.

Palavras-chave: hexanal, isoflavonas, saponinas, carboidratos, aminoácidos, ácidos graxos, soja, sabor, gosto, análise sensorial, sensores eletrônicos

Introdução

Compostos voláteis como n-hexanal são responsáveis pelos sabores característicos da soja e de seus produtos, e são descritos como feijão verde e ranço ¹. Estes voláteis formam-se pela auto-oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados ou por ação das enzimas lipoxigenases durante o armazenamento e/ou processamento dos grãos. Os genes que controlam a ausência e presença das enzimas são recessivos ², o que facilita a obtenção de cultivares de soja desprovidas das lipoxigenases ³. Essas cultivares podem contribuir para reduzir a intensidade dos sabores indesejáveis nos produtos de soja ⁴. As saponinas e as isoflavonas compreendem os constituintes não voláteis associados ao gosto amargo e sensação de adstringência, percebidos em diversos produtos de soja ⁵. O uso de inibidores no controle da atividade das enzimas β -glicosidases pode diminuir a intensidade do gosto amargo e da adstringência causados pelas isoflavonas ⁶. A soja tipo hortaliça ou “edamame” apresenta sabor mais suave e adocicado do que as cultivares convencionais ⁷ e, assim, pode colaborar também, para aumentar o

consumo da leguminosa nos países ocidentais. Segundo MASUDA ⁷ os principais compostos relacionados ao sabor único do “edamame”, descrito como suave e neutro, se devem as quantidades significativas de sacarose, ácido glutâmico e alanina. A aceitabilidade do alimento pelo consumidor depende de características sensoriais relacionadas à cor, ao aroma, ao gosto e a textura do produto. Estas qualidades sensoriais podem ser medidas e avaliadas por meio da análise sensorial ⁸. Porém, estes métodos sensoriais tradicionais são caros, demandam tempo e dependem sempre da disponibilidade dos provadores. A utilização dos sensores artificiais para avaliar os constituintes dos gostos e odores dos alimentos é considerada uma importante ferramenta para melhorar o controle de qualidade das indústrias de bebidas e de gêneros alimentícios ⁹. Estes instrumentos eletrônicos possuem a capacidade de imitar o sentido do gosto e do olfato humano. A combinação dos sensores língua e nariz eletrônicos pode ser usada para identificar e classificar a composição de uma variedade de produtos reduzindo assim, o tempo e

o custo das análises ¹⁰. O trabalho tem por objetivo avaliar o sabor de grãos de soja de cultivares convencionais e com características especiais para o consumo humano, por meio da análise sensorial descritiva e instrumental utilizando os sensores eletrônicos (língua e nariz eletrônicos), correlacionando os resultados dessas análises com as respostas químicas que determinaram os constituintes associados aos sabores e gostos característicos de grãos.

Materiais e métodos

As cultivares selecionadas para o estudo foram: BRS 213, que apresenta ausência das enzimas lipoxigenases; BRS 216, cultivar com característica especial destinada à produção de “natto”; BRS 267, cultivar com sabor mais suave e adocicado própria para consumo humano e também para utilização como hortaliça; e BRS 258 e BRS 133 cultivares de soja convencionais. Para as análises químicas e sensoriais os grãos de soja das cultivares BRS 213, BRS 216, BRS 267, BRS 133 e BRS 258 foram macerados por 16 horas a temperatura ambiente com o intuito de ativar as enzimas lipoxigenases logo após, os grãos foram cozidos em autoclave durante 5 minutos a 121°C. As análises da composição química dos grãos (umidade, proteínas, lipídios, cinzas e carboidratos) foram realizadas conforme metodologia descrita pelas Normas Analíticas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ ¹¹. O constituinte volátil n-hexanal foi determinado em cromatógrafo a gás da marca Hewlett Packard, modelo 6890 e equipado com coluna capilar de sílica, utilizando-se técnica de cromatografia gasosa por “headspace”, conforme metodologia descrita por MIN e colaboradores ¹². O teor das isoflavonas determinado em cromatógrafo líquido da marca Waters, modelo 2690, com injetor automático de amostras utilizando uma coluna de fase reversa do tipo ODS C18 (YMC-Pack ODS-AM), com partículas de 5µm de diâmetro e dimensão de 250mm de comprimento e 4,6mm de diâmetro interno, de acordo com a metodologia preconizada por BERHOW ¹³. A extração das isoflavonas foi realizada segundo metodologia preconizada por CARRÃO-PANIZZI e colaboradores ¹⁴. A análise descritiva sensorial dos grãos de soja cozidos foi conduzida de acordo com os procedimentos propostos por STONE & SIDEL ⁸, e realizada na Embrapa - Soja, Londrina - PR. Os provadores sensoriais foram recrutados dentre os funcionários da Embrapa Soja e selecionados em função de seu desempenho em

testes de reconhecimento de gostos básicos utilizando soluções de sacarose a 0,4 e 0,8 % (doce), ácido tânico a 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8 % (adstringência), cloreto de sódio a 0,08 e 0,15 % (salgado), cafeína a 0,02 e 0,03 % (amargo) e glutamato monossódico a 0,1 e 0,008 % (umami) e testes de reconhecimento de odores, onde foi solicitado a cada voluntário descrever a qualidade do odor de uma série de 15 substâncias aromáticas diferentes. Para o desenvolvimento da terminologia descritiva dos grãos de soja cozidos foi utilizado o Método Rede ¹⁵. Foi sugerido aos provadores que descrevessem as semelhanças e as diferenças entre as amostras com relação ao sabor, aroma, aparência e textura. Após cada provador ter avaliado as amostras, uma discussão em grupo foi conduzida com o objetivo de agrupar os atributos semelhantes e sugerir amostras de referência para serem utilizadas no treinamento. Antes da avaliação individual de cada amostra, foram realizadas várias sessões de treinamento (8 sessões de 45 minutos cada) dos provadores utilizando os materiais de referência e a ficha de avaliação desenvolvida por consenso do grupo.

Resultados e discussão

Os resultados da análise sensorial descritiva permitiram a elaboração de uma lista de atributos sensoriais que descrevem a aparência dos grãos de soja cozidos, o que inclui os termos: tamanho do grão, formato do grão, cor do grão e cor do hilo; para o aroma: feijão cozido, ranço, e adocicado; para o sabor: feijão cozido, ranço, doce, amargo, adstringente, e umami; e para a textura: dureza e maciez. A quantificação sensorial das amostras dos grãos de soja cozidos está sendo analisada para representação em gráficos de Análise de Componentes Principais (ACP).

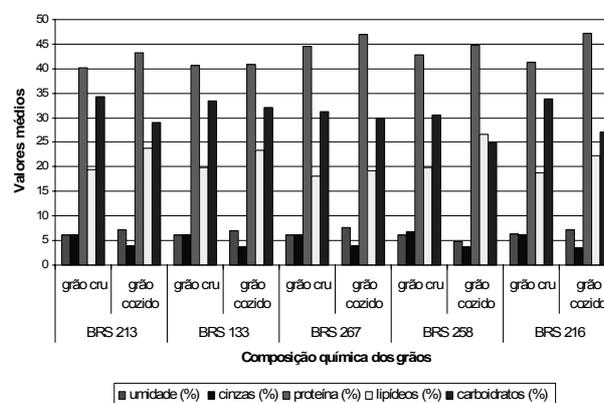


Figura 1. Valores médios da composição química dos grãos de soja crus e cozidos.

Em relação à composição centesimal das cultivares analisadas, observa-se que após cozimento dos grãos houve um aumento no teor de proteínas, enquanto que o teor de lipídios diminuiu (Fig.1) devido a perda de carboidratos durante a cocção dos grãos concentrando portanto, os demais constituintes.. As cultivares BRS 267 e BRS 216 apresentaram maiores teores de proteínas.

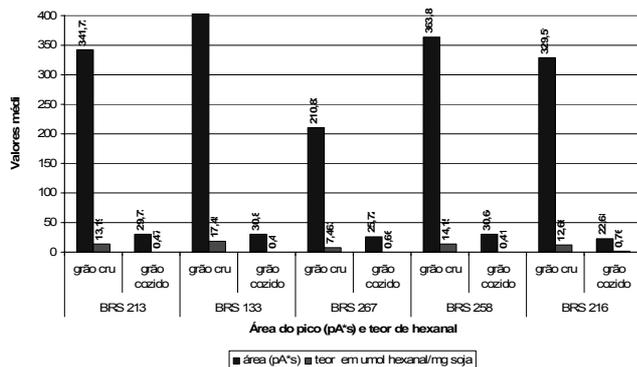


Figura 2. Valores médios da área do pico (pA*s) e do teor de n-hexanal correspondente nos grãos de soja crus e cozidos das cultivares analisadas.

O tratamento térmico eliminou o n-hexanal na soja (Fig. 2). A cultivar convencional BRS 133 apresentou maior teor de n-hexanal nos grãos crus, enquanto que a cultivar BRS 267 apresentou o menor teor (7,46 µmol de hexanal / mg de soja). As cultivares especiais para alimentação humana apresentaram teores reduzidos de n-hexanal.

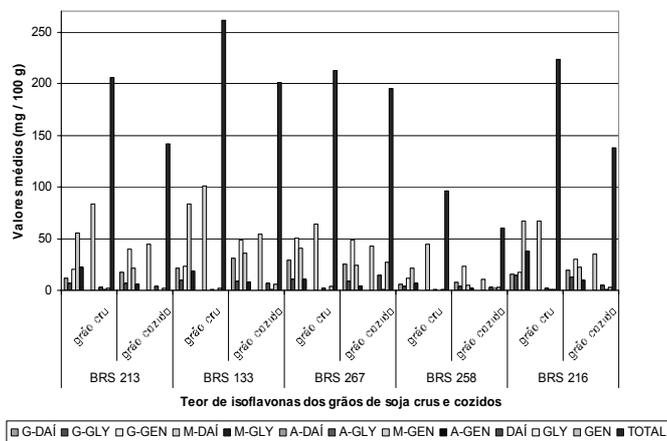


Figura 3. Valores médios do teor de isoflavonas dos grãos de soja crus e cozidos das cultivares analisadas.

As isoflavonas que se relacionam com a adstringência observada no sabor da soja apresentaram maiores teores nos grãos crus (195 a 260 mg / 100 g). Nos grãos cozidos, a quantidade de isoflavonas totais variou de 60 a 200 mg / 100 g. A cultivar BRS 133 apresentou maior teor desses compostos, enquanto que a cultivar BRS 258 apresentou menor teor (Fig. 3).

Considerações

Outras atividades estão previstas para condução na Embrapa Soja, em 2008, que incluem: quantificação do teor dos ácidos graxos palmítico, oléico, linoléico e linolênico nos grãos de soja crus e cozidos pela técnica de Cromatografia Gasosa (CG); determinação do conteúdo das saponinas nos grãos de soja crus e cozidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE); determinação do perfil de aminoácidos e de carboidratos nos grãos de soja crus e cozidos por Cromatografia de Troca Iônica (Dionex BioLC[®]).

No CNPDIA, serão conduzidas, também em 2008, as análises para avaliação dos gostos básicos presentes nos grãos de soja por meio da “língua eletrônica” e a avaliação dos odores presentes nos grãos por meio do nariz eletrônico.

Finalmente serão realizadas as correlações das respostas sensoriais tradicionais, instrumentais (língua e nariz eletrônicos) e químicas dos grãos de soja cozidos.

Referências

- MACLEOD, G.; AMES, J. Soy flavor and its improvement. . **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 27, n. 4, p. 219 - 401, 1988.
- HAIJKA, M.; KITAMURA, K.; IGITA, K. Production of soybeans lacking all lipoxygenases isozymes induced with gamma ray irradiation. **Japan Journal Breeding**, v. 40, p. 218 – 219, 1991.
- LIU, K. **Soybeans chemistry technology and utilization**. [[S. l.]: Chapman and Hall, 1997. 532p.

- 4 TORRES-PENARANDA, A.V.; REITMEIER, C.A.; WILSON, L.A.; FEHR, W.R.; NARVEL, J.M. Sensory Characteristics of Soymilk and Tofu made from Lipoxygenase-Free and Normal Soybeans. **Journal Food Science**, [S. l.], v. 63, n.6, p.1084-1087, 1998.
- 5 OKUBO, K.; IJIMA, M.; KOBAYASHI, Y.; YOSHIKOSHI, M.; UCHIDA, T.; KUDOU, S. Components responsible for the undesirable taste of soybeans seeds. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, [S. l.], v.5, p.99-103, 1992.
- 6 ARAI, S.; SUZUKI, H.; FUJIMAKI, M.; SAKURAI, Y. Studies on flavor components in soybean. Part II: Phenolic acids in defatted soybean flour. **Journal Agricultural Biological Chemistry**, [S. l.], v.30, n.4, p.364-369, 1966.
- 7 MASUDA, R. Quality Requirement and Improvement of Vegetable Soybean. **Vegetable Soybean Research Needs for Production and Quality Improvement**, [S. l.], p.92-102, 1991.
- 8 STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. 2nd ed. London: Academic press, Inc., 1993.
- 9 MATTOSO, L.H.C.; TAYLOR, D.M.; OLIVEIRA, O.N.JR.; FONSECA, F.J.; CARVALHO, A.C.P.L.F.; TOMMAZO, R.DI.; WOHNATH, K.; DOS SANTOS, D.S.; RIUL, A. Artificial taste sensor: efficient combination of sensors made from Langmuir – Blodgett films of conductiongpolymers and a ruthenium complex and self-assembled films of an azobenzene-containing polymer. **The American Chemistry Society Journal Surfaces and Colloids – Langmuir**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 239 – 245, 2002.
- 10 BLEIBAUM, R.; STONE, H.; TAN, T.; LABRECHE, S.; SAINT MARTIN, E.; ISZ, S. Comparasion of sensory and consumer results with electronic nose and tongue sensors for apple juices. **Food Quality and Preference**, [S. l.], v. 13, p. 409 – 422, 2002.
- 11 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005.
- 12 MIN, S.; YU, Y.; YOO, S.; ST. MARTIN, S. Effect of soybean varieties and growing locations on the flavor of soymilk. **Journal Food Science**, [S. l.], v. 70, n.1, p. C1 – C7, 2005.
- 13 BERHOW, M.A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (Ed.). **Flavonoids in the living cell**. New York: Klusher Academic, 2002. p. 61-76.
- 14 CARRÃO-PANIZZI, M.C.; FAVONI, S.P. G, KIKUCHI, A. Extraction time for soybean isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. l.], v. 45, n. 4, p. 515 – 518, 2002.
- 15 MOSKOWITZ, H.R. Product, Testing and Sensory Evaluation of Foods: Marketing and R & D. Approaches. Westport: Food and Nutrition Press, Inc, 1983. 605 p.



ESTUDO DAS ISOTERMAS DE SORÇÃO E COEFICIENTE DE DIFUSÃO DE ÁGUA EM BIOPOLÍMEROS À BASE DE QUITOSANA E CARBOXI METIL CELULOSE

Fábio Rosa Barreira¹; Lourdes Maria M. Cabral²; Murilo Freire Jr.²; Suely Pereira Freitas¹

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ
e-mail: freitasp@eq.ufrj.br

² Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro-RJ
e-mail: lcabral@ctaa.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.02

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades termodinâmicas e de transporte de vapor de água em filmes comestíveis preparados a partir de quitosana e carboxi metil celulose. As isotermas de sorção foram analisadas em diferentes atividades de água através do método gravimétrico estático usando-se soluções salinas supersaturadas a 20°C. Os dados experimentais de sorção foram ajustados pelos modelos não lineares de BET, GAB, Smith e Peleg. O coeficiente de difusão foi determinado pela lei de Fick, ajustando-se os dados cinéticos pelo método dos mínimos quadrados, considerando-se fluxo unidimensional e coeficiente de difusão independente do tempo.

Palavras-chave: Filmes biodegradáveis; coeficiente de difusão, isotermas de sorção, quitosana e carboxi metil celulose.

Introdução

A tecnologia de processamento mínimo vem se aperfeiçoando para atender a demanda por alimentos sem adição de conservantes e com características de sabor, cor e textura mais próximas do natural, oferecendo uma grande variedade de novos produtos para este mercado. A umidade em alimentos é um parâmetro crítico para manter o frescor, controlar o crescimento de microrganismos e promover a qualidade sensorial^{1,2}.

A aplicação de biofilmes para revestimento de alimentos minimamente processados é uma alternativa para melhorar a qualidade e estabilidade destes produtos e, como consequência, aumentar sua vida de prateleira. Os biofilmes podem ser utilizados para controlar a migração de água, a permeabilidade ao oxigênio e ao dióxido de carbono contribuindo para retardar

a taxa de deterioração quando utilizados no envolvimento de um produto alimentício, possibilitando condições mais seguras para o transporte e armazenamento dos mesmos. A determinação das isotermas de sorção é uma técnica clássica para avaliar a umidade de equilíbrio e estimar o coeficiente de difusão em biopolímeros³. O objetivo deste trabalho foi avaliar as isotermas de sorção de água e a cinética do transporte de massa em biofilmes preparados à base de quitosana e carboxi metil celulose visando obter dados que possibilitem conhecer as condições termodinâmicas (umidade e temperatura) de estabilidade destes filmes.

Materiais e métodos

Para preparo dos filmes, carboxi metil celulose de baixa e média viscosidade, quitosana e aditivos específicos foram dissolvidos em água destilada

sob agitação contínua. As soluções foram pipetadas e distribuídas em placas de 16 cm para secagem a 20°C por 48 horas. Quatro soluções foram investigadas: i: solução contendo carboxi metil celulose de baixa viscosidade, ácido cítrico, ácido esteárico e ácido ascorbico; ii: solução contendo carboxi metil celulose de média viscosidade, ácido cítrico, ácido esteárico e ácido ascorbico; iii: solução contendo quitosana (0,25) + ácido cítrico; iii: solução contendo quitosana (0,75) + ácido cítrico ().

As isothermas de sorção foram analisadas em diferentes atividades de água usando-se soluções salinas supersaturadas a 20°C⁴. As soluções saturadas foram preparadas com KOH, LiCl, MgCl₂, K₂CO₃, NaCl, KI, NaCl e BaCl₂ (99,5% de pureza). Os filmes foram dispostos em suportes de polietileno, mantidos em dessecadores (Figura 1) e pesados em intervalos de 24 horas, com auxílio de uma balança analítica até atingir o equilíbrio, ou seja, quando a diferença de peso entre duas medidas era inferior a 0,001. Após este período, as massas secas das amostras foram determinadas em estufa a 90°C por 90 minutos.

A umidade de equilíbrio foi calculada pela relação entre a massa de água na amostra após o período de incubação e a massa seca. Os experimentos foram conduzidos em triplicata para todas as amostras.

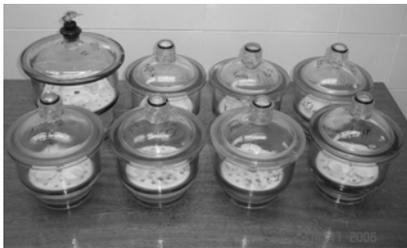


Figura 1

Para avaliar a cinética de sorção, os filmes foram pesados em intervalos de 1 hora durante 10 horas. O coeficiente de difusão foi determinado pela solução da lei de Fick (Equação 1)⁵.

$$C^* = \frac{C - C_{eq}}{C_o - C_{eq}} = \frac{8}{\pi^2} \sum \frac{1}{(n+1)^2} \exp \left[-(n+1)^2 \pi^2 \left(\frac{D_{ef}}{H^2} \right) t \right] \dots \{Eq.1\}$$

onde:

C* - concentração adimensional;

Deff – coeficiente de difusão;

z – coordenada na direção do fluxo;

H – espessura do filme;

t - tempo.

Resultados e discussão

As curvas de sorção obtidas, sigmóides do Tipo II e III, são típicas de polímeros sensíveis ao vapor de água. As curvas de umidade apresentam um aumento exponencial para atividades de água acima de 0,7. Resultados similares são encontrados na literatura para diferentes filmes comestíveis¹⁻³. O modelo de GAB (Equação 2), apresentou os melhores ajustes para as isothermas de sorção (Figuras 2 a 5).

$$X_e = \frac{X_m * C_G * k * a_w}{(1 - k * C_G * a_w) * (1 - k * a_w + C_G * k * a_w)} \dots \{Eq.2\}$$

onde:

a_w – atividade de água,

X_e – umidade em base seca, no equilíbrio,

X_m - umidade em base seca, na monocamada,

C_G - parâmetro de GAB, relacionado com o calor de sorção na monocamada,

k - parâmetro de GAB, relacionado com o calor de sorção nas múltiplas camadas.

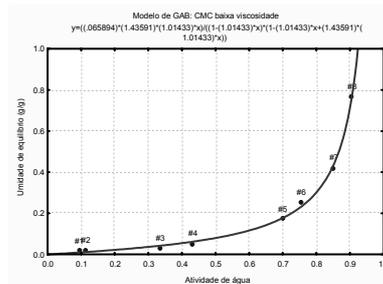


Figura 2. Isothermas de sorção para o filme de CMC de baixa viscosidade, a 20°C.

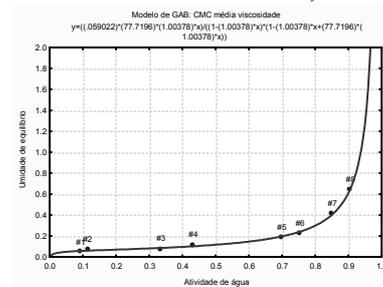


Figura 3. Isothermas de sorção para o filme de CMC de média viscosidade, a 20°C.

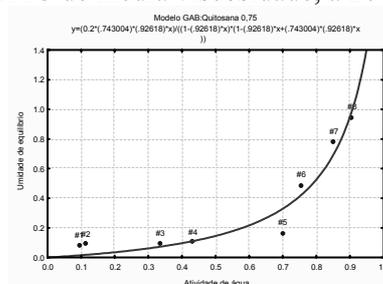


Figura 4. Isothermas de sorção para o filme de quitosana 0,75, a 20°C.

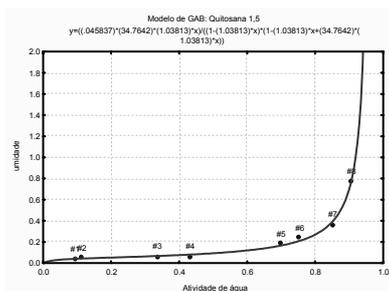
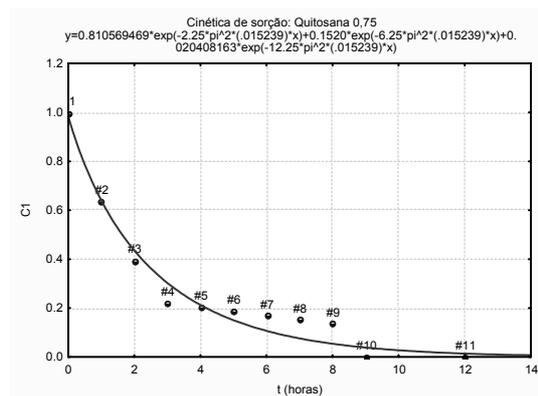


Figura 5. Isotermas de sorção para o filme de quitosana 1,5, a 20°C.

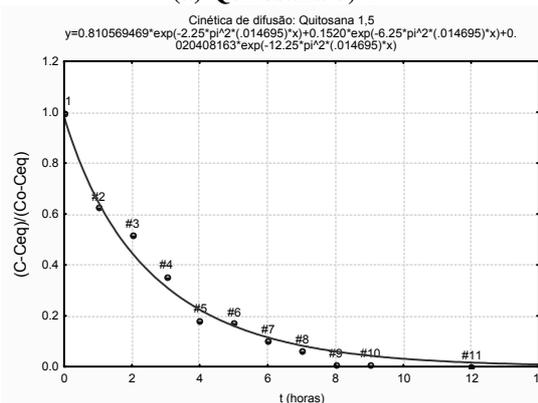
A partir do modelo de GAB, observou-se que a umidade na monocamada para o filme de Quitosana 0,75 foi superior ($X_m=0,2030$) aos demais filmes ($0,045 < X_m < 0,066$). Este resultado indica mais alta afinidade com a água do filme de quitosana com baixo teor do polímero.

Os coeficientes de difusão, estimados para os filmes de quitosana 0,75 e 1,5%, foram, respectivamente, 0,0147 e 0,0152 h^{-1} . Portanto a cinética do transporte de massa não foi sensível ao aumento do teor de polímero, na faixa analisada (Figuras 6a e 6b).

Resultados preliminares, obtidos para os filmes à base de CMC, indicaram que o aumento da viscosidade promove uma queda no coeficiente de difusão.



(a) Quitosana 0,75



(b) Quitosana 1,5

Figura 6. Cinética de sorção de água nos filmes de quitosana.

Conclusões

O modelo de GAB apresentou os melhores ajustes para as isotermas de sorção. As curvas obtidas para os filmes à base de CMC e quitosana apresentaram um comportamento sigmoide (tipo II e III) típicas de polímeros sensíveis ao vapor de água e indicam que a água foi adsorvida em múltiplas camadas. Pode-se concluir que os filmes de quitosana são mais hidrofílicos que os filmes de CMC e que a umidade de equilíbrio decresceu com a elevação da viscosidade e com o aumento da concentração de quitosana na mistura.

O aumento da concentração do polímero nos filmes de quitosana, de 0,75 para 1,5, não alterou o coeficiente de difusão no filme.

Referências

- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; J-L. CUQ, J. **Food Sc.**, [S. l.], v. 58, p. 206, 1993.
- KITTUR, F.S.; KUMAR, K.R.; THARANNATHAN, R.N. Functional packaging properties of chitosan films. **Lebensm Unters Forsch**, [S. l.], v. 202, p. 44-47, 1998.
- MARTELLI, S.M.; MOORE, G.; PAES, S.S.; GANDOLFO, C.; LAURINDO, J.B. Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. [[S. l.: s. n., s. d.].
- GREENSPAN, L. **J. Reserch National Bureau of Standards**, [S. l.], v. 81 p. 89, 1977.
- BIRD, R. B.; STEWART, W. E; LIGHTFOOT, E. N. **Transport Phenomena**. 2nd ed. New York: John Wiley Inc., 2002.
- STATISTICA for Windows 6.0: Computer program manual. Tulsa: StatSoft, 2000.



A PESQUISA EM FILMES COMESTÍVEIS NA EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA

Odilio B.G. Assis e Lucimara A. Forato

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP.

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

Resumo

Filmes flexíveis processados a partir de polímeros naturais não tóxicos, têm se estabelecido como uma nova categoria de materiais de alto potencial para aplicação como revestimentos protetores comestíveis sobre frutos e legumes, principalmente em produtos minimamente processados. Esses revestimentos tem como principal finalidade reduzir a atividade respiratória, preservando por um maior período as características fisiológicas, além de atuar contra o escurecimento e apresentarem ações bactericidas, reduzindo a incubação e o crescimento de organismos patogênicos sobre as superfícies cortadas ou não. Neste trabalho apresentamos uma visão geral do tema, comentando o processamento e a pesquisa nesta área realizada na unidade da Embrapa Instrumentação Agropecuária em São Carlos, SP.

Palavras-chave: revestimentos comestíveis, minimamente processados, pós-colheita.

Introdução

A aplicação de revestimentos e coberturas, comestíveis ou não, em produtos naturais, particularmente sobre frutas e vegetais, com o objetivo de aumentar o seu período de conservação não consiste em prática recente. Segundo Hardenburg ¹, emulsões derivadas de óleos minerais têm sido empregadas desde o século 13 na China, para elevar a conservação de frutos cítricos e demais produtos perecíveis que eram transportados por longas distâncias. No período das navegações e das grandes expansões territoriais, frutos e legumes tropicais eram transportados das colônias aos impérios imersos em tonéis com banha ou acondicionados em recipientes saturados de mel. Entretanto, as coberturas denominadas “comestíveis” como hoje conhecemos são mais recentes, e datam das décadas finais do século

passado (o termo surgiu por volta de 1970), e vieram acompanhados da expansão na oferta de produtos processados.

A indústria dos chamados alimentos minimamente processados que inicialmente foi introduzida com o objetivo de suprir restaurantes, hotéis, quartéis e instituições similares, experimenta uma significativa aceitação popular nas últimas décadas e conseqüente expansão de mercados.

Nos Estados Unidos, o mercado de frutas cortadas e prontas para o consumo é estimado em US\$ 10 bilhões, o que representa algo superior a 10% do total de frutas consumidas naquele país ². No Brasil frutas e vegetais minimamente processados foram timidamente introduzidos no mercado no início da década de 1990 no estado de São Paulo³. Estima-se hoje um crescimento anual de 20%, ou um movimento próximo a R\$ 450 milhões/ano, só no mercado nacional. Os produtos processados,

contudo, apresentam diversos problemas técnicos e de preservação, o que os tornam consideravelmente mais perecíveis que os frutos *in natura*. As superfícies expostas desencadeiam uma série de reações fisiológicas, tornando-se inevitavelmente suscetíveis à ação do ar e principalmente facilitando a contaminação por microorganismos. Adicionalmente, uma das respostas comuns da maioria dos tecidos vegetais frente a situações de stress e danos é a indução da biossíntese de etileno, acelerando o processo de maturação⁴.

Neste contexto, o uso de revestimentos comestíveis torna-se potencialmente interessante. Essas coberturas não têm como objetivo substituir as embalagens convencionais, mas sim ter uma atuação funcional de preservar a textura e o valor nutricional, reduzir os fenômenos de transporte superficiais e principalmente limitar a perda ou o ganho excessivo de água⁵. Além disso, os revestimentos comestíveis devem apresentar certas peculiaridades como serem invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos pelo manuseio e não introduzirem alterações no gosto ou odores originais. Neste trabalho apresentamos algumas linhas de pesquisa neste tema desenvolvidas na unidade da Embrapa Instrumentação Agropecuária em São Carlos, SP.

Materiais e métodos

Polissacarídeos de origem animal e vegetal, proteínas hidrofóbicas do milho, goma exsudada do cajueiro e galactomananos são os materiais investigados, que isolados ou conjuntamente apresentam potencial de aplicações como revestimentos comestíveis. De um modo geral a seqüência de revestimento não varia significativamente de composto ou produto, podendo ser resumida na Figura 1.

Quando os frutos entram em contato com as moléculas poliméricas dissolvidas, estas se acumulam sobre a superfície, sendo parte absorvida pelo pericarpo através da película e pelos estômatos. Com a evaporação do solvente, há a cura do polímero formando uma camada transparente e normalmente não superior a 50 nm⁶.

Resultados e discussão

Os polissacarídeos são materiais naturalmente hidrofílicos cuja afinidade por água está associada à predominância de grupos altamente polares como as hidroxilas e amino. Os grupos amino

ocorrem por ligações covalentes (N-H), onde a eletronegatividade das ligações geram sítios de elevada polaridade tornando assim favorável o rearranjo e estabelecimento de moléculas de água em torno desses sítios.

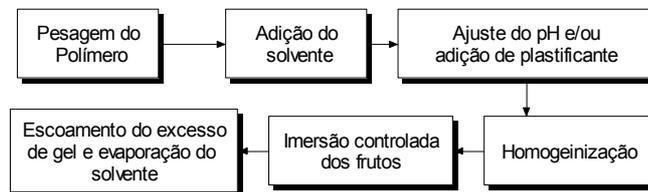


Figura 1. Seqüência geral da preparação do gel e deposição sobre frutos fatiados.

Esta característica estrutural, associada aos grupos do tipo acetamido, que também são polares e estão presentes na maioria das cadeias poliméricas, definem assim o material como de alto grau de retenção de água⁷. Processamos quitosana, por dissolução em meio ácido mineral e seus derivados hidrosolúveis, como a N,N,N-Trimetilquitosana, em água destilada. A quitosana apresenta elevada característica filmogênica, alta transparência e bom efeito fungicida⁸. Tem sido aplicada com sucesso na conservação de maçãs fatiadas⁹ e estamos avaliando seu comportamento em alho e morangos. É um material fácil de trabalhar, embora apresente variações de composição em cada lote, decorrente da sazonalidade da quitina extraída¹⁰.

As proteínas do milho (zeínas) são altamente hidrofóbicas devido à presença de resíduos de resíduos de aminoácidos desta natureza em sua estrutura. Na unidade, as zeínas são extraídas a partir do glúten com hexano, seguida de adição de etanol 70% sob agitação mecânica. O produto é filtrado e as proteínas liofilizadas¹¹. Essas proteínas (caracterizadas como α) são solúveis em meio alcoólico e sem aditivos resultam em filmes frágeis e com baixa plasticidade, tornando-se quebradiços principalmente com alterações de umidade e temperatura. Para essas formulações há a necessidade da adição de plastificantes como glicerol, propilenoglicol, álcoois polihídricos ou ácidos graxos para elevar a o alongamento e flexibilidade¹².

Os filmes a base de zeínas são ligeiramente opacos e com cor tirante a amarelo e tem se mostrado adequados ao revestimento de produtos facilmente oxidáveis como oleaginosas (castanha e macadâmia)¹³, assim como na preservação de frutas *in natura*, como pêras e maçãs sob

condições de umidade e perda de massa por transpiração (Figura 2).

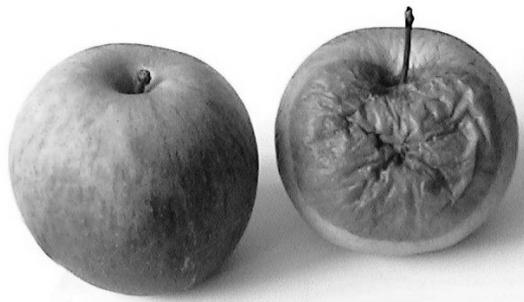


Figura 2. Exemplo ilustrativo de maçã revestida e não revestida com zeínas após 20 dias de armazenamento em condições não controladas.

Outros materiais que estão sendo avaliados são a carboximetilcelulose, (CMC) que é o produto da reação da celulose com hidróxido de sódio e ácido monocloracético. a goma exsudada do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), um hidrocarboneto de alta massa molecular e recentemente estamos avaliando com sucesso a formação de películas a partir de glicomananos extraídos de sementes de algaroba (*Prosopis juliflora*).

Todos os filmes, anterior à aplicação em frutos, são avaliados com respeito à seu caráter hidrofílico por medida da molhabilidade superficial; por sua resposta mecânica, através de amostra submetidas à ensaios de DMA (Dynamical Mechanical Analysis); por seu comportamento calorimétrico, avaliado por DSC (Dynamical Scanning Calorimetry) e pela permeação à gases e vapor de água por medidas de permeação convencional.

Quando na forma de revestimentos, os frutos são avaliados com respeito à perda de massa, alterações de cores e efeito bactericida e fungicida, por análises convencionais ou medidas instrumentais e análises de imagens¹⁴.

Referências

1 HARDENBURG, R.E. Wax and related coatings for horticultural products: a bibliography. **Agr. Res. Bulletin**, Washington DC, v. 51, p. 15, 1967.

2 BETT, K. L. et al. Flavor of fresh-cut gala apples, in barrier film packaging as affected by storage time. **J. Food Quality**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 141-156, 2001.

3 CLEMENTE, E.S.O. **O Mercado de vegetais minimamente processados**. ESALQ: [s. n.], 1999. Seminário.

4 ZACARIAS, L. Etileno. In: **FISIOLOGIA y bioquímica vegetal**. [S. l.]: McGraw-Interamericana, 1993. p.343-356.

5 ASSIS, O.B.G.; FORATO L.A., BRITTO, D. Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, [S. l.], 2007.

6 ASSIS, O.B.G. et al. AFM Characterization of chitosan self-assembled films. **International J. of Polymeric Materials**, [S. l.], v. 51, n. 7, p. 633-638, 2002.

7 ASSIS, O.B.G.; SILVA, V.L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 223-228, 2003.

8 ASSIS, O.B.G.; LEONI, A.M. Filmes comestíveis de quitosana: Ação biofungicida sobre frutas fatiadas. **Biotec. Ciên & Desenv.**, [S. l.], v. 30, p.33-38, 2003.

9 ASSIS, O.B.G.; PESSOA, J.D.C. Preparation of thin films of chitosan for use as edible coatings to Inhibit fungal growth on sliced fruits. **Braz. J Food Sci. Techn.**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 17-22, 2004.

10 ASSIS, O.B.G.; BRITTO, D. Processo básico de extração de quitinas e produção de quitosana a Partir de resíduos da carnicultura **Revista de Agrociências**, [S. l.], 2007. submetido.

11 FORATO, L.A. et al. Identification of free fatty acids in maize protein bodies and purified alpha zeins by ¹³C and ¹H nuclear magnetic resonance. **Biochimica and Biophysica Acta**, [S. l.], n. 1543, p. 106-114, 2000.

12 FORATO, L.A. et al. Surface wetting and DMA characterization of zein/oleic acid based films. In: ISNAPOL, 6., 2007. [**Anais...** S. l: s. n.], 2007. 4 p. paper 117.

13 COVRE, L. M. et al. Preliminary evaluation of antioxidant efficiency of zeins coatings on macadamia nuts. In: INTERNAT. MACADAMIA SYMPOSIUM, 3., 2006. [**Proceedings...** S. l.: s. n.], 2006. p. 93-96.

14 ASSIS, O.B.G.; GOUVEA. S.P. Evaluation of fungi growth on cut apples using a simple image analysis technique. **Braz. Archives of Biology and Technology**, [S. l.], 2007. (sumetido).



PRODUÇÃO DE FILMES COMPOSTOS A BASE DE RESINA EXSUDADA DE CAJU

Jackeline S. de Rizzo, Douglas de Britto, Odilio B. G. Assis e Lucimara A. Forato*

Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

* lucimara@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

Resumo

Encontra-se em andamento na unidade da Embrapa Instrumentação Agropecuária a caracterização da goma exsudada do cajueiro com respeito a suas características hidrofílicas e sua capacidade de formação de filmes finos a partir de soluções aquosas, isolada ou combinada com demais compostos hidrogéis. Diversas concentrações e combinações estão sendo avaliadas, variando o teor de plastificantes e outros compostos. Neste trabalho exemplificamos os resultados em filmes processados com 1% de resina, 1% de carboximetilcelulose e 1% de glicerol, comparados com os valores de filmes processados apenas com resina, com respeito à medida de ângulo de contato e as propriedades mecânicas (por MDA), em películas produzidas por *casting*.

Palavras-chave: Goma de cajueiro, filmes comestíveis, hidrogéis, DMA.

Introdução

A goma, ou resina exsudada do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), planta frutífera originária do Brasil, consiste em uma secreção natural, com função curativa e de coloração amarelada, encontrada preferencialmente no tronco ou nos ramos da árvore. Esta goma representa um polímero não-convencional com características semelhantes à goma arábica^{1,2}.

As “gomas” são basicamente hidrocarbonetos de alta massa molecular e podem ter aplicações diversas. A produção da goma do cajueiro é uma atividade ainda essencialmente extrativa, embora possa representar uma forma de lucro adicional para o produtor. Essa goma já tem sido empregada na indústria como um polissacarídeo ou

derivados, que são capazes de formar suspensões aquosas, caracterizando soluções ou misturas viscosas. Devido a suas características atóxicas, apresentam grande potencial para aplicações na indústria farmacêutica, em cosméticos, como estabilizante e clarificante de sucos e bebidas fermentadas. Na Embrapa Instrumentação Agropecuária esta goma vem sendo avaliado como matéria prima para a confecção de filmes nanoestruturados para uso como na área de alimentos, em particular como material para revestimentos comestíveis em frutos e legumes.

Filmes ou coberturas comestíveis é uma área em expansão em escala mundial e compostos polissacarídeos podem ser empregados como barreiras protetoras de alimentos e medicamentos, controlando a permeação de gases e a perda de umidade, aumentando o tempo de vida³.

Filmes diretamente produzidos a partir da goma do cajueiro dissolvido têm sido caracterizados como materiais com comportamento mecânico tipicamente frágil ⁴, ou seja, com baixa plasticidade e baixo ponto de ruptura, o que limita a aplicação dessas películas de maneira mais extensa. A adição de plastificantes e a associação de outros biopolímeros podem beneficiar as propriedades mecânicas, ampliando o potencial aplicação desses filmes ⁵. É esse o objetivo deste trabalho, no qual formulações de goma com derivados de celulose e plastificantes são avaliados.

Materiais e métodos

As amostras de gomas de cajueiro foram fornecidas pela Embrapa Agroindústria de Fortaleza (CPATU), Ce. Estas foram colhidas em árvores adultas por incisão intencional nos caules. Para a dissolução, amostras das resinas foram moídas e peneiradas em partículas de dimensões inferiores a 1mm.

Por ser um polissacarídeo solúvel em meio aquoso, as formulações avaliadas são baseadas em água destilada, glicerol como plastificante associados à carboximetilcelulose, CMC. Diversas concentrações e combinações GOMA/CMC/Glicerol estão em análise na unidade da Embrapa Instrumentação Agropecuária. Os filmes são obtidos a partir das soluções precursoras por *casting* sobre placas de acrílico e submetidos à evaporação forçada do solvente em *blow-box*. Após a secagem são destacados e analisados por técnica de mecânica dinâmica (DMA), em equipamento da TA Instrument, no modo tensão. O grau de molhabilidade está sendo determinado através da medida dos ângulos de contato da superfície dos filmes com microgotas de água deionizada. A variação dos ângulos é registrada por meio de uma câmara. A partir das imagens são calculados os ângulos por meio do software FTA32 Image Software (First Ten Ångstroms). Toma-se a média de cinco medidas em cada amostra. As medidas são realizadas em atmosfera e temperatura ambientes, registrando-se a imagem em tempo real.

Resultados e discussão

A adição de plastificantes e combinações com demais hidrogéis é necessária para o

processamento de filmes em função da alta fragilidade da resina do cajueiro. Embora essa se dissolva com certa facilidade e permita a formação de filmes por *casting*, estes são quebradiços e de baixa plasticidade, o que limita possíveis aplicações desses materiais.

Optou-se pelo uso de glicerol (grau alimentar) como plastificante e concentrações variáveis de carboximetilcelulose (CMC). A CMC consiste no produto da reação da celulose com hidróxido de sódio e ácido monocloracético, resultando em um polieletrólito aniônico com uma configuração complexa. Do ponto de vista químico, a CMC é um polímero biodegradável, atóxico e hidrossolúvel, com configuração estável para valores de pH entre 1 e 12 ⁶.

A Figura 1 apresenta o comportamento mecânico característico de filmes de goma e goma/CMC (50-50 v/v), com adição de 1% de glicerol.

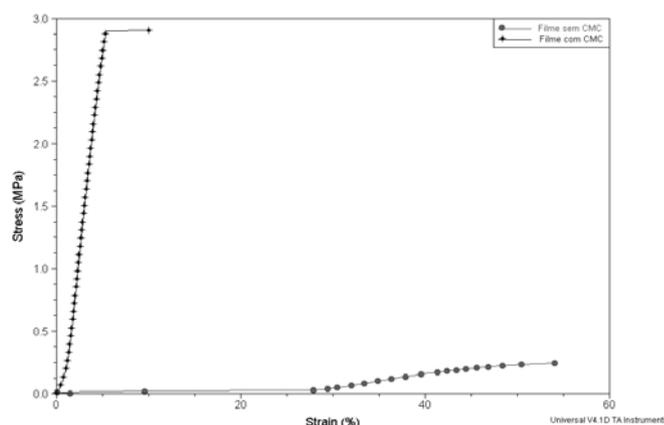


Figura 1. Comportamento mecânico em curva de tensão X deformação para filmes de resina de cajueiro e resina + CMC, com adição de plastificante em 1%. (Dados obtidos por DMA).

Torna-se evidente a melhora nas propriedades dos filmes combinados com CMC. Embora sua deformação seja reduzida. Esses experimentam uma maior taxa de deformação sob baixas tensões, o que é desejável para aplicações como revestimento de produtos que sofrem alterações morfológicas ao longo do tempo e o filme deve acompanhar essas alterações de forma.

Com respeito à molhabilidade desses filmes, temos observado experimentalmente que a resina do cajueiro é extremamente higroscópica, com alta razão de absorção de água. Nos filmes de resina pura, a água é totalmente absorvida pelo

material, não sendo possível a medida superficial, o que confirma o caráter hidrogel da goma.

Nos filmes combinados o ângulo medido a partir de uma gota de volume médio de água deionizada, no volume aproximado de 50 μ L, fica próximo a 90°.

Essa alteração no caráter hidrofílico é entendido como resultante da presença da presença do plastificante, ou seja, as moléculas de plasticante induzem uma reorientação de grupos não-polares em direção à superfície ao mesmo tempo que reduzem a exposição dos sítios hidroxilas. Os valores de ângulos de contato tendem assim a aumentar, embora haja um mecanismo ressecivo ao longo do tempo conforme pode ser acompanhado pela imagens da Figura 2.

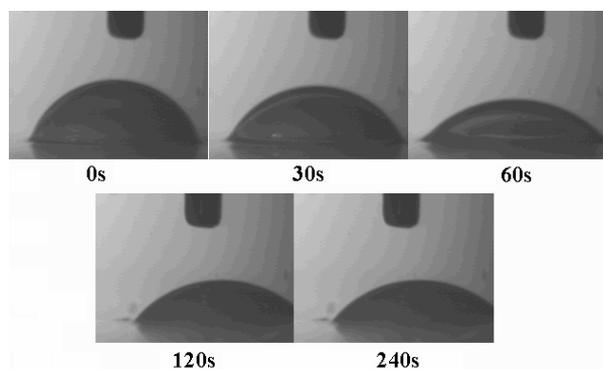


Figura 2. Imagens da gota d'água sobre o filme para medidas de ângulo de contato ao longo do tempo, indicando um efeito *reciding*. Filme com 1% de CMC e 1% wt de glicerol.

Referências

- 1 SILVA, V.V. **Caju**. O produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa - SPI; Fortaleza: Embrapa CNPAT, 1998.
- 2 SILVA, D. B. et al. **Frutas do Cerrado**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica.. 2001.
- 3 ASSIS, O.B.G. Edible Coatings: an Emergent Technology. **Food Ingredients**, [S. l.], p. 24-26, sept, 2006.
- 4 LIMA, R.S.N., LIMA, J.R., MOREIRA, R.A., BANDEIRA, C.T. Utilização biotecnológica da resina exsudada de cajueiro. **Anima (Revista da Faculdade Integrada do Ceará)**, [S. l.], v.1, n.2, p.9-16, 2002.
- 5 BRITTO, D.; CAMPANA FILHO, S.P.; ASSIS, O. B. G. Mechanical Properties of N,N,N-trimethylchitosan Chloride Films. **Polímeros**. [S. l.], v. 15, n. 2, p. 129-132, 2005.
- 6 CARASHI, J.C.; CAMPANA-FILHO, S.P. On the preparation and characterization of Carboxy methylcellulose from bleached soda/anthranquinone pulp of sugar cane bagasse. In: INTERN. SYMP. ON NATURAL POLYMERS AND COMPOSITES, 2., Águas de São Pedro, SP., 1998. [S. l.: s. n.], 1998. p.163-166.



CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES FINOS DE ZEÍNAS PARA USO COMO COBERTURAS COMESTÍVEIS

Douglas de Britto; Juliana A. Scarmin; Lucimara A. Forato e Odilio B.G. Assis

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP
britto@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de ácido oleico (AO) como plastificante nas propriedades mecânicas e molhabilidade de filmes de zeínas. As amostras de filmes foram analisadas por medidas de ângulo de contato e análise mecânica dinâmica (DMA). Todas as amostras apresentaram valores de ângulo de contato em torno de 68° com uma tendência genérica de receding da gota com o tempo. A análise por DMA mostrou que a adição de AO melhorou as propriedades mecânicas dos filmes os quais apresentaram maiores alongação e tensão de deformação.

Palavras-chave: zeínas, coberturas comestíveis, ácido oleico, propriedades mecânicas de filmes finos.

Introdução

Zeínas são proteínas presente no endosperma do milho e representam mais da metade da massa bruta das proteínas da semente. Das zeínas podem-se obter produtos diversos com potenciais aplicações na área agricultura, alimentícia e farmacêutica¹⁻³. Na realidade, as zeínas são compostas da mistura de várias proteínas classificadas de acordo com sua solubilidade e massa molar de três diferentes polipeptídeos: α , β e γ . α -zeínas são as mais abundantes, com 75 a 85% do total das proteínas do milho, sendo caracterizada pela sua solubilidade em álcool. Devido ao fato das zeínas constituírem em uma estrutura polimérica natural e biodegradável obtidas de fontes renováveis, tem-se observado um crescente interesse em suas aplicações, principalmente como material substituto aos plásticos sintéticos. Essas proteínas apresentam propriedades hidrofóbicas com a habilidade de

formar filmes comestíveis, que podem ser empregados como revestimentos protetores de alimentos e medicamentos, agindo como barreira à gases e à perda de umidade⁴. No entanto, filmes de zeínas são muito quebradiços e apresentam baixos valores de tensão e de deformação, o que tem limitado suas aplicações de maneira mais extensa. Plastificantes de baixa massa molar, como glicerol e lipídeos, têm sido adicionados com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas, atuando na redução das interações entre as cadeias do polipeptídeo. A adição de plastificantes causa mudança não somente nas propriedades mecânicas mas também afeta o carácter hidrofóbico em função de uma redistribuição de cargas dos diferentes grupos do polipeptídeo⁵. Desta forma a molhabilidade da superfície também é alterada.

Neste trabalho filmes de zeínas foram produzidos, empregando como plasticante o ácido oleico

(AO), em diferentes proporções e caracterizadas as propriedades mecânicas (avaliada por DMA) e a molhabilidade da superfície dos filmes (avaliada por medida de ângulo de contato).

Materiais e métodos

As zeínas foram extraídas do glúten do milho (CGM), gentilmente cedido pela empresa Corn Products Inc. CGM é um subproduto da produção de amido por via úmida. Este produto apresenta até 70% de zeínas e outros polissacarídeos que não são removidos durante o processo de extração^{6,7}. Inicialmente o CGM foi extraído com hexano em soxhlet por 24 h para remoção de lipídeos. Em seguida, adicionou-se etanol 70% e deixou-se a mistura sob agitação mecânica por 24 h. Filtrou-se a fração de etanol contendo as zeínas, removendo o excesso de etanol por evaporação em um rotaevaporador. Finalmente, a massa úmida de proteínas foi liofilizada⁷.

A solução de estoque de zeínas foi preparada em solução de etanol a 70% a partir de uma concentração de 4.2% (m/v). Aliquotas desta solução foram tomadas e adicionados ácido oleico em proporções de 0,25; 0,50 e 1,0% (v/v). Os filmes foram obtidos por casting sobre placa de acrílico na temperatura ambiente. Depois de seco os filmes foram manualmente destacados.

Os ângulos de contato foram determinados a partir de uma gota de água deionizada, no volume de 50 μ L, depositada sobre a superfície dos filmes e registrando-se a imagem em tempo real por meio de uma câmara. A partir das imagens foram calculados os ângulos por meio do software FTA32 Image Software (First Ten Ångstroms). Médias de cinco medidas foram consideradas em cada amostra. As medidas foram realizadas em atmosfera e temperatura ambientes. A análise mecânica dinâmica (DMA) foi conduzida em corpos de prova retangulares (aprox.: 17,0x6,0x0,050 mm), em equipamento DMA 2930 da TA Instrument, no modo tensão.

Resultados e discussão

Os valores de ângulo de contato medidos sobre os filmes não foram estatisticamente diferentes em função da percentagem adicionada de ácido oleico. Os valores iniciais dos ângulos estiveram em torno de $68 \pm 3^\circ$ para todas as amostras. Contudo, foi possível observar um

comportamento dependente do tempo em que o ângulo de contato diminuiu gradativamente principalmente nos primeiros 5 minutos de observação (Figura 1).

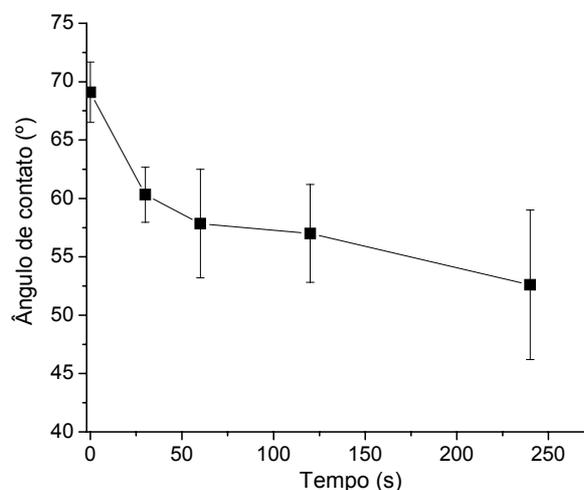


Figura 1. Exemplo da variação de ângulo de contato medido em função do tempo (filme com 1% de AO).

Este comportamento *receding* pode ser uma evidência da capacidade de absorção de água, provavelmente por forças capilares, na interface filme-água. Este pode ser um indicativo que estes filmes possuem caráter predominantemente hidrofílico em vez de hidrofóbico. De acordo com Muthuselvi & Dhathathreyan⁸, este tipo de comportamento em zeínas é decorrente da presença do plastificante, ou seja, as moléculas de plastificante induzem uma reorientação de grupos polares em direção à superfície ao mesmo tempo que reduzem os resíduos de aminoácidos expostos à água. Os valores de ângulos de contato aqui encontrados estão, contudo, em concordância com os valores reportados na literatura para filmes de zeínas plastificado com glicerol e solbitol⁸.

As propriedades mecânicas analisadas por DMA indicam por sua vez uma forte dependência com a percentagem de plastificante AO adicionado. No geral todos os filmes mostraram um caráter predominantemente frágil com pouca deformação plástica (máxima de 2%) e moderadamente resistente. Contudo, maiores valores de elongação e portanto, de maior plasticidade, foram obtidos para filmes com maiores adições de AO (Figura 2).

Ao longo de dois meses de estocagem em condições ambientais não controladas, observou-

se um aumento tanto na plasticidade como nos valores de tensão de ruptura. Esta mudança pareceu ser mais pronunciada para os filmes com composições de 0,25 e 0,5% de AO. Este efeito não foi ainda inteiramente entendido.

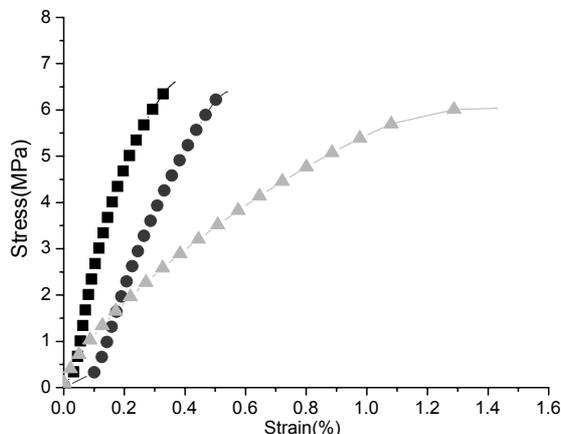


Figura 2. Curva tensão-deformação para filmes de zeínas com diferentes proporções de plastificantes: 0,25 % (■); 0,50% (●) e 1,00% (▲).

Conclusões

Os resultados de molhabilidade indicam que os filmes de zeínas produzidos a partir de proteínas extraídas do CGM, na presença de ácido oleico, têm um comportamento similar aos filmes de zeínas comerciais plastificados com sorbitol ou glicerol.

Há indícios de que a presença do plastificante ácido oleico provoca uma reorientação dos grupos funcionais das zeínas conferindo-lhe um caráter predominantemente hidrofílico.

Os dados obtidos pela análise por DMA mostram claramente que a presença do plastificante melhora as propriedades mecânicas dos filmes de zeínas. O plastificante ácido oleico eleva a plasticidade do filme o que pode prevenir rachaduras e quebras durante o seu processamento de aplicações e estocagem.

Referências

- 1 ROTHFUS, J.A. **J. Agric. Food Chem.**, [S. l.], v. 44, p. 3143-3152, 1996.
- 2 LASZTITY, R. **The Chemistry of Cereal Proteins**. New York: CRC Press, 1996.
- 3 FORATO, L. A.; YUSHMANOV, V. E.; COLNAGO, L. A. **Biochemistry**, [S. l.], v. 43, p. 7121-7126, 2004.
- 4 COVRE, L. M.; ASSIS, O. B. G.; PIZA, P. B. T.; COLNAGO, L. A.; FORATO, L. A. In: INTERNATIONAL MACADAMIA SYMPOSIUM, 2006, São Pedro, SP. **Proceedings...** [S. l.: s. n.], 2006. p. 93-96.
- 5 SCRAMIN, J. A.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G.; COLNAGO, L. A.; FORATO, L. A. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL POLYMER AND COMPOSITES, 6., 2007, Gramado, RS. **Proceedings...** [S. l.: s. n.], 2007. 4 p. Paper 117.
- 6 WU, S.; MYERS, D. J.; JOHNSON, L. A. **Cereal Chem.**, [S. l.], v. 74, p. 258-263, 1997.
- 7 FORATO, L. A.; BICUDO, T. C.; COLNAGO, L. A. **Biopolymers (Biospectroscopy)**, [S. l.], v. 72, p. 421-426, 2003.
- 8 MUTHUSELVI, L.; DHATHATHREYAN, A. **Pramana J. of Physics**, [S. l.], v. 66, n. 3, p. 563-574, 2006.



CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA DE FILMES DE N,N,N-TRIMETILQUITOSANA

Douglas de Britto (1), Odilio B.G. Assis (1) e Paulo S. Campana Filho (2)

(1) Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP – britto@cnpdia.embrapa.br
(2) IQSC – USP, São Carlos, SP

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

Resumo

Filmes finos de quitosana N,N,N-trimetilada, de interesse no emprego em alimentos e embalagens, foram obtidos a partir de solução aquosa (1 % ácido acético) por *casting*. O comportamento mecânico foi avaliado por DMTA e comparado com filmes produzidos com quitosana não metilada. Como resultados, temos que os filmes de quitosana não metilada exibem comportamento elástico enquanto os filmes N,N,N-trimetilados apresentam comportamento tipicamente viscoso. Não foi possível pelos ensaios mecânicos realizados observar a temperatura de transição vítrea desses polímeros, embora os filmes de N,N,N-trimetilquitosana apresentem uma discreta transição térmica próxima a 25 °C.

Palavras-chave: quitosana, propriedades mecânicas de filmes, metilação, propriedades mecânica de filmes finos.

Introdução

Para que seja apropriado ao uso como embalagens ou revestimentos, os filmes a base de biopolímeros devem apresentar propriedades mecânicas adequadas. Normalmente, a tensão de ruptura de filmes de quitosana processadas a partir de produto comercial fica no intervalo de 50 a 66 MPa¹, dependendo de seu grau de desacetilação de do peso molecular, como também do solvente empregado na formação da solução precursora². A literatura tem apresentado dados que mostram que a tensão de ruptura de filmes de quitosana aumenta com o aumento da massa molar³ e que o alongamento é fortemente dependente da presença de plastificantes como o poli(etileno glicol), o glicerol e o sorbitol⁴.

Nos sais quaternizados de quitosana cargas positivas permanentes são introduzidas ao longo da cadeia polimérica, conferindo uma característica polieletrólita catiônica, independente do pH do solvente, o que eleva a biocompatibilidade desse material⁵. Quitosanas hidrossolúveis podem ser conseguidas pela quaternização dos átomos de nitrogênio nos grupos amino resultando em um polímero N,N,N-trialquil. Uma metilação extensiva da quitosana pode ser conseguida em suspensão de N-metil-2-pirrolidone com excesso de iodometano na presença de iodeto de sódio⁶, levando a uma reação como a da Figura 1.

A estabilidade térmica da quitosana trimetilada já foi caracterizada pelo grupo⁷ e em seqüência apresentamos aqui os resultados relativos as medidas mecânicas dos filmes

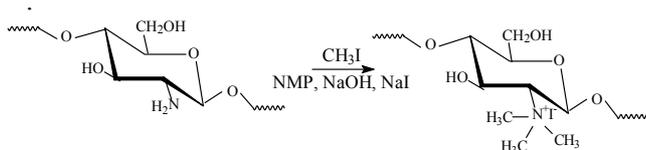


Figura 1: Representação esquemática da reação de quaternização dos grupos amino resultando em N,N,N-trimetilquitosana.

Materiais e métodos

Quitosana adquirida da Fluka (MW ~ 400,000 g/mol) foi dissolvida em ácido láctico (1M) sob agitação moderada seguida de filtragem sob pressão positiva para eliminar materiais insolúveis. A quitosana foi então precipitada pela adição de NaOH concentrado. O material resultante foi seco a temperatura ambiente e reduzido a partículas de dimensões próximas a 125 μm . A metilação da quitosana foi conduzida conforme procedimento já descrito⁷, ou seja, pela reação com 3,0g (0,0175 mol) de quitosana em suspensão de N-metil-2-pirrolidone/NaOH (14,5/1 v/w) em 8,6 cm^3 de CH_3I na presença de NaI (3,62g).

O grau de acetilação (DA) e de quaternização (DQ) foi calculado a partir de medidas por espectrometria de ^1H NMR. Os filmes foram obtidos por *casting*, e medidas de DMTA (Dynamic mechanical thermal analysis) realizada em *tensile mode*, a uma taxa de aquecimento de 5°C min^{-1} e amplitude cíclica de deformação de 20 μm , na frequência de trabalho de 1 Hz.

Resultados e discussão

Pela análise por ^1H NMR os principais sinais identificados são: i) Em $4,5 < \delta < 5,0$, correspondente ao H ligado ao carbono anomérico; ii) sinais em $3,4 < \delta < 4,0$, correspondente as ligações de H com átomos de C nas posições 3,4,5 e 6 da unidade glucopirranose; iii) um sinal centrado em 3,18 ppm, que está relacionado com o H ligado ao carbono 2 do anel glucopirranose e iv) um sinal em 1,99 ppm, correspondente ao H da fração metil dos grupos acetamido. Detalhes dessa análise podem ser encontrados na ref.⁴. A partir desses dados determinou-se o grau médio de acetilação em $\text{DA}=22\%$. As evidências da N-metilação são observadas na região de $2,47 < \delta < 3,37$, na qual o sinal centrado em 3,31 ppm corresponde aos sítios

quaternizados, enquanto o sinal em 2,76 ppm é atribuído aos sítios N,N-dimetilados, (Figura 2). Este espectro também mostra dois sinais na região de $3,37 < \delta < 3,56$, sendo ambos correspondentes a sítios O-metilados. O grau de quaternização foi determinado em 37%.

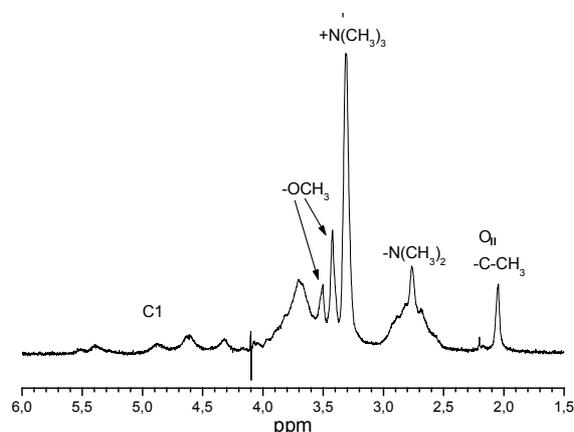


Figura 2. Espectro de ^1H NMR da N,N,N-trimetilquitosana ($C_p = 10\text{g/L}$) dissolvida em D_2O .

As análises por DMTA revelam que ambos os polímeros, i.e., a quitosana e a N,N,N-trimetilquitosana, apresentam comportamento viscoelástico não-linear, embora o modo de deformação da quitosana é significativamente afetado pelo processo de quaternização. A curva tensão-deformação indica que os filmes de quitosana exibem um comportamento de alta elasticidade com grande alongamento, enquanto os filmes de N,N,N-trimetilquitosana apresentam comportamento tipicamente viscoso com pequeno módulo de elasticidade (Figura 3).

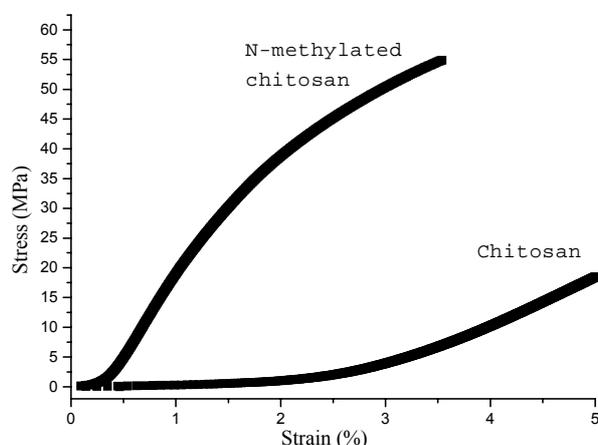


Figura 3. Curvas tensão-deformação para filmes de quitosana e N,N,N-trimetilquitosana na temperatura ambiente.

A quitosana responde imediatamente à tensão aplicada com alongamento máximo de 2,5%. O material metilado, em função de seu comportamento viscoso enlonga-se a valores próximos a 3,5% antes da ruptura.

A temperatura de transição vítrea (Tg) do polímero é um dos critérios mais importantes para a caracterização das propriedades mecânicas. A Tg da quitosana não é muito bem caracterizada devido à existência de um grande número de ligações de hidrogênio inter e intra-cadeias o que faz com que a degradação polimérica ocorra antes da temperatura de transição vítrea, embora alguns autores⁸ indiquem algo como 205°C.

Ao reduzirmos o montante de ligações de hidrogênio pela introdução de grupos hidroxilas, a Tg decresce. Desta forma a Tg dos derivados do tipo acil da quitosana são reduzidas para -10 a -42°C, dependendo do grau de substituição⁹. Devido às características iônicas desses polieletrólitos, a Tg é esperada que mude para temperaturas mais altas quando comparadas com polímeros não carregados¹⁰. As curvas relacionadas ao módulo de reserva (storage modulus, E') vistos na Figura 4.

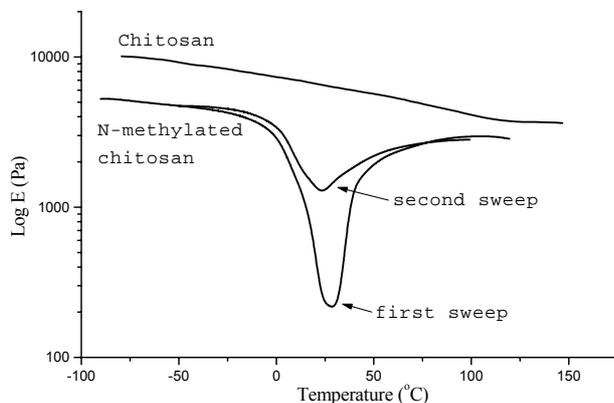


Figura 4. Storage modulus versus temperatura para quitosana e N,N,N-trimetilquitosana.

Um decréscimo contínuo de E' com o aumento da temperatura é observado para o filme de quitosana enquanto que comparativamente para os filmes de N,N,N-trimetilquitosana temos uma importante redução de E' próxima a 25°C, a qual recupera-se para valores iniciais para temperaturas superiores a 100°C. O comportamento exibido pela N,N,N-trimetilquitosana sugere que a água absorvida no

polímero desempenha importante papel nas propriedades mecânicas. Como pode ser acompanhado pela segunda varredura, um pequeno desvio é observado para o valor mínimo E' em baixas temperaturas e, adicionalmente, uma importante redução da área sob o pico é claramente observado. Considerando que as de N,N,N-trimetilquitosanas cloretadas são altamente hidrofílicas, a presença de água absorvida deve ser responsável por uma redução nas interações entrecadeias, gerando um efeito plastificante⁴.

Conclusões

A N-metilação da quitosana provoca importantes alterações no comportamento mecânico de filmes. Análises por DMTA mostram que filmes de quitosana e de N,N,N-trimetilquitosana apresentam comportamento viscoelástico, mas a quitosana não-metilada exibe melhores propriedades. As curvas de módulo de reserva versus temperatura também foram distintas para ambos os filmes, indicando comportamentos distintos, inferindo dependência com o teor de água presente na estrutura polimérica.

Referências

- 1 LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C.G. **Carbohydr. Polym.**, [S. l.], v.48, p.179-190, 2002.
- 2 HWANG, K.T.; KIM, J.T.; JUNG, S.T.; CHO, G.S.; PARK, H.J. **J. Appl. Polym. Sci.**, [S. l.], v. 89, p.3476-3484, 2003.
- 3 BRITTO, D. 2003. 146 f. (PhD Thesis) - IQSC-USP, São Carlos, SP.
- 4 BRITTO, D.; CAMPANA FILHO, S.P.; ASSIS, O.B.G. **Polímeros**, [S. l.], v. 15, n. 2 p. 129-132, 2005.
- 5 BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. **Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 41, p.198-203, 2007.
- 6 KIM, S.S.; KIM, S.H.; LEE, Y.M.; **J. Polym. Sci.: Part B, Polym. Phys.**, [S. l.], v. 34, p.2367-2374, 1996.
- 7 BRITTO, D., CAMPANA FILHO, S.P. **Polym. Degrad. and Stability**, [S. l.], v. 84, p.353-361, 2004.
- 8 BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 69, p. 305-310, 2007.
- 9 SAKURAI, K; MAEGAWA, T.; TAKAHASHI, T. **Polymer**, [S. l.], v. 41, p.7051-7056, 2000.
- 10 ZONG, Z.; KIMURA, Y.; TAKAHASHI, M.; YAMANI, H., **Polymer**, [S. l.], v. 41, p.899-906, 2000.



ALTERAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS HIDROFÍLICAS SUPERFICIAIS DE FILMES DE QUITOSANA POR AÇÃO DE PLASMA A FRIO

Odilio B.G. Assis e Douglas de Britto

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP – odilio@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da formação controlada de uma fina camada hidrofóbica (≤ 300 nm) sobre a superfície de filmes de quitosana. A finalidade é criar uma barreira ao vapor de água e à humidade possibilitando a aplicação desses polissacarídeos como elementos flexíveis em embalagens ou revestimentos. A técnica de plasma a frio foi empregada para a polimerização de hexametildissilazana (HMDS) sobre filmes finos obtidos por *casting*. O caráter hidrofóbico da deposição e seu efeito sobre a quitosana foi caracterizado via medida de ângulo de contato, grau de intumescimento e permeação ao vapor de água, indicando a eficiência do depósito na redução da hidrofiliabilidade do polissacarídeo.

Palavras-chave: quitosana, grau de hidrofiliabilidade, HMDS, plasma frio.

Introdução

Quitosana é um polissacarídeo que ocorre naturalmente na natureza ou pode ser derivado a partir da quitina por desacetilação na presença de sais alcalinos. O termo quitosana refere-se a uma família de co-polímeros com várias frações de unidades desacetiladas com estruturas básicas poli[(1 \rightarrow 4)- β 2-amino-2-deoxi-D-glucose].

A quitosana é particularmente interessante em função de sua atividade antimicrobiana ¹, associada a uma excelente capacidade de formar filmes de alta plasticidade. Além disso, apresenta biocompatibilidade e biodegradabilidade o que torna esse polímero interessante em aplicações na agricultura, medicina e indústria alimentícia.

Filmes de quitosana podem ser preparados por *carting* a partir de uma solução precursora ácida e

para usos como revestimento comestíveis sobre produtos naturais, as coberturas são obtidas por simples imersão em solução aquosa ². Quitosana tem, contudo, a desvantagem de ser altamente hidrofílica. Sua estrutura é composta de um alto número de grupos amino (NH₂) e hidroxila (OH), que sendo altamente polares favorecem a absorção de água. Essa absorção induz intumescimento e, conseqüentemente, eleva a permeabilidade e reduz a estabilidade estrutural do filme.

Para reduzir essa característica, este trabalho avalia o efeito da deposição de camada hidrofóbica sobre a superfície da quitosana através da polimerização de composto organossilano por técnica de plasma a frio. O gás precursor foi o hexametildissilazana (C₆H₁₉Si₂N), comumente referido como HMDS. Este polimeriza em estruturas do tipo silicone com fortes ligações Si–N–Si, em adição a Si–O–Si, Si–

H, Si-C, C-H, e C=O, que na presença de grupos CH₃ apresentam alta resistência à permeação de água³, além de apresentar baixa toxicidade⁴.

Materiais e métodos

Solução aquosa com 1.0 wt% de quitosana (média massa molar, da Sigma-Aldrich) foi preparada por dissolução em 1% de ácido acético sobre agitação moderada. A mistura foi aquecida a 30-40 °C para facilitar a dispersão. Os filmes foram obtidos por espalhamento (*casting*) sobre placas de acrílico. A evaporação do solvente se deu espontaneamente e as películas removidas. A espessura foi medida com micrometro tomando a média de 5 valores em posições aleatórias em cada amostra.

O plasma empregado foi HMDS + O₂ em um reator convencional de placas paralelas (PlasmaLab 80Plus, Oxford Instruments). Os parâmetros instrumentais foram: potência aplicada de 60W, frequência: 13.56 MHz, pressão interna de 180mTorr por 2 min.

Os ângulos de contatos foram medidos usando água deionizada em equipamento Tante-meter, tomando a média de 6 gotas em cada superfície. O grau de intumescimento foi avaliado de acordo com ensaio de imersão⁵ e expresso em porcentagem de água absorvida comparada com a massa seca inicial. A permeabilidade ao vapor de água (WVP) foi determinada usando uma adaptação do método do copo⁶, sendo as medidas tomadas a cada 2 horas por horas, na temperatura ambiente e a uma umidade relativa de 40%. Os valores de WVP foram calculados normalizando a área exposta (A) e a espessura, de acordo com:

$$WVT = \left(\frac{\text{massa } H_2O \text{ perda}}{\text{tempo} \times A} \right) \cdot \text{espessura}$$

Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata.

Resultados e discussão

O tratamento por plasma de HMDS não altera visualmente as características dos filmes de quitosana, sendo o depósito imperceptível a olho nú. Características espectroscópicas desses depósitos podem ser encontradas na ref.⁷. Com respeito à hidrofobicidade, esta está relacionada com molhabilidade, a qual envolve interações de um líquido (normalmente água) com uma superfície. Genericamente, pode se dizer que um

líquido molha uma superfície se o ângulo formado for $0^\circ < \theta < 90^\circ$ e não molha quando $90^\circ < \theta < 180^\circ$. Para filmes de quitosana não entrecruzadas, encontramos na literatura ângulos em intervalos de 60° ao $>83^\circ$ ⁷. Neste trabalho, o ângulo medido com água deionizada, para os filmes não-tratados e tratados com plasma estão na Tabela I. Um incremento de 24° no ângulo é estatisticamente significativo ($p < 0.05$) e reflete o efeito do implante de grupos hidrofóbicos na superfície do polissacarídeo. Esses valores são similares aos apresentados por Hayakawa et al.³ para superfícies metálicas depositadas com orgasilanos (83°).

Tabela I. Ângulos de contato medidos

Amostra	Ângulo de contacto (°)
Quitosana (controle)	64 ± 2
Filme modificado por plasma	88 ± 3

Materiais hidrofílicos, como a quitosana facilmente incham (intumescem) em contato com a água o que não é desejável para aplicações em embalagens. Com a presença do depósito, em princípio impermeável, é razoável supor que ocorrerá uma redução no volume de água absorvida. Neste sentido, a Figura 1 compara os graus de intumescimento para os filmes após 24 horas de imersão. O valor para amostras não tratadas está em concordância com as encontradas na literatura⁸. A redução de ganho de massa próxima de 30% observada para os filmes tratados indicam a eficiência da camada de HDMS em inibir a absorção de água pelo filme.

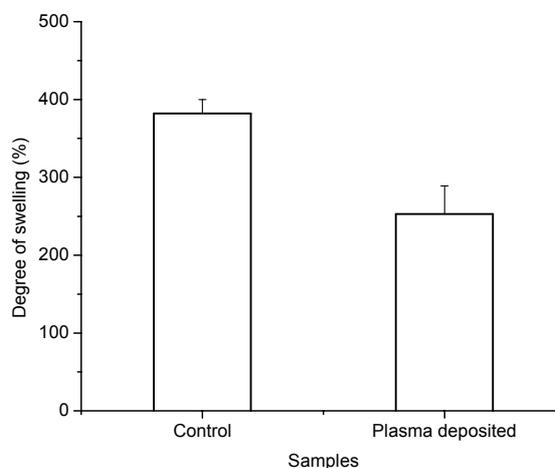


Figura 1. Grau de intumescimento medido em

filmes tratados e não-tratados com plasma de HMDS.

Com respeito ao coeficiente de permeabilidade para vapor de água (WVP), os valores obtidos em amostras tratadas e não tratadas estão ilustrados na Figura 2. Esses valores confirmam a impermeabilidade à água da camada de HMDS.

A deposição de hexametildissilazana é um procedimento bastante conhecido e normalmente os filmes crescidos não são superiores a 300 nm e não interferem na estrutura interna do filme polimérico⁹. Apesar do depósito ser vítreo, os resultados indicam sua viabilidade em reduzir a permeação de umidade em filmes de quitosana.

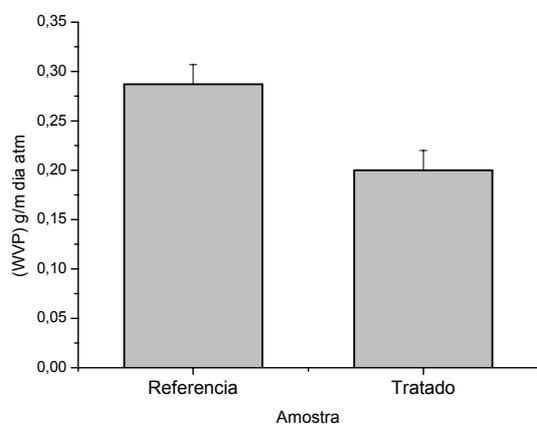


Figura 2. Valores de permeação a vapor de água (WVP) para os filmes avaliados.

Conclusões

A polimerização de plasma de HMDS sobre substrato orgânico, embora seja um processo complexo e envolva diversos parâmetros experimentais, forma filmes com baixo grau de molhabilidade. Essas superfícies hidrofóbicas, apresentaram nos testes sobre filmes de quitosana

uma boa redução nos valores de permeação de vapor e no intmescimento, sendo uma técnica com potencial a ser aplicada sobre superfícies hidrofílicas de interesse em embalagens e similares.

Referências

- 1 DEVLIEGHERE, F. et al. **Food Microbiology**, [S. l.], V. 21, P. 703-714, 2004.
- 2 ASSIS, O. B. G.; PESSOA, J. D. C. **Braz. J. of Food Sci. Technology**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 17-22, 2004.
- 3 HAYAKAWA, T. **Biomaterials**, [S. l.], V. 25, P. 119-127, 2004.
- 4 WROBEL, A.M.; WERTHEIMER, M. R. Plasma polymerized organosilicones and organometallics. In: **PLASMA Deposition, Treatment, and Etching of Polymers**. [S. l.]: Academic Press, 1990. p. 163-268.
- 5 liu, Y-L, et al. **J. Membrane Sci.**, [S. l.], v. 251, p. 233-238, 2005.
- 6 HAN, C. et al. **Postharvest Biology and Technology**, [S. l.], V. 33, P. 67-78, 2004.
- 7 ASSIS, O.B.G.; HOTCHKISS, J.H. **Packaging Technology and Science**, [S. l.], V. 20, P. 293-297, 2007.
- 8 MANGALA, E. et al. **Trends Biomater. Artificial Organs**, [S. l.], V. 17, N. 1, P. 34-40, 2003.
- 9 SOBRINHO, A.S.S. et al. **J. Vac. Sci. Technol. A.**, [S. l.], v. 18, p. 149-157, 2000.



OBTENÇÃO DE SAIS DE QUITOSANA HIDROSOLÚVEIS POR REAÇÃO COM DIMETILSULFATO

Douglas de Britto e Odilio B.G. Assis

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP
britto@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

Resumo

Uma nova metodologia para a síntese de N,N,N-trimetilquitosana é apresentada empregando dimetilsulfato como agente metilante. O dimetilsulfato não é apenas mais eficiente na reação mas consideravelmente mais barato que os compostos geralmente empregados para este fim. O derivado resultante foi caracterizado por FTIR e ¹H NMR. O grau de substituição \overline{DQ} foi estabelecido em 52,5 % após 6 horas de reação na temperatura ambiente. A N,N,N-trimetilquitosana apresenta cargas permanentes em sua cadeia polimérica, tornando-se um polímero solúvel em uma ampla faixa de pHs. Este material é indicado para emprego na área alimentícia e na confecção de filme e coberturas com alta biocompatibilidade e aderência.

Palavras-chave: quitosana, dimetilsulfato, reação de quaternização, quitosana hidrossolúvel.

Introdução

O sal quaternário de quitosana (N,N,N-trimetilquitosana - TMC) consiste em um polímero com caráter catiônico hidrossolúvel. O processo de quaternização desse polissacarídeo se dá pela introdução de cargas positivas permanentemente introduzidas na cadeia polimérica ¹ fazendo com que a solubilidade se dê em uma ampla faixa de pH enquanto o polímero mãe é solúvel apenas em pH < 6,5, ou seja, próximo ao seu pKa ². Diversos estudos têm indicado que a quitosana trimetilada apresenta algumas vantagens com relação ao polímero base como melhor biocompatibilidade e características filmogênicas ³.

A TMC pode ser sintetizada tanto pela adição de um substituinte covalente contendo um grupo

amônio ou pela quaternização de grupos amino no polímero parente ¹. Uma possibilidade de reação bastante viável é a síntese de sais quaternários empregando dimetilsulfato como agente metilante, que tem sido empregado com sucesso pelo grupo ⁴, sendo o processo objeto de recente solicitação de patente ⁵.

O interesse na produção de TMC recai em sua boa capacidade filmogênica ⁶ associada as propriedades bactericidas, descritas como resultado da interação iônica entre as cargas positivas das cadeias de quitosana e a superfície negativamente carregada da superfície das bactérias ⁷, além de sua capacidade filmogênica.

Materiais e métodos

Quitossana foi adquirida da Polymar (CE, Brasil); Dimetilsulfato e demais reagentes foram adquiridos da Vetec.

A metilação se deu na temperatura ambiente, cujos detalhes da reação, nesta e em outras temperaturas, podem ser encontrados em ⁴. Basicamente a seqüência de metilação compreende na suspensão de 1,0 g de quitossana (0,005 mol) em 16 cm³ de dimetilsulfato e 4 cm³ de água deionizada. 1,2 g de NaOH (0,015 mol) e 0,88 g de NaCl (0,015 mol) foram adicionados sob agitação. Após filtragem em membranas de celofane o produto final é obtido por precipitação em acetona. O material foi caracterizado por espectroscopia de FTIR. e ¹H NMR foi empregado para a determinação dos graus de acetilação (*DA*) e de quaternização (*DQ*), conforme metodologia previamente descrita ⁸.

Resultados e discussão

O espectro de ¹H-NMR está na Figura 1, sendo os seus principais pontos identificados em trabalhos previamente publicados ^{4,9}. O importante neste espectro pode ser resumido como as bandas em $\delta \cong 3,18$ atribuídas ao átomo de hidrogênio ligado ao carbono 2 do anel glicopiranosose e em $\delta \cong 1,99$ que corresponde aos átomos de hidrogênio nas porções metil dos grupos acetamido. A relação entre as intensidades desses dois sinais permitiram determinar o grau médio de acetilação da quitossana em *DA* = 9%.

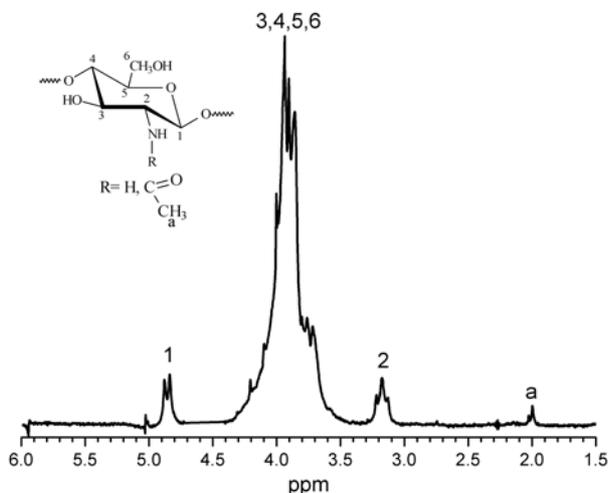


Figura 1. Espectro de ¹H-NMR da quitossana dissolvida em D₂O/HCl (100:1 v/v).

As evidências da ocorrência de N-metilação podem ser identificadas na região compreendida entre 2,47 δ <math>< 3,37</math> do espectro da Figura 2. Para a área abaixo desse sinal atribui-se átomos de hidrogênio ligado ao carbono C1, permitindo calcular o valor de *DQ* seja calculado em 5,2%. Por espectroscopia de FTIR o evento de metilação também pode ser observado.

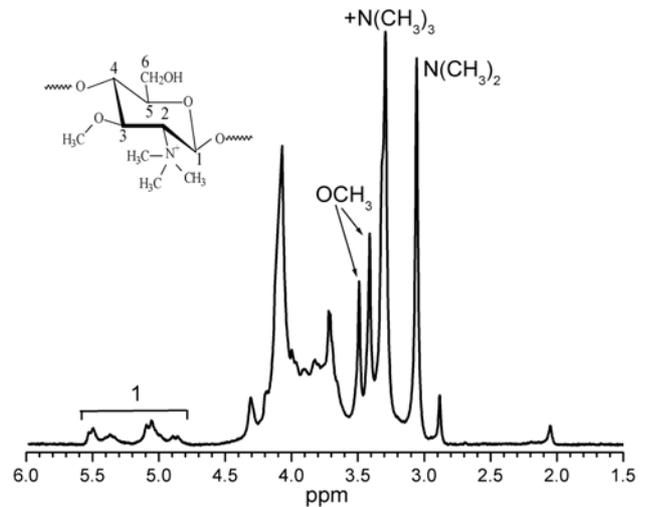


Figura 2. Espectro de ¹H-NMR do derivado dissolvido em D₂O.

Comparando os espectros da quitossana e dos derivados no intervalo de 1700-1200 cm⁻¹, Figura 4, as principais alterações são: (a) no espectro do derivado, a banda centrada em 1475 cm⁻¹, corresponde ao estiramento assimétrico da ligação C-H nos grupos metil, a qual não está presente na quitossana inicial e (b), a banda devido a deformação da ligação N-H nos grupos amino, identificada próxima a 1590 cm⁻¹, são reduzidas para os derivados, sendo o sinal sobreposto em 1630 cm⁻¹.

Os derivados de quitossana mostraram boa capacidade filmogênica, onde observou-se que para baixo grau de substituição os filmes, embora transparentes, apresentam uma ligeira coloração tirante a amarela.

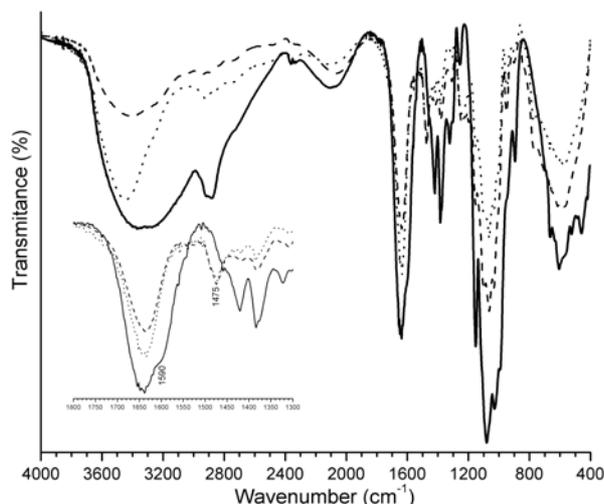


Figura 3. Espectro de FTIR da e dos derivados.

Conclusões

O uso de dimetilsulfato como agente metilante para a síntese de N,N,N-trimetilquitosana mostrou-se eficiente. A intensidade da metilação foi de 52,5% e as espectroscopias de NMR e FTIR permitiram identificar as principais alterações na estrutura polimérica. A quitosana hidrossolúvel tem diversas aplicações na área de alimentos e para a confecção de filmes biocompatíveis.

Referências

- 1 CURTI, E., BRITTO, D.; CAMPANA-FILHO, S.P. Methylation of chitosan with iodomethane: Effect of reaction conditions on chemoselectivity and degree of substitution. **Macromolecular Bioscience**, [S. l.], v. 3, n. 10, p. 571-576, 2003.
- 2 SIGNINI, R.; CAMPANA-FILHO, S.P. Characteristics and properties of purified chitosan

in the neutral, acetate and hydrochloride forms. **Polímeros**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 58-64, 2001.

3 JIA, Z., SHEN, D.; XU, W. Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan. **Carbohydrate Research**, [S. l.], v.33, p. 1-6, 2001.

4 BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. A new method for obtaining of quaternary salt of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 69, p. 305-310, 2007.

5 BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. Obtenção de N,N,N-Trimetilquitosana por Método Simplificado Empregando Dimetilsulfato Como Agente Metilante. Solicitação de Patente depositada em 16/03/2007 - Protocolo 0120700262 INPI/DE-DF. 2007.

6 BRITTO, D.; CAMPANA FILHO, S.P.; ASSIS, O.B.G. Mechanical Properties of N,N,N-trimethylchitosan Chloride Films. **Polímeros**, v. 15, n. 2, p. 129-132, 2005.

7 KIM, C.H. et al. Synthesis of chitosan derivatives with quaternary ammonium salt and their antibacterial activity. **Polymer Bulletin**, [S. l.], v. 38, p. 387-393, 1997.

8 CURTI, E.; BRITTO, D.; CAMPANA FILHO, S. P. Methylation of chitosan with iodomethane: Effect of the reaction conditions on the chemoselectivity and degree of substitution. **Macromolecular Bioscience**, [S. l.], v.10, n.3, p.571-576, 2003.

9 BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application. **Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 41, p. 198-203, 2007.



AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO USO DE COBERTURAS A BASE DE ZEÍNAS COMO REVESTIMENTO PROTETOR DE FRUTAS

Juliana A. Scramin (1,2), Douglas de Britto (1), Odilio B.G. Assis (1), Luiz A. Colnago (1),
Lucimara A. Forato (1)*

(1) Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

* lucimara@cnpdia.embrapa.br

(2) Centro Universitário Paulista - UNICEP, São Carlos-SP

ju@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

Resumo

Neste trabalho foram processados filmes finos a base de zeínas obtidas a partir do glúten de milho, fazendo uso de adições variadas de ácido oléico como plasticante. Caracterizaram-se as bandas típicas das proteínas obtidas por espectroscopia de FTIR. Maçãs e pêras foram revestidas e, de forma preliminar, avaliadas ao longo de 43 dias de armazenamento em condições ambientais não controladas, com respeito à aparência e perda de massa. De uma forma geral todos os filmes reduzem a senescência dos frutos, sendo, contudo, o melhor resultado obtido para a combinação de zeínas com 0,5% de ácido oléico.

Palavras-chave: zeínas, revestimentos comestíveis, pós-colheita, ácido oléico.

Introdução

As prolaminas são proteínas de reserva de cereais e são ricas em prolina e glutamina¹. No milho, as prolaminas são denominadas zeínas e representam cerca de 80% das proteínas totais do milho.

As zeínas encontram-se predominante no endosperma do milho e são consideradas proteínas de baixo valor nutricional devido a um desequilíbrio de aminoácidos essenciais provocado pelo alto teor de leucina e pela deficiência de lisina e triptofano². No entanto estas proteínas têm diversas aplicações tecnológicas.

As zeínas podem ser extraídas através de interação com álcool e com agentes redutores de dissulfeto e são classificadas em grupos α , β , γ e δ . As zeínas α compreendem as proteínas de 19

KDa (Z19) e 22 KDa (Z22), quando caracterizadas por eletroforese, constituindo de 75 a 85% das zeínas totais³.

O interesse tecnológico pelas zeínas, assim como pela maioria das matérias primas de origem biológica, está na possibilidade destes biopolímeros substituírem derivados de petróleo, principalmente por serem biodegradáveis e renováveis, contribuindo para a redução de impactos ambientais.

No caso das zeínas, em função de algumas propriedades como o alto caráter hidrofóbico e sua capacidade filmogênica, associada a uma baixa permeabilidade ao oxigênio e a vapores de água, possibilita o uso desse material como matéria prima para a confecção de filmes flexíveis comestíveis, ideais para cobertura e preservação de medicamentos e alimentos⁴. O emprego de

filmes comestíveis sobre frutas e legumes é uma tecnologia recente e objetiva melhorias no processo pós-colheita e podem minimizar perdas nas etapas de manuseio, armazenamento e transporte. Avaliações em frutas oleaginosas indicaram bons resultados na redução da oxidação de lipídios instaurados⁵.

Neste trabalho filmes a base de zeínas e ácidos oléicos são caracterizados e preliminarmente avaliados como revestimento sobre maçãs e pêras.

Materiais e métodos

As zeínas foram extraídas a partir do glúten de milho (CGM), por reação com etanol a 70% e precipitadas em rotaevaporador, seguido de liofilização. Essas proteínas foram avaliadas por SDS/PAGE (SDS-Sodium Dodecyl Sulfate e PAGE-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis).

As absorvâncias na região do IV foram caracterizadas em espectrômetro de FTIR (Perkin Elmer - Paragon 1000). Os espectros foram obtidos com 16 varreduras, resolução de 4 cm⁻¹ na região de 4000 a 400 cm⁻¹, em amostras liofilizadas, preparadas sob forma de pastilhas de KBr (1 mg da proteína e 100 mg de KBr).

Os filmes de zeínas foram preparados a partir de soluções aquosas de etanol a 70%, na concentração de 4,2 % de proteína. A concentração de ácido oléico (AO) adicionado como plastificante variou em 0,25; 0,5 e em 1,0 % em massa.

Para avaliação do potencial uso dessas formulações como revestimentos protetores, maçãs e pêras adquiridas no comércio local foram revestidas. Lotes de 30 frutas no total, sendo 15 pêras e 15 maçãs, foram higienizadas e separadamente imersas nas soluções de diferentes concentrações de plastificante por aproximadamente 2 segundos. Após a evaporação espontânea do solvente as frutas foram armazenadas em condições não controladas.

Além do controle visual, as frutas foram pesadas diariamente determinando-se comparativamente a variação da perda de massa para as diversas formulações. As medidas foram realizadas até a total degradação dos frutos.

Resultados e discussão

As análises por eletroforese das zeínas de glúten de milho extraídas com etanol revelaram bandas em 19KDa e 22KDa, que correspondem à zeínas α . O resultado indica que a extração das proteínas se deu de forma satisfatória.

No espectro de infravermelho (Figura 1), podem ser identificadas bandas típicas de proteínas, ou seja, bandas de amida I (em 1600 – 1700 cm⁻¹) e amida II (em 1450 – 1550 cm⁻¹). Também foram observadas absorções em regiões correspondentes a amida A (em 3100 cm⁻¹) para amida III (em 1200-1300 cm⁻¹).

Com respeito ao revestimento, os frutos cobertos, de uma forma geral, apresentaram uma menor perda de massa ao longo do período avaliado, indicando uma redução principalmente na perda de água, o que comprova o caráter protetor dos filmes de zeínas. As propriedades hidrofóbicas desses filmes em função da concentração de plastificante já foram caracterizadas previamente pelo grupo^{5,6} e dentre as diversas formulações o melhor resultado nas frutas avaliadas foi à combinação de zeínas com 0,5% de AO para ambas frutas.

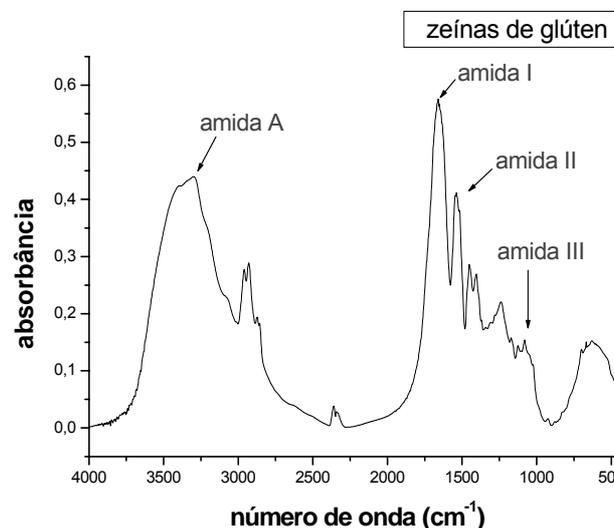


Figura 1: Identificação das principais bandas de absorvância (região de 4000 a 400 cm⁻¹) no espectro de infravermelho, das zeínas extraídas do glúten.

Não somente a perda de massa, mas os filmes preservam a aparência dos frutos, conforme exemplos ilustrativos apresentados na Figura 2.

Para as pêras o processo de degradação é muito mais rápido, sendo as alterações visíveis após curto período de armazenamento.

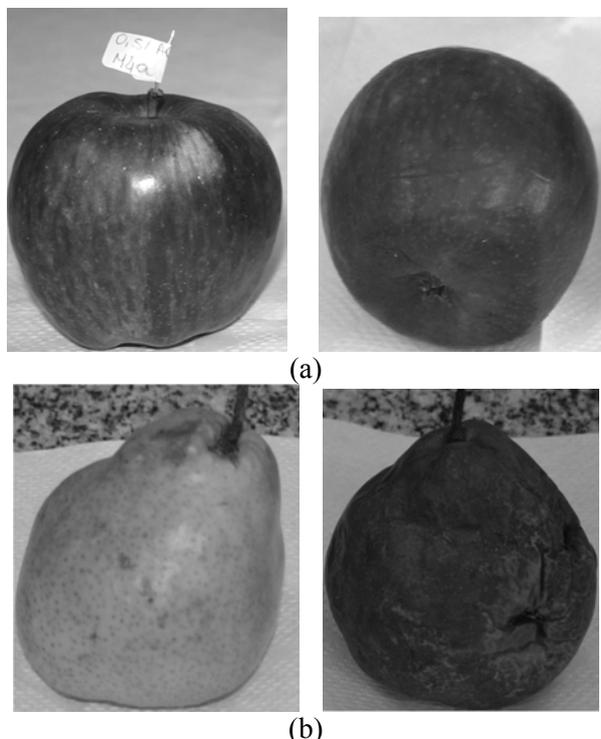


Figura 2. Exemplos ilustrativos da aparência de maçãs (a) e pêras (b) revestidas respectivamente. Para as maçãs, após 28 dias de guarda e para as pêras as imagens correspondem a 13 dias.

Conclusões

Zeínas podem facilmente serem transformadas em filmes flexíveis com a adição de pequenas concentrações de plastificante. Nas condições aqui avaliadas os filmes mostraram eficiência na redução de senescência em pêras e maçãs, sendo a

combinação que apresentou melhores resultados foi a solução com 4,2% de zeínas com adição de 0,5% de AO.

Referências

- 1 LASZTITY, R. **The Chemistry of Cereal Proteins**. 2nd ed. New York: CRC Press, 1996.
- 2 NAUMANN, D. In: MEYERS, R. A. (Ed.). **Infrared spectroscopy in microbiology, Encyclopedia of Analytical Chemistry**. Chichester: . John Wiley & Sons Ltd, 2000. p.102-131.
- 3 FORATO, L.A. **Estudos das estruturas das zeínas por RMN, FTIR e MFA**.2000. Tese (doutorado) - IQSC/USP, São Carlos.
- 4 PARRIS, N.; COFFIN, D.R. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic zein films. **J of Agricultural Food Chem.**, [S. l.], v.45, p.1596-1599, 1997.
- 5 COVRE, L. M. et al. Preliminary Evaluation of Antioxidant Efficiency of Zeins Coatings on Macadamia Nuts. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF MACADAMIA, 3., 2006, São Pedro, SP. [**Proceedings...** S. l.: s. n.], 2006. p. 93-96.
- 5 SCRAMIN, J.A. et al. Surface wetting and DMA characterization of zein/oleic acid based films. In: INTERN. SYMP. ON NATURAL POLYMER AND COMPOSITES, 6., Gramado, RS., 2007. Proceedings... [S.l.: s. n.], 2007. 4 p. Paper 117.
- 6 FORATO, L.A.; YUSHMANOV, V.E.; COLNAGO, L.A. Interaction of two prolamins with 1-¹³C oleic acid by ¹³C NMR. **Biochemistry.**, [S. l.], v. 43, n. 22, p. 7121–7126, 2004.



UTILIZAÇÃO DO MICROELETRODO DE Au MODIFICADO COM PHMB PARA A ANÁLISE DE METIL PARATION

Renata A. de Toledo; Paulo R. V. da Silva Junior; Gustavo F. de Paula; Luiz Henrique C. Mattoso e Carlos M. P. Vaz*

Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

* vaz@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de utilização da biguanida polimérica PHMB (cloridrato de polihexametileno biguanida) como modificador da superfície do microeletrodo de ouro ($\phi = 12 \mu\text{m}$) para a análise do pesticida metil paration. O filme de PHMB foi depositado por automontagem sobre o microeletrodo após um tempo de imersão de 5 minutos. O pesticida apresentou um pico de redução em $-0.75 \text{ V vs. } E_{\text{SCE}}$ sobre o microeletrodo de Au/PHMB com características de processo irreversível. Curvas analíticas foram construídas no intervalo de 1,0 a $54,0 \text{ mg L}^{-1}$ com boa linearidade ($r^2 = 0.999$). Os limites de quantificação e de detecção foram iguais a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ e $59,3 \mu\text{g L}^{-1}$. Estudos estão em andamento para avaliar a eletroatividade de outros pesticidas sobre o microeletrodo de Au/PHMB, tais como o glifosato, a atrazina e o imazaquim.

Palavras-chave: microeletrodo de ouro, PHMB, automontagem, metil paration e determinação analítica

Introdução

O metil paration (MP, Figura 1) é um inseticida pertencente à classe dos pesticidas organofosforados e é altamente tóxico (classe toxicológica II).

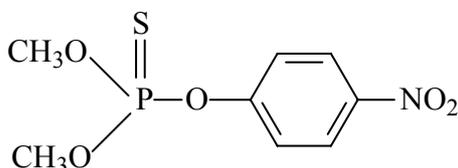


Figura 1. Estrutura química do metil paration.

Nos últimos anos, vários métodos analíticos foram desenvolvidos para a determinação do MP, nas mais variadas matrizes, empregando a cromatografia ¹, os imunoenaios ², a espectroscopia Raman ³, entre outros. No entanto, o alto custo da instrumentação e dos reagentes

utilizados nessas análises são responsáveis pela popularidade dos métodos eletroanalíticos. Dentre os eletrodos empregados para a análise do MP, podem-se citar o eletrodo de gota pendente de mercúrio ⁴ e os biossensores enzimáticos ⁵, os quais são caracterizados por apresentar grande toxicidade e alto custo das enzimas, respectivamente. Estes fatores impulsionam o desenvolvimento de novos eletrodos para a análise deste pesticida, uma vez que sua aplicação na agricultura é bastante comum e conseqüentemente o seu monitoramento em solos, águas naturais e em alimentos torna-se imprescindível. Os microeletrodos são versáteis para as aplicações *in situ* em razão da possibilidade de se realizar análises em soluções de baixa condutividade elétrica. A modificação da superfície dos microeletrodos com vários materiais poliméricos é uma área em franco

desenvolvimento que tem por objetivo alterar a reatividade e a seletividade do sensor base ⁶.

O cloreto de polihexametileno biguanida (PHMB), cujo monômero é apresentado na Figura 2, é um polímero de caráter catiônico muito utilizado como bactericida.

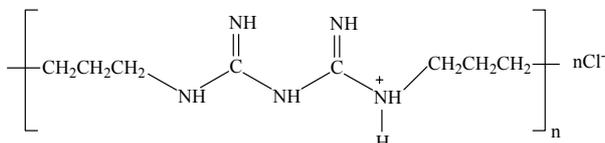


Figura 2. Monômero do PHMB.

Não existem trabalhos na literatura que abordem o desenvolvimento de microeletrodos com filmes nanoestruturados de PHMB, o que nos incentivou a avaliar a possibilidade de se utilizar este polímero catiônico como modificador da superfície do microeletrodo de Au para posterior análise de vários pesticidas, dentre eles o metil paration.

Materiais e métodos

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica (Sigma) e foram usados sem purificação prévia. As soluções foram preparadas utilizando água purificada em sistema Milli-Q da Millipore[®]. A solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ foi preparada a partir do ácido fosfórico e do sal monohidrogeno fosfato dissódico. A solução estoque de MP (2216 mg L⁻¹) foi preparada em etanol. As medidas voltamétricas foram realizadas em um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB[®] PGSTAT30, em uma célula convencional de vidro Pirex[®], com tampa em Teflon[®] para o posicionamento dos eletrodos de trabalho (microeletrodo de ouro ($\phi = 12 \mu\text{m}$)), de referência (eletrodo de calomelano saturado) e auxiliar (fio de platina). O filme nanoestruturado de PHMB foi depositado por automontagem sobre o microeletrodo de Au por imersão na solução aquosa do polímero ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) por um período de 5 minutos.

Resultados e discussão

Para constatar a deposição do filme de PHMB na superfície do eletrodo de ouro, voltamogramas cíclicos foram registrados em vários tempos de deposição (1 a 5 minutos, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ e pH 6,8). Ao aumentar o

tempo de deposição, foi observada uma diminuição dos picos referentes à oxidação e à redução do óxido de ouro, o que sugere a modificação da superfície do microeletrodo pela adsorção do polímero PHMB nos sítios ativos deste substrato. A imersão do microeletrodo por tempos superiores a 5 minutos não promoveu uma inibição considerável dos picos de oxidação e redução do óxido. Por esta razão, no decorrer dos experimentos, foi utilizado o tempo imersão de 5 minutos. A caracterização eletroquímica do microeletrodo Au/PHMB foi realizada em solução de ferricianeto de potássio $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O voltamograma cíclico para o microeletrodo modificado apresentou corrente difusional ($I_d = 7,7 \text{ nA}$) superior ao eletrodo de Au sem modificação ($I_d = 5,6 \text{ nA}$), o que é um indicativo do aumento da área eletroativa do microeletrodo com a adsorção do PHMB.

A estabilidade do filme de PHMB foi avaliada por meio de sucessivas ciclagens de potencial (Figura 3). Após 75 ciclos, verificou-se que o perfil voltamétrico do microeletrodo modificado é semelhante ao registrado para o microeletrodo de ouro sem modificação, indicando a baixa estabilidade eletroquímica do polímero em varreduras com potenciais anódicos.

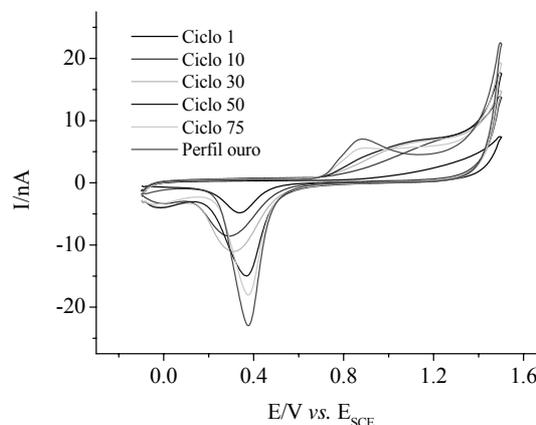


Figura 3. Avaliação da estabilidade do filme de PHMB após sucessivas ciclagens de potencial. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Eletrólito: tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,8).

A eletroatividade do MP no microeletrodo de Au/PHMB foi avaliada conforme apresentado na Figura 4. Os voltamogramas de pulso diferencial foram registrados em uma solução tampão fosfato

0,1 mol L⁻¹ (pH 6,8) contendo 40 mg L⁻¹ do pesticida.

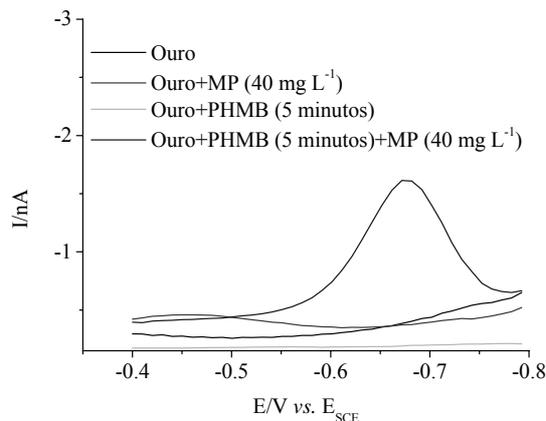


Figura 4. Voltamogramas de pulso diferencial do metil paration (MP) sobre o microeletrodo de Au e de Au/PHMB.

A eletroatividade do MP na superfície do microeletrodo de Au/PHMB pode estar relacionada com a interação eletrostática favorável entre os grupos amina protonados do polímero e o grupo nitro do MP.

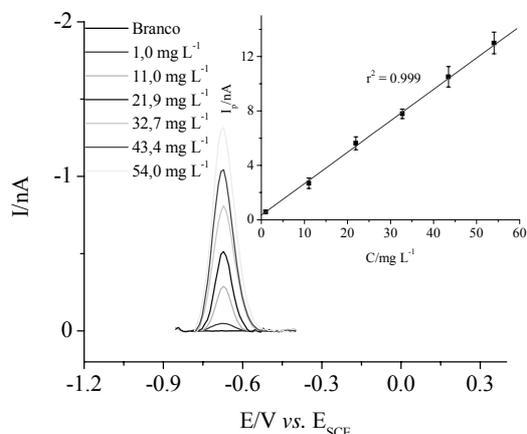


Figura 5. Voltamogramas de pulso diferencial variando a concentração de MP adicionada. Inserido: curva analítica ($r^2 = 0,999$).

$v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$.

Na Figura 5, são apresentados os voltamogramas de pulso diferencial variando a concentração de MP no intervalo de 1,0 a 54 mg L⁻¹. A curva analítica ($n = 3$) apresentou boa linearidade ($r^2 = 0,999$) e a equação da reta é dada por: $I_p \text{ (nA)} = 0,03 \cdot 4,7 \times 10^{-3} + (0,02 \pm 3,0 \times 10^{-4}) \times C \text{ (mg L}^{-1})$. Os

limites de quantificação e de detecção foram iguais a 1,0 mg L⁻¹ e 59,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Conclusões

A utilização do polímero catiônico PHMB como modificador da superfície do microeletrodo de ouro foi bastante satisfatória. Estudos estão em andamento para averiguar a espessura do filme nanuestruturado por microscopia de força atômica e também a melhoraria da sua estabilidade eletroquímica.

A não toxicidade e o baixo custo na aquisição do polímero catiônico PHMB torna-o um material promissor para o desenvolvimento de novos sensores para a análise de compostos orgânicos de interesse biológico e ambiental.

A eletroatividade do pesticida metil paration no microeletrodo de Au/PHMB foi bastante significativa, uma vez que a maioria dos sensores empregados na determinação deste pesticida utilizam enzimas, as quais são muito específicas e relativamente caras.

Deve-se ainda mencionar que outros pesticidas estão sendo testados (glifosato, imazaquim e atrazina) com o objetivo de diagnosticar a eletroatividade dos mesmos na superfície do microeletrodo de Au/PHMB. Após uma avaliação preliminar, serão então desenvolvidas metodologias eletroanalíticas para a determinação dos pesticidas escolhidos em solos, águas naturais e em alimentos.

Referências

- 1 CAPOBIANGO, H. L. V.; CARDEAL, Z. L. J. **Braz. Chem. Soc.**, [S. l.], v. 16, p. 907-914, 2005.
- 2 WANG, S. T.; GUI, W. J.; GUO, Y. R.; ZHU, G. N. **Anal. Chim. Acta.**, [S. l.], v. 587, p. 287-292, 2007.
- 3 SATO-BERRÚ, R. Y.; MEDINA-VALTIERRA, J.; MEDINA-GUTIÉRREZ, C.; FRAUSTO-REYES, C. **Spectrochim. Acta Part A**, [S. l.], v. 60, p. 2231-2234, 2004.
- 4 NI, Y.; QIU, P.; KOKOT, S. **Anal. Chim. Acta**, [S. l.], v. 516, p. 7-17, 2004.
- 5 ALBUQUERQUE, Y. D. T.; FERREIRA, L. F.; **Anal. Chim. Acta.**, [S. l.], V. 596, P. 210-221, 2007.
- 6 PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. **Quim. Nova**, [S. l.], v. 25, p. 1012-1021, 2002.



SÍNTESE DE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS PARA A INCORPORAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS

Marcelo P. Bemquerer*; Mariana T. Quezado de Magalhães; Maura V. Prates e Carlos Bloch Júnior*

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

*cbloch@cenargen.embrapa.br

*mpbemque@cenargen.embrapa.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.03

Resumo

O interesse pelos peptídeos antimicrobianos tem crescido significativamente na medida em que diversas bactérias têm-se tornado resistentes a antibióticos clássicos. A aplicabilidade desses peptídeos também tem despertado interesse em áreas variadas, tais como a produção de plantas transgênicas para expressá-los e a aplicação em indústria de alimentos como conservantes ou como aditivos de embalagens. A maior parte dos peptídeos antimicrobianos causa um tipo de perturbação na membrana bacteriana, que leva à lise e à morte celular. Como os peptídeos antimicrobianos possuem uma cadeia relativamente curta, eles podem ser obtidos por síntese química. Em uma etapa inicial da obtenção de nanoestruturas de peptídeos antimicrobianos, os peptídeos H-GILEAIKAIKAAG-NH₂, H-FFDITLKNLAGKVIGALT-NH₂ e H-FFSMIPKIATGIASLVKLN-NH₂ foram sintetizados pelo método da fase sólida, purificados por cromatografia de fase reversa e caracterizados por espectrometria de massa.

Palavras-chave: Síntese de peptídeos, Peptídeos antimicrobianos, Bionanotecnologia.

Introdução

Peptídeos antimicrobianos são uma ferramenta importante da defesa de animais, plantas e outras bactérias contra microorganismos e patógenos^{1,2}. Uma importante fonte de peptídeos antimicrobianos é a secreção da pele de anfíbios³. Uma grande diversidade estrutural e funcional de peptídeos antimicrobianos é secretada em pele de anfíbios⁴. É importante ainda destacar que aplicações terapêuticas de peptídeos antimicrobianos originalmente secretados em peles de anfíbios têm sido propostas⁵.

Uma aplicação importante, que envolve o campo da bionanotecnologia, é a incorporação de peptídeos antimicrobianos a embalagens de alimentos, com o objetivo de reduzir o risco de

contaminação microbiana do produto e da própria embalagem, assim como aumentar o tempo de prateleira do produto⁶.

Para algumas dessas aplicações é necessária a utilização de peptídeos sintéticos ou de peptídeos obtidos por expressão heteróloga⁷. A síntese em fase sólida é atualmente o método de escolha para a produção de peptídeos de cinco a trinta resíduos de aminoácidos, na escala de miligramas ou gramas. A síntese inicia-se no resíduo C-terminal, que é ligado ao suporte sólido, e prossegue até o último resíduo N-terminal. Embora o custo da síntese em fase sólida ainda seja relativamente elevado, a produção de vários peptídeos sintéticos na escala de toneladas tem sido relatada⁸. Uma vantagem da síntese em fase sólida é que se pode, por exemplo, investigar a atividade

antimicrobiana de peptídeos ligados à própria resina utilizada para a síntese ⁶, normalmente um co-polímero de poliestireno e divinilbenzeno que pode ainda ser modificado com polietilenoglicol ⁹.

O desenvolvimento de nanoestruturas contendo peptídeos sintéticos pode, portanto, ser uma estratégia valiosa para a criação de novos materiais poliméricos com atividade antimicrobiana, cuja aplicação comercial dependerá de avanços que já estão ocorrendo na produção de peptídeos em grande escala ⁸.

Como uma estratégia inicial para a inserção na Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, a Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia implementou a tecnologia de síntese de peptídeos para a incorporação em nanoestruturas metálicas por meio de ligação covalente ou em partículas vítreas por meio de encapsulamento.

Material e métodos

Os peptídeos antimicrobianos, cujas seqüências estão mostradas na Tabela 1, foram sintetizados manualmente pela técnica da fase sólida ⁹ por meio da estratégia química Fmoc (9-fluorenilmetoxicarbonila). Os acoplamentos foram conduzidos com *N,N'*-diisopropiletilcarbodiimida/1-hidroxibenzotriazola (DIC/HOBt) durante 2-3h utilizando-se *N,N*-dimetilformamida (DMF) como solvente. A desproteção do grupo Fmoc foi realizada com uma solução de piperidina a 20% em DMF durante 30min. A clivagem e a desproteção final foram conduzidas com ácido trifluoroacético (TFA) a 90% em volume na presença de sequestradores de carbocátions (água, tioanisol e triisopropilsilano). Os produtos sintetizados foram purificados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-HPLC) e a identidade e a pureza foram confirmadas por espectrometria de massa (MALDI-ToF-ToF, Bruker Ultraflex 2).

Tabela 1. Seqüências e massas moleculares $[M+H]^+$ dos peptídeos antimicrobianos sintetizados.

Seqüência	$[M+H]^+$
H-GILEAIKAIKAAG-NH ₂	1324,9
H-FFFDTLKKNLAGKVIGALT-NH ₂	1954,2
H-FFSMIPKIATGIASLVKNL-NH ₂	2049,2

Resultados e discussão

Peptídeos antimicrobianos podem ser ferramentas importantes para diversas aplicações biotecnológicas. Na área de nanobiotecnologia, tais moléculas podem ser incorporadas em embalagens de alimentos.

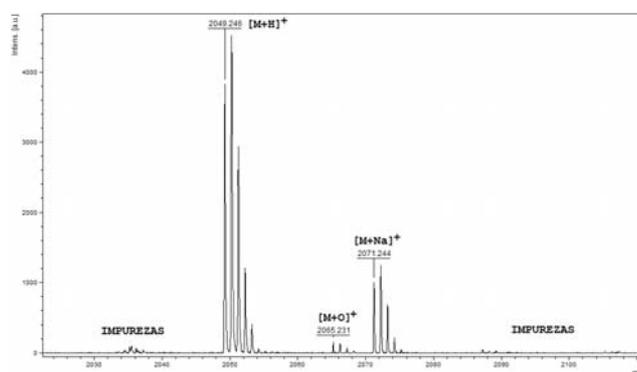
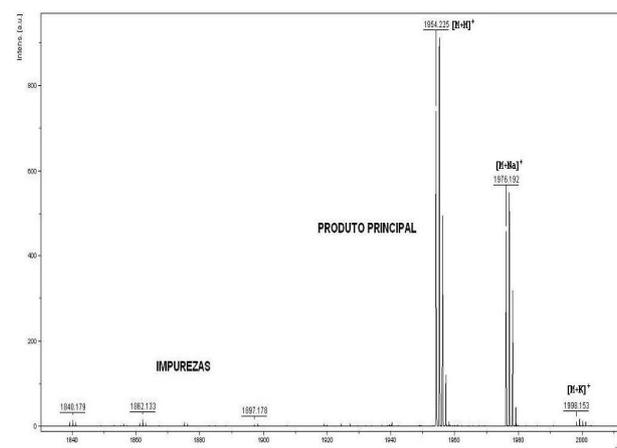
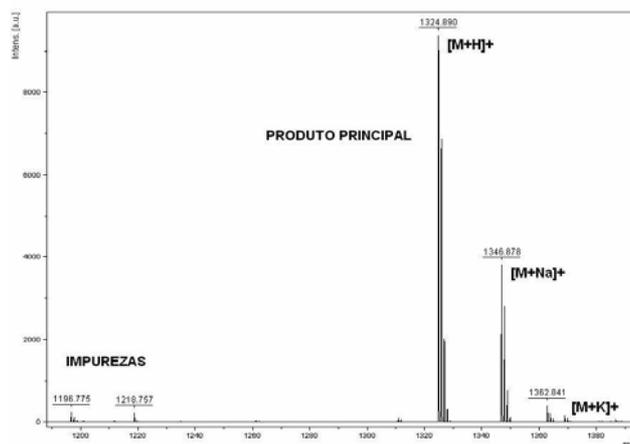


Figura 1. Espetro de massa dos peptídeos sintéticos apresentados na Tabela 1, antes da purificação.

Com o objetivo de obter peptídeos antimicrobianos para a incorporação em partículas vítreas ou em nanopartículas de alumina, a tecnologia para síntese de peptídeos em fase sólida foi implementada na EMBRAPA-Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram sintetizados e caracterizados por espectrometria de massa os peptídeos apresentados na Tabela 1. Os três produtos foram obtidos com grau elevado de pureza, conforme mostra a análise dos espectros de massa dos mesmos (Figura 1). Os peptídeos brutos foram analisados por cromatografia de fase reversa. A Figura 2 mostra o cromatograma analítico do peptídeo H-GILEAIKAIKAAG-NH₂ e a Figura 3 mostra a confirmação de sua seqüência por espectrometria de massa *in tandem* (MALDI-ToF-ToF). Os resultados foram semelhantes para os outros dois peptídeos, sendo que o produto principal do cromatograma analítico sempre correspondeu ao peptídeo esperado, cuja seqüência foi confirmada por espectrometria de massa (MALDI-ToF-ToF).

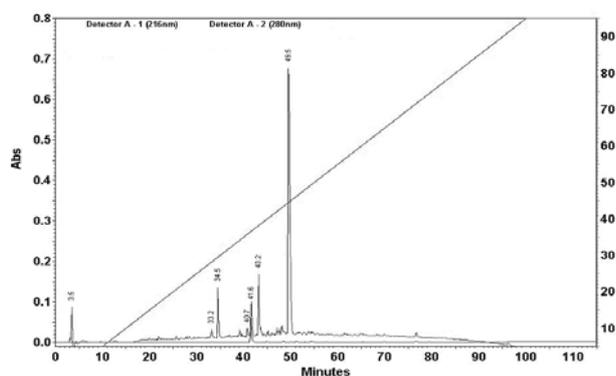


Figura 2. Cromatograma analítico do peptídeo sintético bruto H-GILEAIKAIKAAG-NH₂. O traço rosa indica a concentração de acetonitrila.

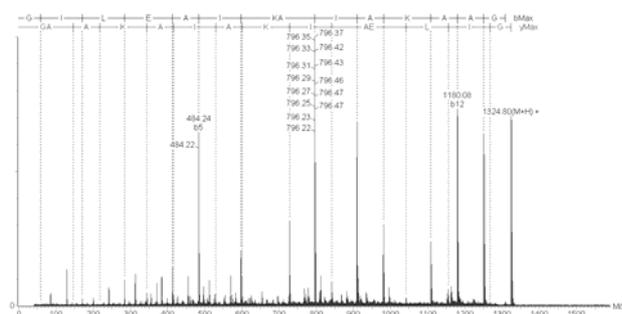


Figura 3. Espectro de massa de seqüenciamento do peptídeo purificado H-GILEAIKAIKAAG-NH₂.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que a primeira etapa da produção de materiais nanoestruturados contendo peptídeos antimicrobianos, que é a obtenção das biomoléculas sintéticas com pureza elevada (superior a 95%), foi alcançada.

Referências

- ZASLOFF, M. **Nature**, [S. l.], V. 415, P. 389-395, 2002.
- HANCOCK, R. E. W, SAHL, H-G. **Nature Biotechnol.**, [S. l.], V. 24, P. 1551-1557, 2006.
- PRATES, M. V.; SFORÇA, M. L.; REGIS, W. C. B.; LEITE, J. R. S. A.; SILVA, L. P.; PERTINHEZ, T. A.; ARAÚJO, A. L. T.; AZEVEDO, R. B.; SPISNI, A.; BLOCH Jr., C. J. **Biol. Chem.**, [S. l.], v. 279, p. 13018-13026-, 2004.
- Pukala, T. L.; Bowie, J. H.; Maselli, V. M.; Musgrave, I. F.; Tyler, M. J. **Nat. Prod. Rep.**, [S. l.], V. 23, P. 368-393, 2006.
- CONLON, J. M.; AL-GHAFFERI, N.; ABRAHAM, B. J. **Leprince. Methods**, [S. l.], V. 42, P. 349-357, 2007.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, [S. l.], V. 3, P. 113-126, 2002.
- INGHAM, A. B.; MOORE, R. J. **Biotechnol Appl Biochem.**, [S. l.], v. 47, p. 1-9, 2007.
- BRUCKDORFER, T.; MARDER, O.; ALBERICIO, F. **Curr. Pharm. Biotechnol.**, [S. l.], v. 5, p. 29-43, 2004.
- CHAN, W. C.; WHITE, P. D. **Fmoc solid phase peptide synthesis: A practical approach**. Oxford: Oxford University Press, 2000.



USO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS EM ABACAXI MINIMAMENTE PROCESSADO

Paulo Ricardo Nascimento Viana⁽²⁾; Murillo Freire Júnior⁽¹⁾; Lourdes Maria Corrêa Cabral⁽¹⁾;

1. Embrapa Agroindústria de Alimentos - Avenida das Américas, 29501 -Rio de Janeiro – RJ – CEP 23020-470. E-mail: mfreire@ctaa.embrapa.br.
2. Universidade Estácio de Sá – Campus Vargem Grande) - Graduando/Estagiário

Projeto Componente: PC3 Plano de Ação: 01.05.1.01.03.04

Resumo

O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis tem como finalidade preservar a qualidade e aumentar a vida útil de produtos minimamente processados, sem alterar as suas características naturais. É de grande interesse para o caso de frutas e hortaliças frescas o uso de filmes ou revestimentos comestíveis já que estes têm o potencial de reduzir a perda de umidade, restringir a entrada de oxigênio, diminuir a respiração, retardar a produção de etileno, reter aromas voláteis e carrear aditivos para retardar a descoloração e o crescimento microbiano. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de filmes comestíveis em algumas características físico-químicas do abacaxi cv. Pérola minimamente processado. O abacaxi foi lavado em água corrente, sanificado com 200 ppm de cloro, descascado, pré-cortado e suas secções foram sanificadas a 30 ppm de cloro, drenadas e imersas durante dois minutos nas soluções: i) água destilada (tratamento controle); ii) quitosana e iii) Carboximetilcelulose (CMC), a 5°C. Em seguida os pedaços foram drenados, acondicionados em embalagens plásticas de polietileno tereftalato (PET) e armazenados a 10°C, simulando a temperatura geralmente encontrada nos estabelecimentos comerciais. As análises físico-químicas foram realizadas durante os nove dias de armazenamento e a cada três dias foram determinados: sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT), carotenóides totais, cor, firmeza e perda de peso. Os resultados obtidos para sólidos solúveis (SST), acidez total titulável (ATT), firmeza, perda de peso e côr (valor L e b) não apresentaram diferenças entre os tratamentos utilizados, durante todo o armazenamento. As amostras revestidas com CMC foram as que apresentaram a maior perda de massa (7,99%) em relação àquelas revestidas com quitosana (5,22%) e com o controle (5,18%). Os valores obtidos para carotenóides totais variavam de 30 a 60 µg por 100 gramas da amostra. Através de análises sensoriais da aparência todos os tratamentos não ultrapassaram aos seis dias de armazenamento sem comprometer sua qualidade visual.

Palavras chave: abacaxi, filmes comestíveis, quitosana, vida útil, carboxi metil celulose.

Introdução

A demanda por frutos e hortaliças, tanto frescos como semi-processados, levou o mercado a uma grande e diversificada produção de novos produtos comerciais que estão sendo oferecidos ao consumidor. Os alimentos minimamente processados tem se expandido devido à necessidade que os consumidores têm de adquirir produtos com qualidade, conveniência e praticidade. Esse trabalho tem como objetivo avaliar o uso de filmes de Quitosana e Carboxi Metil Celulose, quanto à manutenção das qualidades físico-químicas bem como observar se há aumento na vida útil do abacaxi minimamente processado.

Materiais e métodos

O abacaxi foi lavado em água corrente, sanificado com 200 ppm de cloro, descascado, pré-cortado e suas seções foram sanificadas a 30 ppm de cloro, drenadas e imersas durante dois minutos nas soluções: i) água destilada (tratamento controle); ii) quitosana e iii) Carboximetilcelulose (CMC), a 5°C. Em seguida os pedaços foram drenados, acondicionados em embalagens plásticas de polietileno tereftalato (PET) e armazenados a 10°C, simulando a temperatura geralmente encontrada nos estabelecimentos comerciais. As análises físico-químicas foram realizadas durante os nove dias de armazenamento e a cada três dias foram determinados: sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT), carotenóides totais, cor, firmeza e perda de peso.

Resultados e discussão

Quanto ao teor de sólidos solúveis, pH, acidez total titulável, os tratamentos, não diferenciaram entre si. Quanto a firmeza, os abacaxis tratados com CMC, apresentaram melhores resultados até seis dias de armazenamento. Em relação a perda de massa, os abacaxis tratados com CMC, apresentaram maiores perdas do que os outros tratamentos.

Conclusões

Os resultados obtidos para sólidos solúveis (SST), acidez total titulável (ATT), firmeza, perda de peso e cor (valor L e b) não apresentaram diferenças entre os tratamentos utilizados, durante

todo o armazenamento. As amostras revestidas com CMC foram as que apresentaram a maior perda de massa (7,99%) em relação àquelas revestidas com quitosana (5,22%) e com o controle (5,18%). Os valores obtidos para carotenóides totais variavam de 30 a 60 µg por 100 gramas da amostra. Através de análises sensoriais da aparência todos os tratamentos não ultrapassaram aos seis dias de armazenamento sem comprometer sua qualidade visual.

Referências

- 1 CHITARRA, M. I. F. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 113 p. Apostila.
- 2 SOUZA, R.A.M. **Perspectivas do mercado de frutas e hortaliças minimamente processadas**. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., 2000, Viçosa. **Palestras...** Viçosa: UFV, 2000. p.1-22.
- 3 CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.
- 4 BOTREL, N. ; ABREU, C.M.P. Colheita, cuidados e fisiologia pós-colheita do abacaxi. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.139, p.33-40, 1994.
- 5 ASSIS, O.B.D.; LEONI, A.M. Filmes comestíveis de quitosana. **Revista de biotecnologia ciência e desenvolvimento**, [S. l.], v. 30, 2003.
- 6 RODRIGEZ-AMAYA, D.B.A.. **Guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: IISI, 2001,64p.
- 7 KUNDENDIENST, KONRAD-ZUSE. **Uv vis spectrophotometer operating manual**: manual do fabricante. [S. l.: s. n.], 2003.45p.
- 8 INTERNATIONAL STANDARD. **ISO 2173:1978 (E) primeira edição- Fruit and vegetable products. Determination of soluble solids content-Refraometric method**. [S. l.: s. n.], 1978.
- 9 MORTOM, R.D. Aerobic Plate Count. In: : DOWNES, F.P., ITO, K. (Ed). **Compendium of methods for the microbiological examination**

of foods. 4th ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. cap.7. p.63-67.

10 BURNS, J.L. Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the Colloquium. **HortScience**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 14-17, 1995.

11 CHITARRA, M.I.F. **Processamento Mínimo de Frutos e Hortaliças**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 1998. 88 p.

12 BASTOS, M.S.R.; SOUZA FILHO, M.S.M.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; BORGES, M.F. Processamento mínimo de abacaxi e melão. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS. 2., 2000, Viçosa. **Palestras...** Viçosa: UFV, 2000. p.89-94.

13 MORAIS, L.C.; CAMPANA FILHO, S.P.. **Polímeros**, [S. l.], v.9 n.4 São Carlos out./dez. 1999



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICAS DE ABACAXI MINIMAMENTE PROCESSADO REVESTIDOS COM FILMES COMESTÍVEIS.

Paulo Ricardo Nascimento² Viana; Murillo Freire Júnior¹; Lourdes Maria Corrêa Cabral¹; Regina Silva de Siqueira¹;

3. Embrapa Agroindústria de Alimentos - Avenida das Américas, 29501 -Rio de Janeiro – RJ – CEP 23020-470. E-mail: mfreire@ctaa.embrapa.br.
4. Universidade Estácio de Sá – Campus Vargem Grande) - Graduando/Estagiário

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.04

Resumo

O uso de filmes comestíveis em alimentos baseia-se em desejáveis fenômenos de migração, que cedem ao produto pré-cortado e pronto para o consumo, substâncias benéficas que podem retardar a sua deterioração, aumentando sua vida útil. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de abacaxi pré-cortado armazenado sob refrigeração, utilizando dois revestimentos comestíveis: Carboxi Metil Celulose (CMC) e Quitosana. Água destilada foi usada como tratamento controle. As seções de abacaxi cortadas foram imersas nas soluções de revestimento a 5^oC por dois minutos, drenadas, acondicionadas em embalagens de PVC e armazenadas a 10^oC. Foram realizadas as seguintes análises: contagem de bactérias aeróbias mesófilas e de fungos filamentosos e leveduras, acidez total titulável, pH e teor de sólidos solúveis totais (^oBrix). A avaliação microbiológica dos produtos foi realizada no nono dia de armazenamento e para as determinações físico-químicas, foram realizadas quatro avaliações durante o armazenamento (0, 3, 6 e 9 dias). No produto controle, a contagem de mesófilos foi $> 2,5 \times 10^5$ e a contagem de bolores e leveduras foi $> 1,5 \times 10^5$. Os produtos revestidos com CMC e quitosana apresentaram contagem de mesófilos de $1,5 \times 10^5$ e $1,4 \times 10^3$, respectivamente, e contagem de bolores e leveduras de $1,0 \times 10^5$ e $1,7 \times 10^3$, respectivamente. Os resultados obtidos apresentam dois ciclos logarítmicos menores nos produtos revestidos com Quitosana (10^3) quando comparados ao controle e ao produto revestido com CMC (10^5). O uso das duas coberturas não afetaram as características físico-químicas avaliadas.

Palavras chave: abacaxi, filmes comestíveis, quitosana, vida útil, carboxi metil celulose.

Introdução

Os filmes comestíveis são desenvolvidos a partir de substâncias hidrofílicas e funcionam como uma barreira para controlar a migração de água, a troca de gases (oxigênio e dióxido de carbono), além de manter características naturais do alimento como: cor, sabor, aroma. Podendo ainda ter em sua composição tanto aditivos alimentícios como antioxidantes e antimicrobianos. Esse trabalho tem como objetivo avaliar o uso de filmes de Quitosana e Carboxi Metil Celulose, quanto à manutenção das qualidades físico-químicas e microbiológicas bem como observar se há aumento na vida útil do abacaxi minimamente processado.

Materiais e métodos

As seções de abacaxi cortadas foram imersas nas soluções de revestimento a 50°C por dois minutos, drenadas, acondicionadas em embalagens de PVC e armazenadas a 10°C.

Formulações:

1% CMC + 0,5% ácido cítrico + 0,05% ácido esteárico + 0,5% ácido ascórbico;

0,75% Quitosana + 3% ácido cítrico;

Tratamento controle: água destilada.

Análises:

Contagem de bactérias aeróbias mesófilas;

Contagem de fungos filamentosos e leveduras;

Acidez total titulável, pH e teor de sólidos

solúveis totais (⁰Brix).

A avaliação microbiológica dos produtos foi realizada no nono dia de armazenamento e para as determinações físico-químicas, foram realizadas quatro avaliações durante o armazenamento (0, 3, 6 e 9 dias).

Resultados e discussão

No produto controle, a contagem de mesófilos foi $\square 2,5 \times 10^5$ e a contagem de bolores e leveduras foi $\square 1,5 \times 10^5$. Os produtos revestidos com CMC e quitosana apresentaram contagem de mesófilos de $1,5 \times 10^5$ e $1,4 \times 10^3$, respectivamente, e contagem de bolores e leveduras de $1,0 \times 10^5$ e $1,7 \times 10^3$, respectivamente.

Conclusões

Os resultados obtidos apresentam dois ciclos logarítmicos menores nos produtos revestidos com Quitosana (10^3) quando comparados ao controle e ao produto revestido com CMC (10^5). O uso das duas coberturas não afetaram as características físico-químicas avaliadas.

Referências

1 CHITARRA, M. I. F. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 113 p. Apostila.

2 SOUZA, R.A.M. Perspectivas do mercado de frutas e hortaliças minimamente processadas. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., 2000, Viçosa. **Palestras...** Viçosa: UFV, 2000. p.1-22.

3 ANTONIOLLI, L.R.; BENEDETTI, B.C.; MEN DE SÁ, M.S.F; BORGES, M.F. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [S. l.], v. 27, n. 1, 2005.

4 BURNS, J.L. Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the Colloquium. **HortScience**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 14-17, 1995.

5 CHITARRA, M.I.F. **Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 1998. 88 p.

6 BASTOS, M.S.R.; SOUZA FILHO, M.S.M.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; BORGES, M.F. Processamento mínimo de abacaxi e melão. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 2., 2000, Viçosa. **Palestras...** Viçosa: UFV, 2000. p.89-94.

7 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz, métodos químicos e físicos análise de alimentos**. 3 ed. São Paulo, 1985.v.1 533 p.

8 CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas. Ed da Unicamp, 1999,212p.

Bacterial Analytical manual online. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18.html>>. Acesso em: 2001.

9 BEUCHAT, L.R.; COUSIN, M.A.. Yeast and molds. In: DOWNES, F.P., ITO, K. (Ed). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. cap. 20. p.209-215.

10 MORTOM, R.D. Aerobic Plate Count. In: : DOWNES, F.P., ITO, K. (Ed). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. cap.7. p.63-67.



COEFICIENTE RESPIRATÓRIO DE ABACAXI (ANANAS COMOSUS (L.) MEER) MINIMAMENTE PROCESSADO REVESTIDO COM FILMES COMESTÍVEIS

Paulo Ricardo Nascimento Viana²; Maya Orneles Sato²; Augusto César Vieira Neves Junior³; Murillo Freire Júnior¹

¹ Embrapa Agroindústria de Alimentos - Avenida das Américas, 29501 -Rio de Janeiro – RJ – CEP 23020-470. E-mail: mfreire@ctaa.embrapa.br.

² Estudantes da Universidade Estácio de Sá – Rio de Janeiro – RJ. ³ Estudante da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica - RJ

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.04

Resumo

O processamento mínimo de abacaxi vem obtendo cada vez mais espaço no mercado devido à necessidade dos consumidores de produtos com qualidade, conveniência e praticidade. No entanto, o processamento mínimo causa um severo “stress” no alimento, acelerando assim, sua deterioração. Os revestimentos comestíveis são aplicados com o intuito de aumentar a vida útil dos alimentos minimamente processados (MP), além de manter a sua qualidade. Nesse trabalho, utilizou-se revestimentos a base de Carboximetilcelulose 1% (CMC), Quitosana 0,75% e água destilada como tratamento “controle”, a fim de observar a sua influência na atividade respiratória de abacaxi “Pérola” (*Ananas comosus (L.) Meer*) minimamente processado. Os frutos de abacaxi, adquiridos na CEASA-RJ foram transportados para a Embrapa Agroindústria de Alimentos, selecionados, lavados em água corrente e higienizados por quinze minutos em solução clorada a 200mg.L⁻¹ a 5°C. Os frutos foram descascados, pré-cortados em fatias com cerca de 2cm de largura e em oito partes, sanificados em solução clorada a 30mg.L⁻¹ a 5°C e imersas por 2 minutos nas soluções de revestimento. Em seguida, os pedaços seccionados foram drenados, acondicionados, em triplicata, em recipientes de vidro, com tampa rosqueada e septos adaptados para a determinação das concentrações de CO₂ e O₂ e armazenados a temperatura de 25°C. O coeficiente respiratório do abacaxi MP foi determinado através do equipamento Kronenberger Systemtechnik para medição da concentração dos gases (CO₂ e O₂), e utilizado o modelo matemático desenvolvido por Varoquaux *et al.* (2002). Os valores obtidos do coeficiente respiratório foram de 1,05, 1,14 e 1,07 para os tratamentos controle, CMC e quitosana, respectivamente. Através da análise de variância e teste de médias (LSD para p<0,05) constatou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados. Portanto, nenhum dos tratamentos alteram o coeficiente respiratório do abacaxi minimamente processado nas concentrações testadas.

Palavras chave: abacaxi, filmes comestíveis, quitosana, vida útil, carboxi metil celulose, intensidade respiratória.

Introdução

A vantagem dos produtos minimamente processados é que eles são naturais e práticos quanto ao preparo e ao seu consumo. No entanto, esses alimentos são mais perecíveis do que os in natura, porque são submetidos a severo estresse físico oriundos principalmente do descascamento e corte. O efeito do corte leva a um aumento da taxa respiratória, com aumento da atividade enzimática, acelerando assim o processo de senescência do fruto. Nesse trabalho, utilizou-se diferentes revestimentos a fim de observar a sua influência na atividade respiratória de abacaxi “Pérola” (*Ananas comosus* (L.) Meer) minimamente processado.

Materiais e métodos

Os frutos de abacaxi, adquiridos na CEASA-RJ foram transportados para a Embrapa Agroindústria de Alimentos, selecionados, lavados em água corrente e higienizados por quinze minutos em solução clorada a 200mg.L⁻¹ a 5°C. Os frutos foram descascados, pré-cortados em fatias com cerca de 2cm de largura e em oito partes, sanificados em solução clorada a 30mg.L⁻¹ a 5°C e imersas por 2 minutos nas soluções de revestimento. Em seguida, os pedaços seccionados foram drenados, acondicionados, em triplicata, em recipientes de vidro, com tampa rosqueada e septos adaptados para a determinação das concentrações de CO₂ e O₂ e armazenados a temperatura de 25°C. O coeficiente respiratório do abacaxi MP foi determinado através do equipamento Kronenberger Systemtechnik para medição da concentração dos gases (CO₂ e O₂), e utilizado o modelo matemático desenvolvido por Varoquaux *et al.* (2002).

Resultados e discussão

Os valores obtidos do coeficiente respiratório foram de 1,05, 1,14 e 1,07 para os tratamentos

controle, CMC e quitosana, respectivamente. Através da análise de variância e teste de médias (LSD para p<0,05) constatou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados.

Conclusões

Nenhum dos tratamentos utilizados alteram o coeficiente respiratório do abacaxi minimamente processado nas concentrações testadas.

Referências

- 1 AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. **Trends Food Sci. Technol.** [S. l.], v. 7, p. 179-187, 1996.
- 2 BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; BAKER, R. A. Use of Edible Coating to Preserve Quality of Lightly (and Slightly) Processed Products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 35, n. 6, p. 509-524, 1995.
- 3 VAROQUAUX, P.; WILEY, R. **Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables.** New York: Chapman & Hall, 1994. p. 226-268.
- 4 VAROQUAUX, P.; GOUBLE, B.; DUCAMP, M.N.; SELF, G. Procedure to optimize modified atmosphere packaging for fruit. **Fruit**, v. 57, n. 5-6, p. 313-322, 2002.
- 5 PORTELA, S. I.; CANTWELL, M. I. Quality changes of minimally processed honeydew melons stored in air or controlled atmosphere. **Postharvest Biology and Technology**, California, v. 14, p. 351-357, 1998.



DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGENS ATIVAS INCORPORADAS COM NANOCOMPOSTOS E AVALIAÇÃO NA INIBIÇÃO E ADESÃO DO FUNGO *Aspergillus flavus*

Nilda de Fátima Ferreira Soares*, Luis Eduardo Reis Gouveia, Nathália Ramos de Melo e Cleuber Antônio de Sá Silva.

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa MG, * nfsoares@ufv.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.04

Resumo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver filme ativo antimicrobiano incorporado com nanocomposto e avaliar suas propriedades mecânicas, taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e sua atividade antimicrobiana. As propriedades mecânicas não diferiram significativamente à 25°C. Observou-se aumento da TPVA no filme adicionado do nanocomposto. O nanocomposto potencializou a adsorção do fungo *A. flavus* ao filme e juntamente com o antimicrobiano reduziu o crescimento do fungo. Este filme tem grande potencial de utilização visando contribuir para a segurança microbiológica dos alimentos.

Palavras-chave: embalagem ativa, nanocompostos, antimicrobiano, *Aspergillus flavus*.

Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de produtos agrícolas como grãos e cereais, leite e produtos lácteos. Destacando-se mundialmente na produção e exportação de grãos como arroz, milho e soja.

A expansão da agricultura brasileira coincide com a intensificação dos estudos referentes a segurança alimentar, sendo toda cadeia produtiva do alimento levada em consideração.

Visando a segurança alimentar e a produção de alimentos isentos de contaminantes potencialmente tóxicos ao ser humano, tem-se intensificado as pesquisas relacionadas com a presença de micotoxinas, a exemplos as aflatoxinas, em diversas matérias-primas.

Pesquisas recentes têm demonstrado que não somente o amendoim e derivados são veículos de aflatoxinas, mas também rações a base de grãos e cereais para animais domésticos^{4,6}, e mais

preocupante, leite e produtos lácteos usados na alimentação humana².

Vários processos de conservação dos alimentos são utilizados para inibição de fungos produtores de toxina e a embalagem apresenta-se como um fator fundamental na etapa de conservação. O novo conceito de embalagem é o das embalagens ativas, que são aquelas embalagens que interagem com o produto acondicionado mantendo a qualidade do produto, podendo contribuir para a segurança microbiológica do mesmo⁹.

Triclosan é um composto sintético, pertencente a classe dos bisfenóis, não-iônico, de ampla ação antimicrobiana, utilizado principalmente como anti-bacteriano, mas também apresenta algumas propriedades antifúngicas e antivirais^{1,7}.

A nanotecnologia tem sido empregada para o desenvolvimento de novas embalagens, buscando criar novos materiais e desenvolver novos produtos e processos baseados na tecnologia de manipular átomos e moléculas.

A utilização de polímeros que utilizam cargas ou componentes de tamanho nanométrico, denominados de nanocompostos, tem melhorado as propriedades mecânicas dos filmes como, resistência a tração, aumento de barreira a gases, e potencializa ação antimicrobiana dos compostos incorporados.

Os nanocompostos possuem a capacidade de adsorver substâncias orgânicas, tanto em sua superfície quanto entre seus espaços intermoleculares⁵. Sua incorporação nas embalagens pode ter como objetivo eliminar ou inativar substâncias contaminantes e, ou tóxicas ao ser humano. Na produção de produtos lácteos que podem estar contaminados com fungos, o envasamento dos mesmos em embalagens ativas incorporadas com nanocompostos capazes de inibir o crescimento de fungos produtores de aflatoxina aparenta ser uma medida viável para a segurança do consumidor.

Este trabalho objetivou desenvolver embalagem ativa antimicrobiana incorporada de nanocomposto visando reduzir a contaminação de produtos por aflatoxinas.

Materiais e métodos

Os filmes foram produzidos pelo método “Cast”, segundo Soares⁸, sendo incorporado 5% de nanocomposto e Triclosan nas concentrações 2 e 4%.

A TPVA foi realizada segundo a metodologia (ASTME 96-95, 1995). O ensaio foi realizado a temperatura de 25°C e 75% de UR.

As propriedades mecânicas foram avaliadas quanto a carga máxima na ruptura (N) e a deformação relativa na carga máxima (%). Os testes foram realizados utilizando uma máquina universal de ensaios de materiais, de coluna “doble” (INSTRON Serie 3366), com célula de carga de 1 kN (1000 kg), velocidade de tração de 50 mm/s e distância entre as garras de 50 mm. Os corpos de prova foram cordados nas dimensões de 2,5 cm x 10 cm e acondicionados a 25°C e 60% UR por no mínimo 48 horas para serem analisados.

A adesão do fungo *Aspergillus flavus* aos filmes foi avaliada após 7 dias de imersão de 100 cm² dos filmes em 100 mL leite UHT previamente inoculado com 10⁶ UFC.mL⁻¹ de *A. flavus* e incubados a 25°C. A aderência foi verificada em microscópio de luz polarizada, observando-se 5 diferentes campos de lâminas temporárias montadas com cada filme com aumento de 1000

vezes. As fotos foram obtidas por câmera digital através da lente ocular do microscópio.

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições, sendo para as análises das propriedades mecânicas cinco. Os dados foram analisados por meio de análise de variância, utilizando o teste F e as médias comparadas utilizou o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. O software utilizado para o processamento e análise estatística foi o SAS (*Statistical Analysis System*) Versão 9.1.

Resultados e discussão

Os filmes não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) para os valores de carga máxima na ruptura e deformação relativa na carga máxima à temperatura a 25 °C. Demonstrando uma não interferência da incorporação de 5% do nanocomposto e do antimicrobiano nas características mecânicas do filme a esta temperatura (tabela 1).

Tabela 1: Média dos valores das propriedades mecânicas, Carga Máxima na Ruptura (CMR) e Deformação Relativa na Carga Máxima (DRCMR), dos filmes incorporados com nanocomposto e antimicrobiano.

Filmes	CMR (N)	DRCMR (%)
0% nanocomposto e 0% Triclosan	69,7 ^a	1,7 ^a
5% nanocomposto	55,9 ^a	2,1 ^a
2% Triclosan	71,1 ^a	2,3 ^a
4% Triclosan	72,1 ^a	2,0 ^a
2% Triclosan e 5% nanocomposto	50,5 ^a	1,7 ^a
4% Triclosan e 5% nanocomposto	54,1 ^a	1,7 ^a

Médias com letras diferentes dentro da mesma coluna, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

O filme incorporado de 5% de nanocomposto apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) para a TPVA em relação ao filme controle (0%) e ao filme com 4% de Triclosan e nanocomposto, sendo a permeabilidade do filme 5% de nanocomposto a maior entre eles. Os filmes incorporados somente com Triclosan (2 e 4%) e o filme com 2% de triclosan e 5% de nanocomposto não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) para os demais filmes. Estes resultados indicam que a adição de 4% de Triclosan em conjunto com 5% de nanocomposto diminui a TPVA do filme, e que a adição de somente 2% de Triclosan e 5% de nanocomposto não é suficiente para causar esta diminuição. Estas variações podem ser devido à

interação dos compostos adicionados com a matriz do filme (tabela 2).

A adição do nanocomposto promoveu a adsorção das hifas do *A. flavus* na superfície do filme. Os filmes incorporados com 5% de nanocomposto apresentaram maior adesão do fungo em relação aos demais filmes (Figura 1).

Tabela 2: Média dos valores da TPVA dos filmes incorporados com nanocompostos e antimicrobiano.

Filmes	TPVA (g H ₂ O / m ² .dia)
0% nanocomposto e 0% Triclosan	176,2 ^b
5% nanocomposto	214,4 ^a
2% Triclosan	179,3 ^{a,b}
4% Triclosan	196,3 ^{a,b}
2% Triclosan e 5% nanocomposto	192,6 ^{a,b}
4% Triclosan e 5% nanocomposto	169,9 ^b

Médias com letras diferentes apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

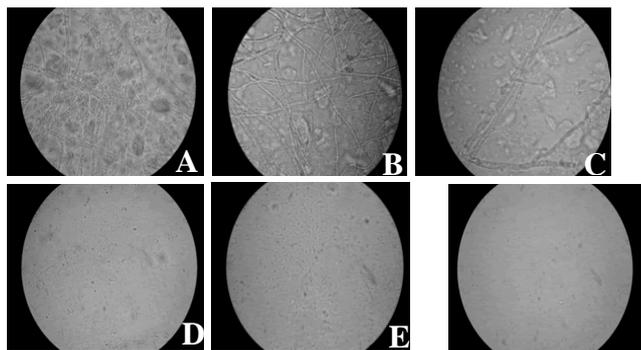


Figura 1: Microfotografia (1000x) dos filmes incorporados nanocompostos e antimicrobiano após 7 dias de contato com leite UHT previamente inoculados com 10⁶ UFC.mL⁻¹ de *A. flavus*. (A) 5% nanocomposto; (B) 2% Triclosan e 5% nanocomposto; (C) 4% Triclosan e 5% nanocomposto; (D) Controle-0%; (E) 2% de Triclosan; (F) 4% Triclosan.

O filme incorporados com 2% de Triclosan e 5% de nanocomposto (Figura 1B) apresentou maior adesão do fungo em relação ao filme com 4% de Triclosan e 5% de nanocomposto (Figura 1C), indicando uma maior eficiência da combinação de 5% de nanocomposto com concentrações superiores a 4% de Triclosan.

Conclusões

Os filmes incorporados de 4% Triclosan e 5% do nanocomposto podem contribuir na remoção do fungo presente no alimento promovendo a adesão deste na superfície do filme e inibindo o seu desenvolvimento pela ação do composto antimicrobiano incorporado, sendo uma ferramenta importante para obtenção de alimentos com menores concentrações de *A. flavus* e, conseqüentemente, de aflatoxinas, resultando em um produto de melhor qualidade.

Referências

- JONES, R. D.; JAMPANI, H. B.; NEWMAN, J. L.; LEE, A. S. **Am. J. Infect. Control**, [S. l.], v. 28, p. 184-196, 2000.
- LÓPEZ, C.E.; RAMOS, L.L.; RAMADAN, S.S.; BULACIO, L.C. **Food Control**, [S. l.], v.14, p.31-34, 2003.
- MARTINS, M.L.; MARTINS, H.M. **International Journal of Food Microbiology**, [S. l.], v.91, p.315-317, 2004.
- RASTOGI, S.; DWIVEDI, P.D.; KHANNA, S.K.; das, M. **Food Control**, [S. l.], v.15, p.287-290, 2004.
- RODRÍGUEZ, J. M.; LÓPEZ, A. J.; BRUQUE, S. **Agrochimica**, [S. l.], v. 33, p. 312-321, 1989.
- SASSAHARA, M.; PONTES NETTO, D.; YANAKA, E.K. **Food and Chemical Toxicology**, [S. l.], v.43, p.981-984, 2005.
- SCHWEIZER, H. P. **FEMS Microbiology Letters**, [S. l.], v. 202, p. 1-7, 2001.
- SOARES, N.F.F. 1998. 130 f. (Ph.D. Dissertation) - Cornell University, New York.
- SOARES, N. F. F., RUTISHAUSER, D., CRUZ, R. S., RAMOS, N. M., ANDRADE, N. J. **Packaging Technology and Science**. Inglaterra, v.15, n.3, p.129 - 132, 2002.

Agradecimentos

CAPES; CNPq; FAPEMIG e FINEP



DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE FILMES DE BASE CELULÓSICA INCORPORADOS COM NANOCOMPOSTOS E LACTATO DE SÓDIO PARA A CONSERVAÇÃO DE CARNE BOVINA FRESCA

Nilda de Fátima Ferreira Soares*, Delimiro Galeano Bolaños, Juan Eduardo Delgado, Jhon Jairo Reina Pacheco, Paula Judith Perez Espitia, Cleuber Antonio de Sá Silva e Nathália Ramos de Melo.

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa MG, * nfsoares@ufv.br

Projeto Componente: PC3 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.03.04

Resumo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes antimicrobianos biodegradáveis incorporados com nanocomposto. Avaliar suas propriedades mecânicas em diferentes temperaturas, a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e a atividade antimicrobiana em contato com carne bovina fresca visando o microrganismo *Listeria monocytogenes*. A adição do nanocomposto nos filmes melhorou as propriedades mecânicas, e reduziu a TPVA. A adição de lactato de sódio reduziu em um ciclo logarítmico o crescimento de *L. monocytogenes* na carne após cinco dias à temperatura de 10°C.

Palavras-chave: filme biodegradável, Nanocompostos, antimicrobiano, embalagem ativa, carne fresca, propriedades mecânicas.

Introdução

A conservação de alimentos exige o empregado de tratamentos físicos ou químicos, sendo também indispensável o uso de embalagens adequadas, sejam elas rígidas ou flexíveis. Muitas embalagens são fabricadas a base de materiais sintéticos por estes apresentarem excelentes propriedades funcionais, entretanto não são biodegradáveis e estão relacionados à geração e ao acúmulo de resíduos sólidos nos municípios. O tempo necessário para biodegradação de um polímero como o polietileno esta estimado em 200 anos⁵. Uma das soluções para reduzir o acúmulo de resíduos é o uso de biopolímeros para produção de materiais biodegradáveis.

As Constantes exigências dos consumidores representam um estímulo para a indústria de alimentos no desenvolvimento de embalagens que

permitam a conservação dos alimentos por mais tempo, que sejam práticas, seguras, higiênicas e compatíveis com o meio ambiente.

Para satisfazer todos estes quesitos é necessário aplicar tecnologias inovadoras na química dos polímeros.

A absorção de oxigênio, condensação de água, dióxido de carbono ou a incorporação de antimicrobianos nos filmes, mantêm um alto nível de qualidade nutritiva dos alimentos embalados, prolongando consideravelmente o período de conservação destes.

As carnes e seus derivados estão comumente relacionados a toxinfecções alimentares, sendo importante o controle higiênico e o estudo de barreiras de segurança. O uso de lactato e outros sais têm se apresentado como eficientes métodos preventivos, sendo bem amplo o espectro de ação do lactato, inibindo o crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, alteradoras e/ou patogênicas.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes incorporados com nanocompostos e lactato de sódio, bem como avaliar suas propriedades mecânicas, TPVA e sua eficiência antimicrobiana quando em contato com carne bovina fresca.

Materiais e métodos

Os filmes foram produzidos segundo Soares ³ e incorporados com nanocompostos nas concentrações de 5, 7,5 e 10%, e Lactato de Sódio nas concentrações de 30, 40 e 50%.

As propriedades mecânicas foram avaliadas quanto à carga máxima na ruptura (N) e a deformação relativa na carga máxima (%). Os testes foram realizados utilizando uma máquina universal de ensaios de materiais, de coluna “doble” (INSTRON Serie 3366), com célula de carga de 1 kN (1000 kg), velocidade de tração de 50 mm/s e distância entre as garras de 50 mm. Os corpos de prova foram cordados nas dimensões de 2,5 cm x 15 cm as análises foram realizadas com 60%UR nas temperaturas de -18, 10 e 25 °C.

A TPVA foi realizada segundo a metodologia (ASTME 96-95, 1995). O ensaio foi realizado a temperatura de 25°C e 75% de UR.

A avaliação da eficiência antimicrobiana dos filmes elaborados foi medida através do método de difusão em Agar, dos filmes com concentrações de 0, 30, 40 e 50% de lactato, sobre *L. Monocytogenes*. Meio TSA solidificado em placa de petri foi inculado com 10⁶ UFC.mL⁻¹ de *L. monocytogenes* e sobre a superfície foi colocado discos (1 cm diâmetro) dos filmes produzidos. As placas foram incubadas a 10°C por 16-18horas quando foi observado a formação de halos de inibição.

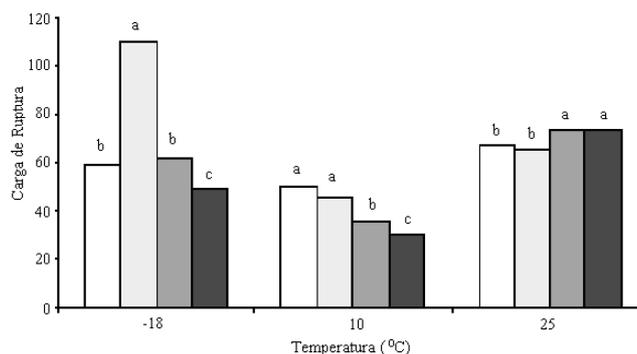
Para avaliar a eficiência antimicrobiana dos filmes em condições de uso, a carne bovina fresca foi imersa em uma suspensão de *L. monocytogenes* na concentração de 10⁴ UFC/ml, por 10 minutos, e embalada em filmes contendo lactato de sódio na forma de sanduíche (filme - carne bovina -filme). O controle foi embalado com filmes sem lactato. Os tratamentos foram armazenados a 10 °C por 5 dias. A eficiência na inibição microbiana foi determinada através de análise microbiologia da carne utilizando meio de cultura seletivo para *Listeria*, agar Oxford (DifcoTM, USA), nos tempos 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias de armazenamento.

Para a determinação da contagem de *L. monocytogenes* 25g de carne foi homogeneizada durante 60 segundos em Stomacher, com 225 mL de água peptonada. Após a homogeneização, a solução foi plaqueada. A mesma metodologia foi

empregada para a contagem de microrganismos nas superfícies dos filmes com área de 100 cm² ⁶. Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. Os dados foram analisados por meio de análise de variância, utilizando o teste F e as médias comparadas utilizou o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. O software utilizado para o processamento e análise estatística foi o SAS (Statistical Analysis System) Versão 9.1.

Resultados e discussão

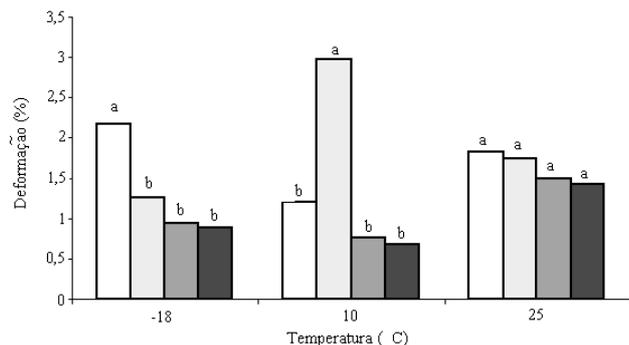
Os filmes apresentaram diferença significativa (P<0,05) para a carga na ruptura nas diferentes temperaturas (Figura 1). O filme com 5% de nanocomposto apresentou maior resistência à carga na ruptura a -18°C, nas temperaturas de 10 e 25 °C a adição do nanocomposto não apresentou diferenças significativas (P>0,05) com relação ao controle. Na temperatura de 10°C o filme com 5% de nanocomposto mostrou maior deformação, já os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas (P>0,05) (Figura 2).



Valores seguidos pela mesma letra, dentro de um mesmo conjunto de barras, não apresentam diferenças significativas à 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 1. Média dos valores de carga máxima na ruptura (N) para os filmes ativos incorporados com nanocompostos e lactato de sódio à temperatura de -18, 10 e 25 °C (□ Controle; ■ 5% nanocomposto; ■ 7,5% nanocomposto; ■ 10% nanocomposto).

Foi observada pequena diminuição na TPVA com a adição de 5% de nanocomposto, sendo 2.7920 g.m⁻².dia⁻¹ e 2.6632 g.m⁻².dia⁻¹ para os filmes controle e 5% de nanocomposto, respectivamente, sendo a diferença significativa (P<0,05). Com a adição de 5% do nanocomposto a diminuição encontrada pode ser devido a menor interação da matriz polimérica, resultando em menor característica de barreira ⁷.



Valores seguidos pela mesma letra, dentro de um mesmo conjunto de barras, não apresentam diferenças significativas à 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 2. Média dos valores de deformação relativa na carga máxima (%) para os filmes ativos incorporados com nanocompostos e lactato de sódio à temperatura de -18, 10 e 25 °C (□ Controle; ■ 5% nanocomposto; ■ 7,5% nanocomposto; ■ 10% nanocomposto).

Não houve formação de halo de inibição no filme com 50% de lactato. Este resultado pode estar relacionado à baixa difusão do antimicrobiano no meio, como mencionado por Toledo⁴, sendo a formação de halo dependendo da difusão e da velocidade de crescimento do microrganismo.

Observou-se a redução de um ciclo logarítmico na concentração de *L. Monocytogenes*, na carne fresca, com o emprego do filme de lactato de sódio a 50% (Figura 3) na carne bovina fresca quando comparado com o filme controle depois de 5 dias de armazenamento.

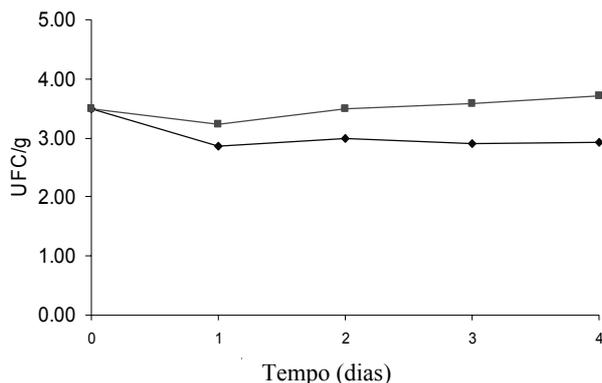


Figura 3. Crescimento de *L. monocytogenes* em carne fresca durante cinco dias de armazenamento a 10°C (◆ Carne com filme de lactato ■ Carne com filme sem lactato).

Pesquisadores têm usado filme incorporado com lactato de sódio para uso em salsicha², sendo reportado eficiência antimicrobiana. Harmayani et al.¹ observaram que o número de *L.*

monocytogenes foi menor em carne bovina imersa em solução de lactato de sódio comparado com o tratamento controle e com tratamentos com outros preservativos.

Conclusões

As propriedades mecânicas dos filmes incorporados com o nanocomposto e lactato de sódio foram influenciadas pela temperatura. A incorporação do nanocomposto ao filme aumentou suas propriedades mecânicas e diminuiu ligeiramente a TPVA. Pode-se concluir que o filme ativo antimicrobiano, incorporado com lactato de sódio e o nanocomposto, apresenta grande potencial para uso em contato com carne bovina fresca, visando o controle do crescimento de *L. monocytogenes*, além de apresentar boas características mecânicas e de barreira.

Referências

- HARMAYANI, E.; SOFOS, J.N.; SCHMITDT, G.R. *Int.J. Food Microbiol.*, [S. l.], v. 18, p.223-232, 1993.
- MELO, N. R.; WURLITZER, N. J.; BASTOS, M. S. R.; SOARES, N. F.; MACEDO, V. F. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18., 2002. [Anais...]. [S. l.: s. n.], 2002.
- SOARES, N. F. F. 1998. 130 f. (Ph.D. Dissertation) - Cornell University, New york.
- TOLEDO, M. M. 2000. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.
- TORRES, J. A. New York: M. Dekker, 1994. p.467-507.
- Vanderzant Carl, PHD; Don F.; Splittstoesser, PHD. American public health association. 1219 p., 1992.
- WANG, H., ZENG, C., ELKOVITCH, M., LEE, J., KOELLING, K. *Polymer engineering and science*, [S. l.], p. 2036-2046, 2001.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPEMIG, FINEP



CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DE NANO-SiO₂ OBTIDA DE FONTES VEGETAIS PARA USO EM NANOCOMPÓSITOS

Caue Ribeiro*¹, José M. Marconcini¹, Edson N. Ito^{1,2}, Wilson T.L. da Silva¹, Washington L.E. Magalhães³, Elias Hage Jr² e Luis H.C. Mattoso¹

¹Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

²DEMa / UFSCar, São Carlos, SP

³Embrapa Florestas, Colombo, PR

caue@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Neste trabalho foram caracterizadas nanopartículas de SiO₂ obtidas pela calcinação da Cavalinha (*Equisetum arvense L.*), avaliando-se preliminarmente seu potencial para incorporação em nanocompósitos. Os resultados demonstram que, apesar dos tamanhos de partícula obtidos situarem-se abaixo de 50 nm, vários eventos de pré-sinterização podem limitar a dispersabilidade do reforço em matrizes. Uma dispersão preliminar utilizando-se PMMA como matriz demonstrou alto grau de aglomeração, indicando a necessidade de novos estudos para obtenção do material em condições desaglomeradas.

Palavras-chave: nano-sílica, microscopia eletrônica de transmissão, nanocompósito

Introdução

O aumento dos volumes de certos setores do agronegócio tem despertado grande interesse na pesquisa sobre usos de subprodutos ou resíduos da atividade agrícola. De forma geral, vários trabalhos enfocam o reaproveitamento energético da biomassa ou a obtenção de materiais a partir de resíduos fibrosos ou minerais.

Um caso particularmente interessante é observado no principal resíduo do beneficiamento de arroz, a palha. Segundo a ANEEL¹, estima-se hoje um potencial de geração de energia termelétrica a partir desta biomassa de 162,6 MW, apenas no estado do Rio Grande do Sul – sendo que já há uma usina outorgada (Usina Cooperativa Agroindustrial Alegrete Ltda, em Alegrete – RS, com 3.825,00 KW de potência instalada). No entanto, cerca de 20 – 25% em massa do resíduo

constitui-se em sílica (SiO₂), o que implica na geração de quantidades expressivas de cinzas após queima. Segundo Real e colaboradores², este material, mesmo após calcinação a 800°C, apresenta áreas superficiais da ordem de 200 m²/g, o que indica a formação de material nanoestruturado. Os mesmos autores identificaram que as cinzas contêm teores > 90% de SiO₂ amorfo, com contaminações alcalinas ou alcalino-terrosas (K e Ca). Estas contaminações inviabilizam usos analíticos do material (p. ex. suportes catalíticos), porém, não são críticas para usos em reforço de materiais (compósitos), onde a área específica é determinante. Outras fontes vegetais demonstram características semelhantes, como a Cavalinha (*Equisetum arvense L.*), um fitoterápico comum com teores de SiO₂ em torno de 9% em massa. Resultados preliminares de caracterização de SiO₂ obtida a partir desta última

fonte indicam grande similaridade com o observado para a obtida da palha de arroz, ou seja, principalmente a alta área de superfície³. Outras fontes naturais apresentam características similares, podendo portanto a identificação de fontes preferenciais, de acordo com disponibilidades locais⁴

No entanto, um aspecto fundamental para a efetiva utilização da área específica para reforço é a individualização das partículas na matriz, ou dispersão das mesmas. Este é ponto fundamental para a obtenção de um nanocompósito polímero – cerâmica, como já demonstrado para argilominerais e nanoparticulados em geral⁵. No caso específico de SiO₂, etapas de calcinação normalmente levam à aglomeração do material, dificultando a redispersão – ainda que a área superficial medida continue acessível⁶.

Tendo em vista a possibilidade de agregação de valor destas fontes de SiO₂ por meio da obtenção de nanocompósitos, faz-se necessário um estudo sobre a morfologia e condição de dispersão das nanoestruturas obtidas, para definição de condições de trabalho. Assim, um estudo preliminar sobre a obtenção de SiO₂ por calcinação, a partir de fontes vegetais, foi realizado, observando-se o material obtido por microscopia eletrônica de transmissão. Os resultados indicaram tendência a pré-sinterização das nanopartículas, dificultando a redispersão do material mesmo em condições interfaciais satisfatórias. Resultados preliminares de dispersão do material numa matriz polimérica indicam a aglomeração, sugerindo que a rota de calcinação não seja a mais adequada para a obtenção de um material de interesse para nanocompósitos.

Materiais e métodos

Amostras pulverizadas de Cavalinha foram calcinadas em forno mufla em ar, a 600°C / 6h. Os materiais obtidos foram desagregados em almofariz e novamente desaglomerados em dispersão aquosa por ultrassom pulsado (5 min), para caracterização em microscopia eletrônica de transmissão (Philips CM200, operando a 200 kV). Uma mistura 2% nano-sílica / 98 PMMA (01DHAF, Resarbrás), em peso, foi feita num misturador Rheomix 600 conectado a um reômetro de torque HAAKE a 220°C / 50rpm por 10 minutos, de onde foi extraído uma amostra por ultramicrotomia para observação microscópica (Philips CM 200, operando a 120 kV).

Resultados e discussão

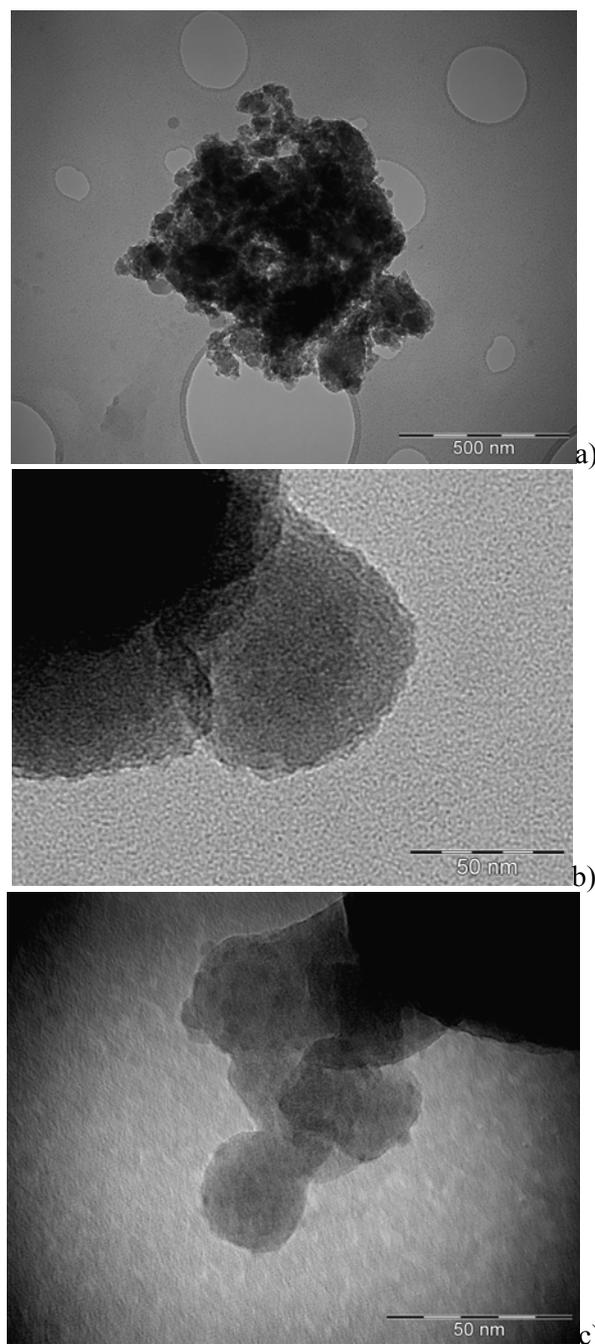


Figura 1. Imagens de MET de amostras de SiO₂ obtidas em diversos aumentos. a) Visão geral dos aglomerados; b) visão de nanopartícula isolada; c) nanopartículas pré-sinterizadas.

A Figura 1 mostra resultados da caracterização. Nota-se a formação de aglomerados rígidos da ordem de 500 nm (Fig. 1a), que não foram desestruturados mesmo em ultrassom pulsado. A observação em maior aumento (Fig. 1b) mostra que os aglomerados são formados por partículas

primárias da ordem de 30 – 50 nm, com alta rugosidade superficial – o que justifica os altos valores de área de superfície descritos na literatura para materiais similares.

No entanto, ainda que as partículas tenham certa regularidade (aproximadamente esférica), a presença de empescoamentos (Fig. 1c) indica o início de eventos de sinterização, ou seja, a formação de agregados rígidos (quimicamente ligados) e, portanto, pouco friáveis.

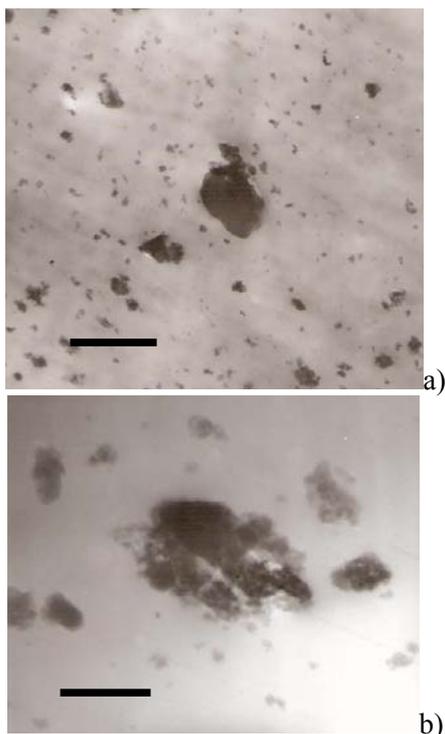


Figura 2. Imagens de MET de amostras de SiO₂ incorporadas em PMMA. a) Visão geral (escala 1 μm); b) visão dos aglomerados (escala 200 nm).

Esta característica é também observada nos testes preliminares de dispersão do material na matriz de PMMA. A Figura 2 mostra uma visão geral da dispersão, onde notam-se aglomerados maiores que 100 nm, correspondendo à visão geral dos aglomerados. Considerando-se as condições de dispersão bastante agressivas, nota-se que o procedimento de calcinação não é o mais adequado para obtenção de nanopartículas com o objetivo de compor nanocompósitos. No entanto,

para outras aplicações, principalmente associadas à alta área de superfície (substratos para liberação controlada, substratos hidrofóbicos, etc) o procedimento pode ser adequado.

Conclusões

Os resultados preliminares indicam que é possível obter-se, por uma rota simples e de baixo custo (calcinação), SiO₂ nanométrico a partir de uma fonte vegetal, no caso, a Cavalinha. No entanto, a ocorrência de eventos de pré-sinterização no processo de calcinação dificulta seu uso como reforço em nanocompósitos poliméricos, pela dificuldade de dispersão na matriz. Os resultados sugerem novos estudos sobre formas de extração da sílica presente (ataque químico ou outros) e, também, novos estudos de aplicação dos materiais obtidos pela rota de calcinação, visto que a alta área superficial aparentemente se mantém mesmo neste procedimento.

Referências

- 1 ANEEL. **Atlas de Energia Elétrica do Brasil**. [S. l.]: Agência Nacional de Energia Elétrica, 2005.
- 2 REAL, C.; ALCALA, M.D.; CRIADO, J.M.. **J. Am. Ceramic Soc.**, [S. l.], v. 79, n. 8, p. 2012-2016, 1996.
- 3 VALTCHEV, V.; SMAIHI, M.; FAUST, A.; VIDAL, L. **Chem. Mater.**, [S. l.], v. 16, n. 7, p. 1350-1355, 2004.
- 4 WEINER, S.; ADDADI, L. **J. Mater. Chem.**, v. 7, n. 5, p. 689-702, 1997.
- 5 VAIA, R.A.; GIANNELIS, E.P. **MRS Bull.**, [S. l.], v. 26, n. 5, p. 394-401, 2001.
- 6 YALCIN, N.; SEVINC, V. Studies on silica obtained from rice husk. **Ceramics Int.**, [S. l.], v. 27, n. 2, p. 219-224, 2001.



FIBRA DE COCO VERDE: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES MECÂNICAS

Elisângela Corradini¹, Morsyleide F. Rosa^{2*}, Bruno P. de Macedo¹, Luiz C. Mattoso¹

¹Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP

²Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

* morsy@cnpat.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Neste estudo foi realizada a caracterização química e mecânicas em função do tempo de maturação de fibras de coco provenientes de frutos imaturos da cultivar Anão Verde de Jiqui (AVEJ) com interesse para utilizá-las no preparo de compósitos. A análise da composição química das fibras de coco verde (AVEJ) mostrou um pequeno aumento dos teores de lignina e celulose com o tempo de maturação entre 120 e 180 dias e acima deste período os valores permaneceram praticamente constantes. Os ensaios de tração mostraram que a fibra do tipo AVEJ não apresentou variação significativa na resistência mecânica com o tempo de maturação.

Palavras-chave: coco verde, fibra de coco, novos materiais, caracterização química, propriedades mecânicas

Introdução

O gênero *Cocos* é constituído pela espécie *Cocos nucifera* L. que, por sua vez, é composta por algumas variedades, entre as quais as mais importantes, do ponto de vista agrônomo, socioeconômico e agroindustrial, são as variedades *Typica* (var. Gigante) e *Nana* (var. Anã), que se acredita ter originado de uma mutação gênica da Gigante¹.

No Brasil, a principal demanda de plantio da variedade Anã é a cultivar Verde, para consumo da água do fruto ainda imaturo. Estima-se que o Brasil possui uma área plantada de 90 mil hectares de coqueiro-anão, destinados à produção do fruto verde para o consumo da água-de-coco. As cascas geradas por este agronegócio representam 80% a 85% do peso bruto do fruto.

Este material tem sido correntemente designado aos aterros e vazadouros sendo, como toda matéria orgânica, potenciais emissores de gases estufa, e, ainda, contribuindo para que a vida útil desses depósitos seja diminuída, proliferando focos de vetores transmissores de doenças, mau cheiro, possíveis contaminação do solo e corpos

d'água, além da inevitável destruição da paisagem urbana².

A possibilidade de aproveitamento das fibras de coco tem despertado grande interesse de pesquisadores³⁻⁵. Nesse particular, a literatura apresenta vários estudos que foram conduzidos visando à incorporação de fibras de coco em novos materiais compósitos. Ressalta-se, entretanto, a grande predominância dos estudos voltados para uso de fibras de coco maduro⁶⁻¹¹.

O conhecimento das características químicas e mecânicas das fibras provenientes de frutos imaturos torna-se necessário para a compreensão de sua potencialidade de uso.

Este trabalho teve como objetivo apresentar as propriedades químicas e mecânicas de fibras de coco provenientes de frutos imaturos da cultivar Anão Verde de Jiqui (AVEJ), em 4 idades diferentes, como forma de contribuir para avaliar seu potencial de aplicação na elaboração de novos materiais.

Materiais e métodos

Materiais: Amostras de frutos da Variedade Nana ('Anão Verde' de Jequi (AVEJ)), provenientes do

Campo Experimental da Embrapa Meio-Norte, em Parnaíba-PI, Brasil, foram coletadas ainda imaturos, 120, 150, 180 e 210 dias após a abertura natural da inflorescência.

O processamento dos frutos se deu na Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, Brasil. Inicialmente, as cascas foram dilaceradas em triturador com faca de corte e martelos desintegradores; em seguida, prensadas, em prensa "PRH" (prensa de rolos horizontais), e classificadas, de forma a obter duas frações: pó e fibra.

Caracterização química: As fibras foram moídas em moinho de faca e passadas em peneira de 16 mesh. Foram submetidas à extração com solventes ciclohexano/etanol 1:1, por 13 horas, para remover os extrativos solúveis em solventes orgânicos e, em seguida foram submetidas à extração com água, por 38 horas, para remoção dos extrativos solúveis em água. Posteriormente, foram secas em estufa a 105°C por 6 horas para a determinação do teor de lignina e celulose.

A determinação dos teores de lignina e celulose foi realizada de acordo com a norma TAPPI T19-54. Todas as determinações foram conduzidas em triplicata e representadas pela média.

Caracterização mecânica: Os ensaios de tração para as fibras foram realizados em uma máquina de ensaio Instron, modelo 5569. Utilizou-se a norma ASTM D 3379 e as seguintes condições para os ensaios das fibras: velocidade de deslocamento das garras igual a 2,0 mm/mim, célula de carga de 50N, comprimento da fibra de aproximadamente 5,4 cm. Foram testadas pelo menos 20 fibras para cada ensaio.

Resultados e discussão

Na Tabela 1 são apresentados os teores de lignina (%) e celulose (%) para a fibra de coco verde da variedade AVEJ nos diferentes tempos de maturação. Os teores de lignina variaram de 45,3 ± 1,5% a 48,7 ± 1,2%, enquanto os teores de celulose variaram de 27,2 ± 1,0% a 32,4 ± 1,6%. Em termos de celulose, as fibras de coco verde apresentaram menores valores comparando com os valores encontrados¹²⁻¹³ para a fibra de coco maduro (36-43%) e em relação ao teor de lignina, os valores obtidos são próximos aos teores observados para o coco maduro (36-43%)¹³. Comparando a composição química da fibra de coco verde (AVEJ) com outras fibras lignocelulósicas, tais como fibra de juta e

sisal, observa-se que fibra de coco verde apresenta menores teores de celulose e maiores teores de lignina. Fibras com alto teor de lignina são de excelente qualidade e flexíveis. Estudos com blendas contendo lignina ou derivados têm mostrado que, em alguns casos, as propriedades mecânicas e/ou térmicas do material polimérico são melhorados com sua adição¹⁴. Observa-se também uma pequena variação da composição química das fibras AVEJ em função do tempo de maturação. Geralmente os teores de lignina e celulose aumentam em função do tempo de maturação fisiológica das plantas¹⁵. No entanto, os teores de lignina e celulose apresentaram um pequeno aumento com o aumento do tempo de maturação de 120 dias para 150 dias e acima deste período os valores permaneceram aproximadamente constantes.

Tabela 1: Teores de celulose e lignina obtidos para a fibra AVEJ em diferentes tempos de maturação.

Fibra	Tempo de Maturação	Lignina (%)	Celulose (%)
AVEJ	120	45,3±1,5	28,6±3,5
	150	48,7±1,2	32,4±1,6
	180	47,7±3,2	27,7±2,0
	210	46,0±2,0	27,2±1,0

Na Figura 1 são apresentados os valores de tensão na ruptura (σ), módulo elástico (E) e deformação na ruptura (ϵ) em função do tempo de maturação para as fibras de coco verde da variedade AVEJ. Os altos valores de desvio padrão são devidos a grande heterogeneidade das fibras. Comparando os valores de E, σ e ϵ obtidos para a fibra de coco verde (variedade AVEJ) em diferentes tempos de maturação, observa-se uma variação não significativa das propriedades mecânicas em função do tempo de maturação. Os valores médios para a tensão na ruptura variaram de 116 ± 31% a 140 ± 18%, já os valores de módulo elástico variaram entre 990 ± 262 MPa até 1197 ± 301 MPa e os valores de deformação na ruptura de 28 ± 5% a 35 ± 4%. Estes valores são um pouco menores que os valores mencionados na literatura para coco maduro¹³, os quais são: 131-175 MPa, 4-6 GPa e 15-40%, respectivamente para σ , E e ϵ .

É verificado também que os valores de σ_r e E obtidos para fibras de coco verde (AVEJ) são significativamente menores que aqueles descritos na literatura para outras fibras como juta e sisal. Isto é atribuído ao menor teor de celulose das fibras de coco¹³. Estes resultados mostram que as propriedades mecânicas das fibras de coco verde (AVEJ) apresentam resistência mecânica próximas das fibras de coco maduro, o que favorece a utilização destas fibras como reforço em compósitos com polímeros naturais e sintéticos.

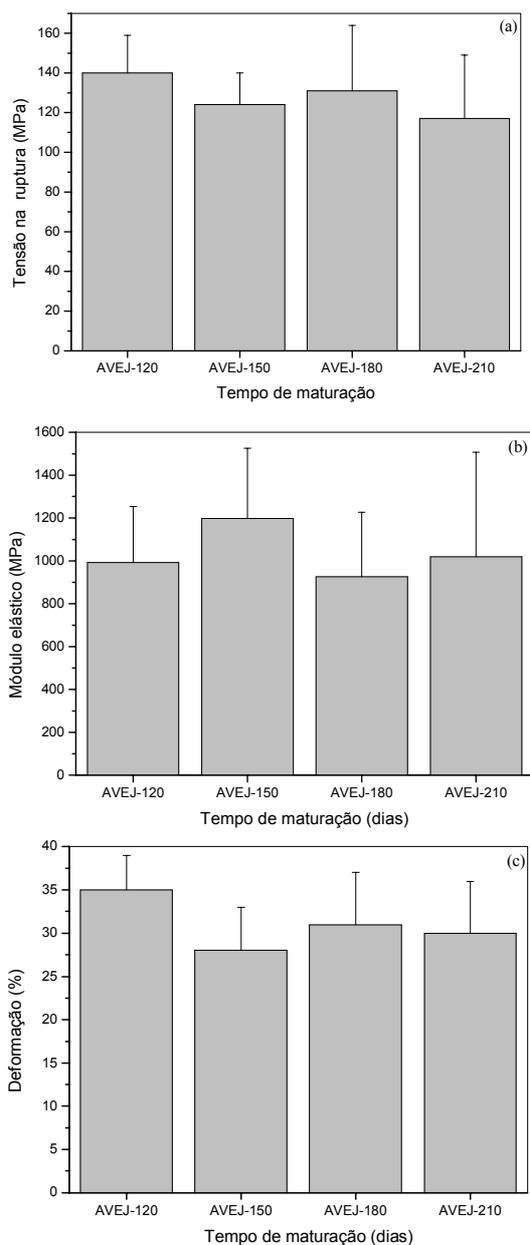


Figura 2: Tensão na ruptura (MPa), Módulo de elasticidade (MPa) e deformação na ruptura (%) para as fibras de coco verde da variedade AVEJ em diferentes tempos de maturação.

Conclusões

A análise da composição química das fibras de coco verde (AVEJ) mostrou um pequeno aumento dos teores de lignina e celulose com o tempo de maturação entre 120 e 180 dias e acima deste período os valores permaneceram praticamente constantes. Os ensaios de tração mostraram que a fibra do tipo AVEJ não apresentou variação significativa na resistência mecânica com o tempo de maturação.

Referências

- 1 Frutas do Brasil, 2002. 76p
- 2 ROSA, M. F.; ABREU, F. A. P.; FURTADO, A. A. L.; BRÍGIDO, A. K. L.; NORÕES, E. R. V. Fortaleza, CE: [s. n.], 2001. 4p. (Com. Téc. 61).
- 3 REDDY, N.; YANG, Y. **Trends in Biotechnology**, [S. l.], v. 23, p. 22-27, 2005.
- 4 MORASSI, O. J. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS DOS MATERIAIS, 1994. [S. l.: s. n.], 1994. p.1259-1262.
- 5 GEETHAMMA, V. G. **Polymer**, [S. l.], v. 39, p. 1483-1497, 1998.
- 6 ROUT, J.; TRIPATHY, S. S.; NAYAK, S. K.; MISRA, M.; MOHANTY, A. K. **J. Appl. Polym. Sci.**, [S. l.], v. 79, p. 1169-1177, 2001.
- 7 ROUT, J.; MISRA, M.; TRIPATHY, S. S.; NAVAK, S. K.; MOHANTY, A. K. **Compos. Sci. and Technol.**, [S. l.], v. 61, p. 1303-1310, 2001.
- 8 SILVA, R. V.; SPINELLI, D.; BOSE FILHO, W. W.; CLARO NETO, S.; CHERICE, G. O.; TARPANI, J. R. **Compos. Sci. Technol.**, [S. l.], v. 66, p. 1328-1335, 2006.
- 9 ROZMAN, H. D.; TAN, K. W.; KUMAR, R. N.; ABUBAKAR, A.; MOHD, Z. A. ISHAK; ISMAIL, H. **Eur. Polym. J.**, [S. l.], v. 36, p. 1483-1494, 2000.
- 10 RAMARAJ, B. **Polym.-Plast. Technol. Eng.**, [S. l.], v. 45, p. 1227-1231, 2006.
- 11 KUMAR A.P., J.K. PANDEY, B. KUMAR, R.P. SINGH, J. **Polym. Environ.**, [S. l.], V. 14, P. 203-212, 2006.
- 12 BLEDZKI, A. K.; REIHMANE, S.; GASSAN, J. **Appl. Polym. Sci.**, [S. l.], V. 59, P. 1326-1336, 1996.
- 13 MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; HINRINCHSEN, G. **Macromol. Mater Eng.** [S. l.], V. 276, P. 1-24, 2000.
- 14 VAN DAM, J. E. G.; VAN DEN OEVER, M. J. A.; KEIJERS, W. E. R. P.; PERALTA, A. G.; **Industrial Crops and Products**, [S. l.], V. 19, 207-216, 2004.
- 15 FENDEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry: ultrastructure, reactions**. New York: Gruyter, 1984.



CARACTERIZAÇÃO DE CASCAS DE ARROZ POR TERMOGRAVIMETRIA E DOS RESÍDUOS DE QUEIMA DE CASCAS DE ARROZ POR ESPECTROSCÓPIA NO INFRAVERMELHO

José M. Marconcini*, Rodrigo M. Oliveira

Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio - LNNA
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

* marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC 4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

O arroz é um dos cereais mais cultivados no mundo e anualmente são geradas no Brasil em torno de 2 milhões de toneladas de casca de arroz, que podem ser um problema ambiental nas regiões produtoras de arroz. Neste trabalho caracterizaram-se as cascas de arroz por termogravimetria e os resíduos da queima das cascas por infravermelho. A partir da termogravimetria, determinou-se para casca de arroz agulhinha um teor médio de voláteis de 8,54% e teor médio de cinzas de 8,60%. Para a casca de arroz cateto, o teor médio de voláteis foi de 8,51% e teor médio de cinzas de 16,52%. A partir dos resultados de infravermelho, caracterizou-se as cinzas de cascas de arroz observando-se alto teor de sílica.

Palavras-chave: Casca de arroz, sílica amorfa, termogravimetria, infravermelho.

Introdução

O arroz é o 2^o cereal mais cultivado no mundo, desempenhando papel estratégico tanto no aspecto social quanto econômico. O Brasil representa em torno de 1,8% da produção total mundial, com a safra de arroz em casca de 11.505.327 toneladas em 2006 (http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_200707_5.shtm). A casca de arroz, que representa em torno de 20% em peso do grão, é um resíduo que, por apresentar um alto poder calorífico, é utilizado como combustível para secagem dos grãos e em termoelétricas.

A sílica amorfa e a sílica branca podem ser extraídas a partir da casca e do caule das plantas de arroz, originando um material com alta área superficial. O interesse na obtenção de sílica a partir de casca de arroz não é recente e tem

atraído a atenção de vários pesquisadores¹⁻⁶, incluindo patentes na obtenção deste material⁷.

As cinzas geradas na queima das cascas apresentam alto teor de sílica (SiO₂), as quais são descartadas muitas vezes de maneira irregular, tornando-se um grave problema ambiental. Uma das alternativas de aproveitamento deste resíduo é a produção de sílica a partir da casca de arroz, que pode ser utilizada em diversas aplicações, como na fabricação de cimentos, de abrasivos, como aditivos na área de polímeros e como fonte de silício¹⁻⁶.

Na obtenção de sílica e de nanossílica a partir da queima casca de arroz, é importante a compreensão do comportamento de perda de massa da casca com o aumento da temperatura, determinando-se teor de voláteis e teor de cinzas, e a caracterização dos resíduos de queima das cascas (cinzas). Com a potencialidade de novos usos de resíduos e materiais agropecuários,

utilizando-se nanotecnologia, o objetivo deste trabalho é a caracterização de casca de arroz por termogravimetria e dos resíduos de queima da casca de arroz por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Materiais e métodos

Materiais

Foram utilizadas cascas de arroz (*Oryza sativa*) de duas variedades: agulhinha, origem indiano, e cateto, origem japônica.

Sílica (SiO₂), proveniente da empresa Aldrich, com pureza de 99,5% foi utilizada como padrão de comparação de espectros no infravermelho.

Métodos

As termogravimetrias foram realizadas em um equipamento Modelo TGA Q500 (TA Instruments) de temperatura ambiente até 600 °C, com massa de amostra em torno de 10mg, razões de aquecimento de 5, 10, 15 e 20 °C min⁻¹, vazão de nitrogênio na balança de 40 mL min⁻¹ e vazão de ar sintético no forno de 60 mL min⁻¹, em porta amostra de platina. As cascas de arroz foram calcinadas em mufla modelo EDG3P-S, marca EDG Equipamentos, por 1 e 2 h, com patamar de 500°C, valor determinado a partir dos resultados de termogravimetria. Os espectros de infravermelho das cinzas da casca de arroz e de sílica comercial (pureza 99,5%) foram obtidos a partir de pastilhas de KBr (99mg) com as cinzas (1mg), entre 4000 e 400cm⁻¹, com 16 “scans” e resolução de 2 cm⁻¹ em um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier modelo Spectrum 1000, marca Perkin Elmer.

Resultados e discussão

Nas figuras 1 e 2 apresentam-se as curvas TG das cascas de arroz da variedade agulhinha e cateto, respectivamente. Pode-se observar que, sob a atmosfera oxidante de ar sintético, há uma perda de massa inicial correspondente aos voláteis presentes na casca, seguido da queima do material orgânico e acima de 500°C estabelece-se um patamar referente aos resíduos inorgânicos (cinzas).

A partir dos resultados das curvas TG, compilaram-se os valores de voláteis e resíduos das variedades agulhinha e cateto para cada razão de aquecimento na tabela 1, realizando-se sua estatística descritiva que está apresentada na tabela 2.

Os resultados de termogravimetria indicam que para a casca de arroz agulhinha, o teor médio de voláteis foi de 8,54% e teor médio de cinzas de 8,60% e para a casca de arroz cateto o teor médio de voláteis foi de 8,51% e teor médio de cinzas foi de 16,52%.

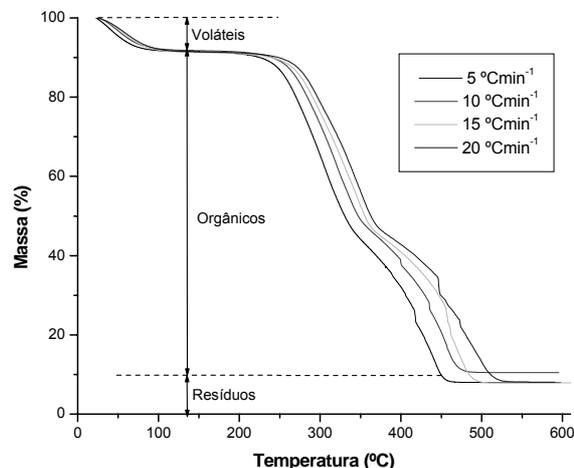


Figura 1. Curvas TG de casca de arroz da variedade agulhinha, atmosfera de ar sintético, massa de amostra 10mg porta-amostra de platina.

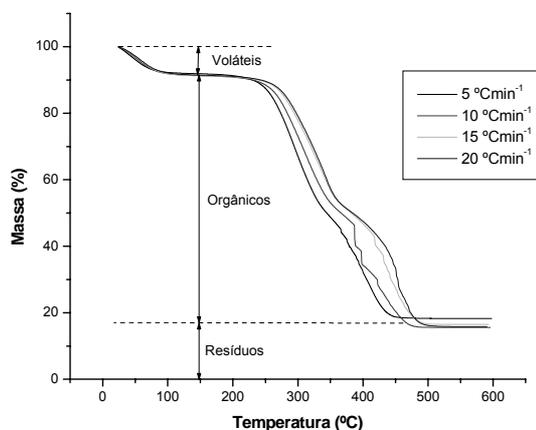


Figura 2. Curvas TG de casca de arroz da variedade cateto, atmosfera de ar sintético, massa de amostra 10mg em porta-amostra de platina.

Tabela 1: Porcentagens de massa dos compostos voláteis e resíduos a 600°C das duas variedades de arroz

Razão de aquecimento (°Cmin ⁻¹)	Massa (%)			
	Agulhinha		Cateto	
	Voláteis	Resíduos	Voláteis	Resíduos
5	8,55	8,00	8,10	18,25
10	8,25	10,48	8,67	15,56
15	8,77	7,82	8,73	16,44
20	8,58	8,09	8,54	15,82

Tabela 2: Estatística descritiva dos resultados de termogravimetria

	Agulhinha		Cateto	
	Voláteis (%)	Resíduos (%)	Voláteis (%)	Resíduos (%)
Média (%)	8,54	8,60	8,51	16,52
Desvio padrão (%)	0,22	1,26	0,29	1,21
Erro padrão da média (%)	0,11	0,63	0,14	0,61
Valor máximo (%)	8,77	10,48	8,73	18,25
Valor mínimo (%)	8,25	7,82	8,10	15,56
n ^o de amostras	4	4	4	4

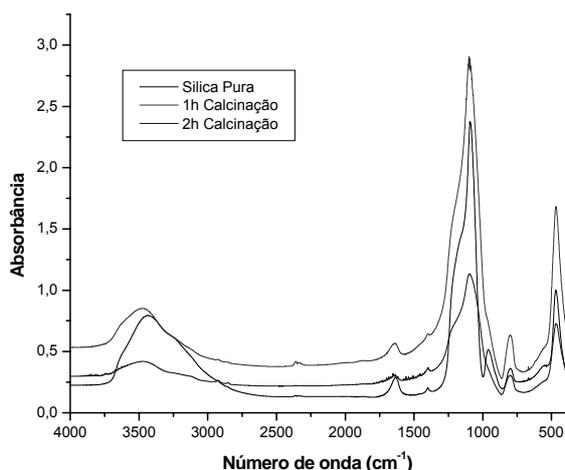


Figura 3. Espectros da sílica pura (comercial) e da cinza da casca de arroz variedade agulhinha.

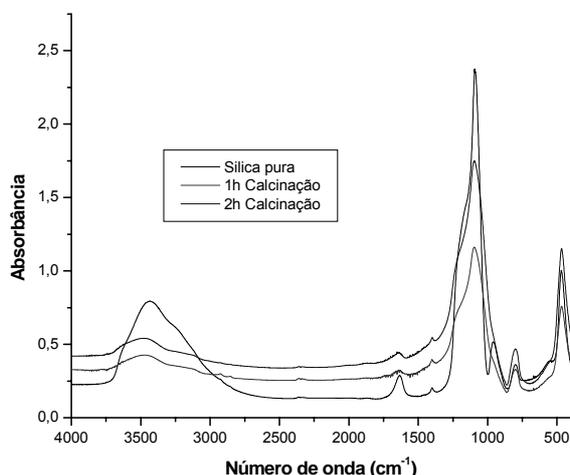


Figura 4. Espectros da sílica pura (comercial) e da cinza da casca de arroz variedade cateto.

Os espectros de infravermelho das cinzas das cascas de arroz das duas variedades (figuras 3 e 4), com tempos de queima de 1 e 2h em mufla foram comparados com o espectro da sílica comercial.

Observou-se uma estreita correlação dos sinais de infravermelho entre os números de onda dos picos das cinzas das cascas e da sílica comercial em toda a faixa espectral analisada.

Conclusões

A partir da termogravimetria em atmosfera oxidante, determinou-se para casca de arroz agulhinha um teor médio de voláteis de 8,54% e teor médio de cinzas de 8,60%. Para a casca de arroz cateto, o teor médio de voláteis foi de 8,51% e teor médio de cinzas de 16,52%. A partir dos resultados de infravermelho, caracterizou-se as cinzas de cascas de arroz observando-se alto teor de sílica. Conclui-se a partir dos resultados de termogravimetria há diferenças significativas nas quantidades de cinzas entre os diferentes tipos de cascas de arroz analisadas.

A partir dos resultados de infravermelho, caracterizou-se as cinzas de cascas de arroz observando-se alto teor de sílica.

Agradecimentos

Esta pesquisa teve suporte financeiro da Embrapa, CNPq e FINEP.

O estagiário Rodrigo M. Oliveira agradece ao CNPq/PIBIC a bolsa de iniciação científica.

Referências

- 1 REAL, C.; ALCALÁ, M. D.; CRIADO, J. M. J. **Am. Chem. Soc.**, [S. l.], v. 79, n. 8, p. 2012, 1996.
- 2 SOUZA, M. F.; BATISTA, P. S.; REGIANI, I.; LIBORIO, J. B. L.; SOUZA, D. P. F. **Mat. Res.**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 25, 2000.
- 3 SOUZA, M. F.; MAGALHÃES, W. L. E.; PERSEGIL, M. C. **Mat. Res.**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 467, 2002.
- 4 KASHIWAGI, T.; MORGAN, A. B.; ANTONUCCI, J. M.; VANLANDINGHAM, M. R.; HARRIS, R. H.; AWAD, W. H.; SHIELDS, J. R. **J. Appl. Polym. Sci.**, [S. l.], v. 89, p. 2072, 2003.
- 5 ZHOU, H. J.; RONG, M. Z.; ZHANG, M. Q.; FRIEDRICH, k. **J Mater Sci.**, [S. l.], v. 41, p. 5767, 2006.
- 6 DELLA, V. P.; HOTZA, D.; JUNKES, J. A.; OLIVEIRA, A. P. N. **Quim. Nova**, [S. l.], v. 29, n. 6, p. 1175, 2006.
- 7 SOUZA, M. F.; BATISTA, P. S.; LIBORIO, j. b. l. Patente Brasileira PI 9903208, 1999.



METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE PALHA DE MILHO BASEADA EM MICROSCOPIA ÓTICA E ELETRÔNICA

**José M. Marconcini*¹, Edson N. Ito^{1,2}, Maria Cristina D. Paes³,
Flávia França Teixeira³, Luiz H.C. Mattoso¹**

1 Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio - LNNA
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

2 Departamento de Engenharia de Materiais - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

3 Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

* marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC 4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Metodologia de caracterização da morfologia de palhas de milho foi validada por meio do estudo empregando técnicas de microscopia. Foram utilizados três níveis de observação estrutural com os seguintes equipamentos: (i) lupa de baixo aumento, (ii) microscópio ótico e (iii) microscópio eletrônico de varredura. Estruturas da palha de milho foram identificadas em todas as técnicas empregadas. Estudos mais aprofundados da estrutura interna da palha e do desenvolvimento da técnica na obtenção de nanofibras serão avaliados em trabalhos futuros.

Palavras-chave: Palha de milho, microestrutura, técnicas microscópicas, microscopia ótica, microscopia eletrônica, MEV-FEG.

Introdução

Os produtos e subprodutos agropecuários fornecem matéria prima para diferentes aplicações tecnológicas, entretanto, a caracterização das propriedades desses materiais é ainda incipiente.

A palha de milho, atualmente, é destinada apenas para a produção de cigarros, embalagens de doces, artesanato de cestaria e de bonecas, muito embora a cultura do milho tenha grande importância no agronegócio brasileiro, com produção anual de cerca de 35 milhões de toneladas, e as possibilidades de melhoria na qualidade deste material, especialmente para o artesanato sejam estratégicas. Com base nesse fato, a equipe de melhoramento genético da Embrapa Milho e Sorgo, vem conduzindo desde 2002 um programa

de seleção de genótipos exóticos de milho com palha de qualidade para artesanato ¹⁻³, resgatando inclusive materiais indígenas. Embora já existam vários materiais selecionados para coloração e textura, as propriedades estruturais das fibras, apresentando variações dos parâmetros de qualidade, ainda não foram avaliadas. A caracterização destes materiais abre perspectivas de usos mais nobres de um produto considerado resíduo agrícola, valorizando a produção em pequenas comunidades e promovendo o desenvolvimento sustentável, através da geração de novos cultivares com propriedades de palha adequadas para serem utilizadas por novas empresas, que poderão ser incubadas para a geração de nanoestruturas provenientes da palha de milho.

Esse trabalho teve como objetivo apresentar técnicas e metodologias de caracterização macro e microestruturais da palha de milho em função das diferentes variedades em estudo.

Materiais e métodos

Materiais

Palhas de milho selecionadas no programa de pesquisa da equipe da Embrapa Milho e Sorgo para qualidade em uso no artesanato.

Métodos

Foram empregados três tipos de técnicas de análises microscópicas, conduzidos em equipamentos de caracterização estrutural, sendo uma lupa da DMI modelo Motic SMZ-143 com aumento de 2x (Fig 1a), um microscópio ótico com luz polarizada (MOLP) marca Leica modelo DMRXP com aumento de 100x (Fig. 1b) e um microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca Philips modelo XL-30FEG (Fig. 1c).

As amostras analisadas utilizando a Lupa e o MOLP não receberam qualquer preparação anterior à análise, sendo dispostas em lâminas de vidro e as imagens captadas utilizando um software de aquisição de imagem da marca Image-Pro Plus. As amostras analisadas em MEV-FEG foram previamente coladas em porta-amostras específicos do equipamento, feito o caminho de condução utilizando tinta prata, sendo o espécime mantido sob vácuo por aproximadamente 1 hora e posteriormente, levado a câmara de pulverização de ouro, para formar a superfície condutiva sobre a amostra de palha de milho (20 nm).

Resultados e discussão

Nesse primeiro trabalho de caracterização microestrutural das palhas de milho foram testadas todas as técnicas possíveis de medidas microscópicas, iniciando com equipamento de menor resolução onde for possível identificar, após o ensaio de rasgamento da palha de milho em regiões paralelas as nervuras principais, as nervuras principais e secundárias (Fig. 2a) e os micro pêlos (Fig. 2b) dispostos na superfície do espécime.

As imagens obtidas em microscópio ótico de com luz polarizada e transmitida (MOLP), foram analisadas a superfície das nervuras e a rugosidade aparente (Fig 3) com identificação das mesmas .

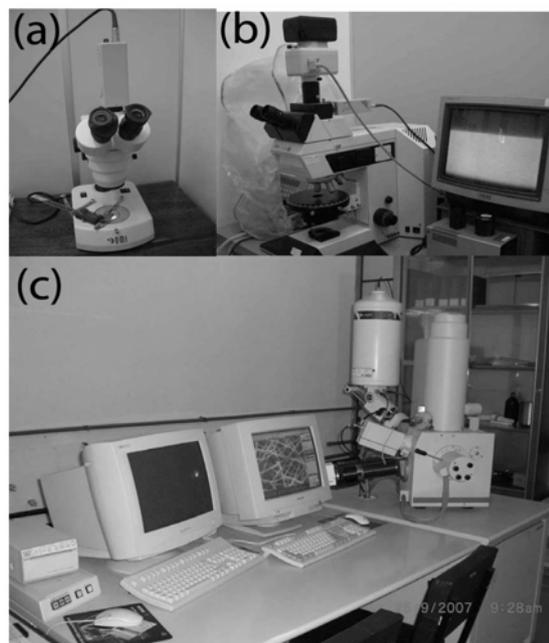


Figura 1. Equipamentos de microscopia utilizada: (a) Lupa; (b) Microscópio Ótico com Luz Polarizada; (c) FEG-MEV.

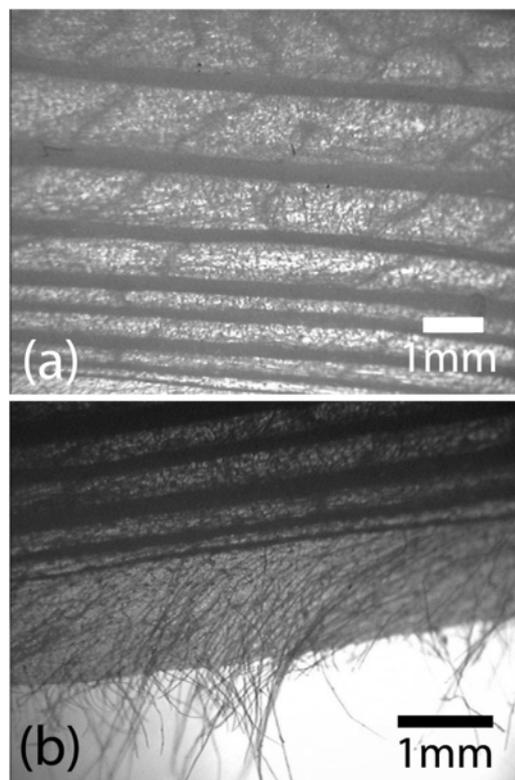


Figura 2. Microestrutura visual da superfície da palha de milho utilizando uma lupa.

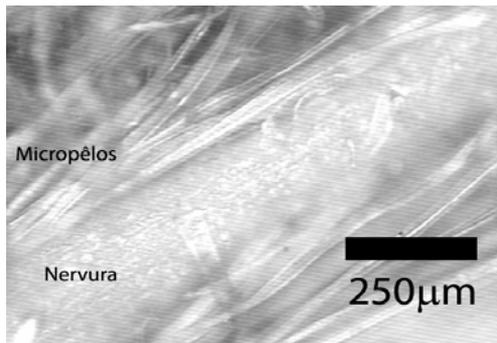


Figura 3. Microestrutura da superfície da palha de milho utilizando uma lupa MOLP.

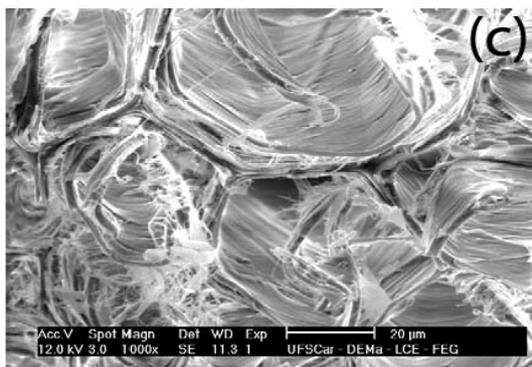
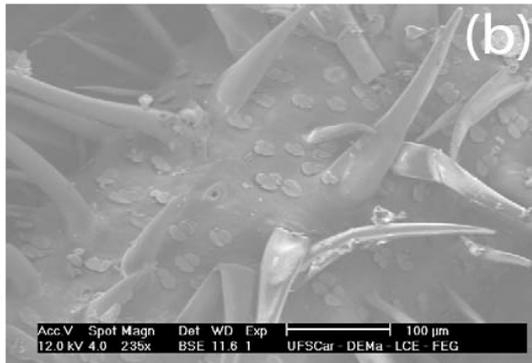
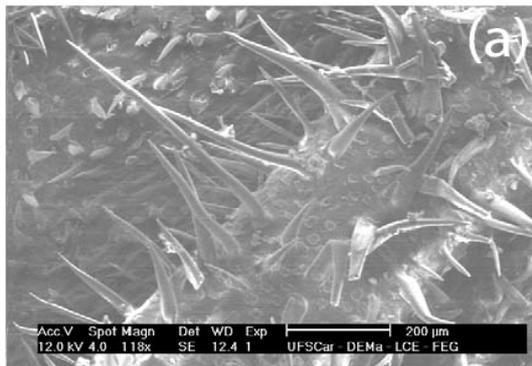


Figura 4. Fotomicrografias da palha de milho com barras de escala: (a) 200µm; (b) 100µm e, (c) 20µm.

As fotomicrografias obtidas em microscópio eletrônico da superfície da palha de milho podem ser observadas nas imagens da Figura 4. Através das imagens identificadas nas Figuras 4a e 4b, foi possível dimensionar o diâmetro das nervuras e sua superfície com os micro pêlos crescendo na direção radial das nervuras. A Figura 4 (c), obtida de corte transversal das nervuras principais, pode-se observar microfibrilas da palha na parede celular, com potencial para a obtenção de nanofibras de palha de milho.

Conclusões

A caracterização microestrutural da palha de milho pode ser realizada utilizando-se técnicas de microscopia, sendo uma importante ferramenta no fornecimento de subsídios para estudos de comparação de tipos diferentes de palha de milho e também, da possibilidade de obtenção de nanofibras para uso em nanocompósitos obtidas desse material.

Agradecimentos

A Embrapa, ao CNPq, à FINEP e ao Laboratório de Caracterização Estrutural – LCE do Departamento de Engenharia de Materiais da UFSCar pela infra-estrutura de microscopia.

Referências

- 1 TEIXEIRA, F. F.; VASCONCELOS, J. H.; ANDRADE, R. V.; NOVOTNY, E. H.; M NETTO, D. A.; MONTEIRO, M. A. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, CUIABÁ, 25; CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 25., 2004. [Resumos...]. [S. l.: s. n.], 2004.
- 2 SAWYER, L. C.; GRUBB, D. T. **Polymer Microscopy**. New York: Chapman&Hall, 1996.
- 3 MANNHEIMER, W. M. **Microscopia dos Materiais**. Rio de Janeiro; Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2002.



METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA E TERMO-DINÂMICO-MECÂNICA DE PALHA DE MILHO

José M. Marconcini*¹, Edson N. Ito^{1,2}, Douglas de Britto¹, Rodrigo M. Oliveira¹, Maria Cristina D. Paes³, Flávia França Teixeira³, Odílio B. G. de Assis¹

1 Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio - LNNA
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

2 Departamento de Engenharia de Materiais - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

3 Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

* marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC 4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Metodologias de caracterização da mecânica e termo-dinâmico mecânica de palhas de milho foram validadas por meio do estudo empregando ensaios mecânicos de tração e análise térmica dinâmico mecânica (DMA). Observaram-se diferenças de propriedades mecânicas e termo-dinâmico-mecânicas ao se variar sentido de preparação de corpo de prova, longitudinal ou transversal às nervuras das palhas de milho. Estudos mais aprofundados de caracterização mecânica e termo-dinâmico-mecânica da palha de milho e com nanofibras obtidas de palha de milho serão realizados em trabalhos futuros.

Palavras-chave: palha de milho, propriedades termomecânicas, DMA, propriedades mecânicas.

Introdução

Metodologias para análise das propriedades termomecânicas de resíduos agroindustriais são importantes para a descoberta de potencialidades e novos usos para esses resíduos. As características mecânicas de palhas de milho têm sido pouco estudadas, mesmo tendo esse material utilizado como matéria prima para fabricação de artigos de artesanato, como cadeiras e bonecas, aplicação essa sujeita a solicitações mecânicas. Além disso, a seleção de cultivares de milho, que apresentem boas características mecânicas da palha, necessita de metodologias precisas que auxiliem o melhorista a identificar os cultivares, fornecendo dados que tenham boa correlação com aqueles obtidos de avaliações sensoriais, realizadas pelos artesões.

As potencialidades de uso da palha em compósitos e a obtenção de nanoestruturas da palha de milho não foram ainda exploradas, portanto a caracterização dessas fibras vegetais precisam ser realizadas. Esse trabalho teve como objetivo avaliar metodologias de análise mecânica^{1,2} e termo-dinâmico-mecânica³ para palhas de milho, definindo o melhor método para avaliação dos atributos termomecânicos do material.

Materiais e métodos

Materiais

Palhas de milho provenientes de espigas de mesmo cultivar produzida em campo experimental (safra 2006/2007) do programa de seleção de palha com qualidade para artesanato foram utilizadas nos ensaios. As amostras secas foram mantidas em sacos de plástico até o preparo dos corpos de prova.

Métodos

1) Análise Térmica Dinâmico Mecânica de Palhas de Milho (DMA)

Amostras de palha de milho 30mm de comprimento e 6mm de largura foram cortadas diretamente ds palhas com molde tipo faca em prensa. Ensaios de DMA para a definição da metodologia foram realizados em um equipamento DMA Q800 (TA Instruments). Para determinação dos limites de forças máximas, que poderiam ser aplicadas durante esse ensaio, inicialmente foram definidas rampas de força de 0,5N/min nas temperaturas de -50, 25 e 100°C. Na seqüência, com a força máxima já determinada, foram realizadas análises com força dinâmica à frequência de 1Hz, na faixa de temperatura de -50 a 100°C, observando-se o comportamento mecânico (módulo de armazenamento e módulo de perda) das palhas de milho em função da temperatura. Semelhante aos ensaios de tração, as análises de DMA foram realizadas nos sentidos longitudinal e transversal às fibras de palha de milho, devido à anisotropia das propriedades mecânicas.

2) Ensaios Mecânicos de Tração de Palhas de Milho

Ensaios mecânicos de tração para a definição da metodologia foram realizados em Máquina Universal de Ensaios Mecânicos Emic modelo DL3000, célula de carga de 50kgf, velocidade de ensaio de 5 mm min⁻¹ e corpos de prova de 50mm de comprimento e 10mm de largura. Os ensaios foram realizados em cinco corpos de prova, em dois sentidos diferentes, longitudinal e transversal às fibras de palha de milho, devido à anisotropia das propriedades mecânicas nas duas direções, observadas sensorialmente. As medidas dimensionais (comprimento, largura e espessura) dos corpos de prova foram realizadas com paquímetro digital. O corte das amostras foi feito com tesoura, durante o qual foram formadas pequenas ranhuras nas bordas laterais dos corpos de prova, o que poderia causar erros no ensaio e dificuldade de cortar algumas amostras.

Resultados e discussão

Análise Termo-Dinâmico-Mecânica de Palhas de Milho (DMA)

- **Avaliação da resistência mecânica em três temperaturas, -50, 25 e 100°C, (rampa de força), para escolha de condições experimentais.**

A força estática para a realização dos ensaios foi selecionada a partir dos resultados das rampas de força a três temperaturas distintas (Fig. 1). Para a amostra testada, foi possível aplicar uma tensão mecânica na faixa de 2 a 4 MPa para manter a força estática durante o ensaio, região em que ocorre comportamento linear entre tensão e deformação e não ocorre ruptura da palha de milho. Não ocorreram problemas de quebra ou escorregamento dos corpos de prova durante as análises.

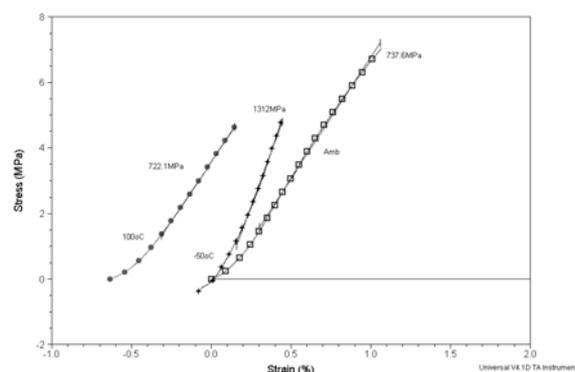


Figura 1. Rampas de força de palhas de milho a -50, 25 e 100°C.

▪ Avaliação do módulo de armazenamento (storage modulus) e $\tan \delta$ com a temperatura

Procedimento inicial: resfriamento a -60°C, equilíbrio por 2min, razão de aquecimento de 2°C/min até 100°C, sob força oscilatória com frequência de 1Hz.

Sentido Longitudinal

As primeiras análises não apresentaram reprodutibilidade com o procedimento inicial, com grande dispersão de resultados. Os valores de módulo de armazenamento ficaram entre 1000 e 1500MPa. Assim, o procedimento experimental foi modificado com aquecimento inicial a 100°C, isoterma de 5min. para secagem de amostra durante a análise, seguido de resfriamento a -60°C, razão de aquecimento de 2°C/min a 100°C, devido a possível influência de umidade na amostra. Após essa modificação, observou-se reprodutibilidade no comportamento mecânico do material, que é um indicativo da influência da umidade no comportamento mecânico da palha de milho.

Observou-se um decréscimo do módulo de armazenamento com o aumento da temperatura, sendo o material mais rígido a baixas

temperaturas, reduzindo a rigidez com o aumento de temperatura.

Porém, o módulo de armazenamento dentro de uma mesma palha de milho variou em valores de 1500 a 2500 MPa, indicando valores maiores e de maior rigidez do que os sem aquecimento, o que demonstra uma grande dispersão de resultados, característico da natureza do material.

Os valores $\tan \delta$ não apresentaram variações significativas durante a análise, com valores máximos em torno de 0,02. Como quando ocorrem transições térmicas, como a transição vítrea, o valor de $\tan \delta$ varia, em geral, mais que 0,1, não foram observadas transições térmicas nítidas da palha de milho. Entretanto, pode ter havido uma transição muito sutil na faixa de temperatura entre 0 e 20°C, de difícil localização, observando-se pelos gráficos do módulo de armazenamento versus temperatura.

Sentido Transversal

Os ensaios no sentido transversal das nervuras da palha foram todos realizados com pré-aquecimento antes das análises, similar à metodologia anterior. Os valores de módulo de armazenamento observados foram menores que os da longitudinal (na faixa de 100 a 600MPa) e com o mesmo comportamento de redução do módulo de armazenamento em relação ao aumento da temperatura, sem a observação de uma transição nítida, e também com grande variação nos resultados. Similarmente à longitudinal, os valores $\tan \delta$ não apresentaram variações significativas durante a análise, com variações máximas em torno de 0,02. Porém, o ruído nas análises aumentou consideravelmente, o que pode ter relação com a frequência de oscilação e o fato do ensaio ser realizado no sentido “sanfonado” da amostra, resultando em imprecisões nas medidas de deformação. Nesse caso, há a necessidade de um ajuste de parâmetros experimentais para melhor adequação das condições de ensaio conduzidos na seção transversal.

A análise de DMA é uma excelente ferramenta para avaliação das propriedades mecânicas de materiais onde exista uma transição bem definida, explorando-se melhor a região com mudanças nas análises. Porém, no caso da palha de milho, não se observou uma transição pronunciada, além de uma dispersão muito grande de resultados. Deve-se estar atento e propor novas metodologias devido aos problemas ocasionados pela umidade.

- **Ensaio Mecânico de Tração de Palhas de Milho.**

Nos ensaios de tração foram realizados 5 ensaios na longitudinal e 5 ensaios na transversal. Somente um corpo de prova na longitudinal (o ensaio 2) apresentou escorregamento e uma amostra na transversal rompeu na região da garra (o ensaio 2), invalidando esses ensaios. A fita dupla face mostrou-se mais eficiente em tempo de preparo de amostra e também por não contaminar a região útil do corpo de prova. Para uma primeira estimativa, os resultados para os corpos de prova válidos (excluindo-se o ensaio 2) estão apresentados na tabela 1. Para uma análise inicial, pode-se observar maior resistência mecânica na longitudinal e uma dispersão de resultados alta, com altos desvio padrão e coeficiente de variação. Assim, seria recomendado o aumento no número de corpos de prova, tanto para melhorar a estimativa da média, quanto para verificar o comportamento de dispersão dos resultados.

Tabela 1. Resultados obtidos dos ensaios mecânicos

CP	Força na ruptura (N)		Deformação na ruptura (%)	
	Longitudinal	Transversal	Longitudinal	Transversal
1	54,69	5,81	8	6
3	41,91	3,83	5	2
4	25,79	7,45	4	6
5	42,85	11,28	4	10
Média	41,31	7,09	5	7
DP	11,87	3,16	1,4	4,2
CV (%)	28,7	44,6	28	61

Conclusões

Nos ensaios mecânicos para avaliação de palha de milho seca, deve-se aumentar a quantidade de corpos de prova e modificar a metodologia de corte dos corpos de prova para facas, cortando na prensa, semelhante ao DMA.

Os resultados tanto dos ensaios de tração quanto os ensaios de DMA mostraram a diferença de propriedades mecânicas existentes entre medidas no sentido longitudinal e transversal às nervuras das palhas de milho, quantificando estes valores.

Agradecimentos

Este trabalho foi amparado pelas agências de fomento: Embrapa, CNPq e FINEP.

Referências

- 1 SOUZA, S. A. **Ensaio Mecânico de Materiais Metálicos**. 5. ed. [S. l.]: Ed. Edgard Blucher, 1982.
- 2 TAGER, A. **Physical Chemistry of Polymer**. Moscou: Mir Publishers, 1978.
- 3 SPERLING, L. H. **Introduction to Physical Polymer Science**. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, 1992.



COMPORTAMENTO INTERFACIAL DE COMPÓSITOS DE POLI(TEREFTALATO DE ETILENO) RECICLADO (PETR) COM FIBRAS DE BAGAÇO DE CANA

José M. Marconcini*¹, Edson N. Ito^{1,2}, Elisangela Corradini.^{1,2}, Carlos Triveño Rios¹,
José A.M. Agnelli², Luiz H.C. Mattoso¹

1 Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio – LNNA
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

2 Departamento de Engenharia de Materiais - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
* marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Compósitos de poli(tereftalato de etileno) reciclado (PET_r) obtidas de garrafas de refrigerantes foram obtidas com fibras de bagaço de cana utilizando-se diferentes tipos de agentes de compatibilização. O comportamento interfacial foi avaliado por meio de medidas reológica, mecânica e morfológica, onde foi utilizado reômetro de torque HAAKE, resistência à tração uniaxial e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados mostraram melhora na adesão utilizando diferentes compatibilizantes, o que viabiliza estes compósitos como alternativa para produtos ecologicamente corretos.

Palavras-chave: compósitos, fibras naturais, poli(tereftalato de etileno) reciclado, fibras de bagaço de cana

Introdução

A reciclagem de poli(tereftalato de etileno)(PET) representa um dos exemplos mais importantes de sucesso da reciclagem de polímeros ¹. Um dos principais mecanismos responsáveis pelo aumento da reciclagem pós-consumo do PET é a grande variedade de aplicações para os reciclados, como, por exemplo, fibras monofilamento, chapas extrudadas e peças injetadas, aliada à agregação de valor deste material ¹. Novos usos de fibras naturais como aditivos em materiais compósitos representam um grande potencial para aumento do desempenho e aplicações tecnológicas, devido ao seu baixo custo, abundância, biodegradabilidade e alta resistência específica ². Isto é especialmente importante se tais fibras são resíduos de processos da agroindústria, se suas propriedades no uso em

materiais compósitos apresentam sinergia com a matriz polimérica ³ e estão de acordo com as demandas ecológicas e sociais. Este é o caso da fibra do bagaço de cana, a qual é largamente produzida no Brasil como um sub-produto da indústria do açúcar e do etanol ⁴. O objetivo deste trabalho foi estudar e produzir compósitos utilizando-se PET reciclado com fibras de bagaço de cana. Foi avaliado o comportamento interfacial entre a matriz e a fase dispersa de fibra vegetal, utilizando dois diferentes agentes de compatibilização interfacial.

Materiais e métodos

Materiais

Poli(tereftalato de etileno) reciclado (PET_r) grau garrafa na forma de grânulos foi utilizado como matriz polimérica. As fibras de bagaço de cana de

açúcar (FC) com comprimento menor do que 3mm foram gentilmente fornecidas pela EDRA Ecosistema Ltda. Um copolímero de etileno e acrilato de metila (EMA) contendo 24% de acrilato de metila, comercialmente conhecido como Elvaloy® 1224AC e um etileno/n-acrilato de butila/metacrilato de glicidila (EBGMA), comercialmente conhecido como Elvaloy® PTW da DuPont foi utilizado como agentes de compatibilização interfacial.

Métodos

Na Tabela 1 são apresentadas as composições que foram misturadas no reômetro de torque Haake utilizando uma câmara de mistura Rheomix600 a 230°C e 50rpm por 10 minutos. Todos os materiais foram previamente secos a 80°C sob vácuo antes da etapa de mistura no estado fundido. Filmes finos com dimensões de 80x80x0,5mm foram moldadas por compressão a 250°C. A seqüência de processamento para obtenção dos filmes (Figura 1) foi de tempo de fusão de 3 minutos sem aplicação de pressão, seguido de aplicação de 4 toneladas de força por 0,5 min com posterior resfriamento em gelo.

Tabela 1. Formulações dos compósitos PET_r/fibra de bagaço de cana

#	Materiais	%em massa
1	PET _r	100
2	EMA	100
3	EBGMA	100
4	PET _r /EMA	95/5
5	PET _r /EBGMA	95/5
6	PET _r /FC	95/5
7	PET _r /FC/EMA	90/5/5
8	PET _r /FC/EBGMA	90/5/5
9	EMA/FC	95/5
10	EBGMA/FC	95/5

As amostras para ensaios de tração uniaxial foram confeccionadas dos filmes apresentadas na Figura 1. Os corpos de prova de ensaios de tração foram condicionados e testados de acordo com a norma ASTM D882, utilizando-se uma máquina de ensaio universal, EMIC modelo DL3000 com uma célula de carga de 50kgf e velocidade do travessão de 5mm/min. A análise morfológica foi realizado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um microscópio Philips XL-30 FEG para avaliar a adesão interfacial entre o PET_r e a fibra de bagaço de cana.

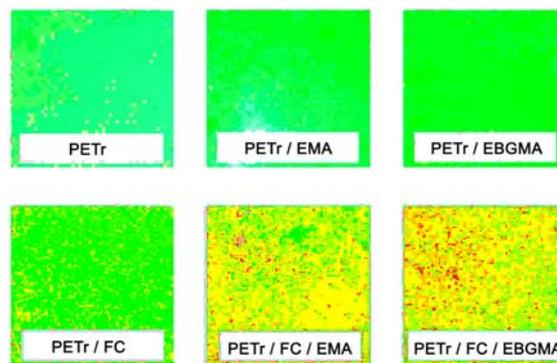


Figura 1. Filmes produzidos por moldagem por compressão.

Resultados e discussão

Como pode ser visualizado na Figura 1, uma textura e aspecto visual muito boa foi obtida para todos os compósitos com fibras de bagaço de cana. Os resultados de reometria de torque apresentados na Figura 2 mostram que a presença de 5% em massa de compatibilizante, EMA ou EBGMA, aumenta a viscosidade dos sistemas PET_r/EMA ou PET_r/EBGMA. Este aumento de viscosidade é um indício que alguma interação de sinergismo está ocorrendo nestas misturas.

O efeito do sinergismo foi obtido a partir dos valores de torque experimental pela subtração dos valores do torque calculado usando a regra da aditividade. Estes valores foram de 1,1N.m e 0,4N.m para PET_r/EMA e PET_r/EBGMA, respectivamente. Estes resultados também indicam que a interação ente PET_r com EMA é maior do que PET_r com EBGMA.

A adição de 5% em massa de FC no PET_r fazem os valores de torque diminuírem quando eles são comparados com o PET_r puro. Por outro lado, a adição de EMA no PET_r/FC conduz a um aumento nos valores de torque para cerca de 0,2N.m. Um aumento de 0,4N.m nos valores de torque foi observado no torque pela adição de EBGMA nestas amostras, indicando que o sistema PET_r/FC/EBGMA apresenta uma maior interação.

A Figura 3 mostra a adesão pobre do sistema EMA/FC, enquanto no EBGMA/FC verifica-se uma boa adesão. Estes resultados são um indicativo de que diferentes tipos de interações estão ocorrendo. Sugere-se que a interação entre EMA e o FC é principalmente formada pelas ligações secundárias e a interação entre EBGMA e a FC ocorrem predominantemente através de ligações primárias.

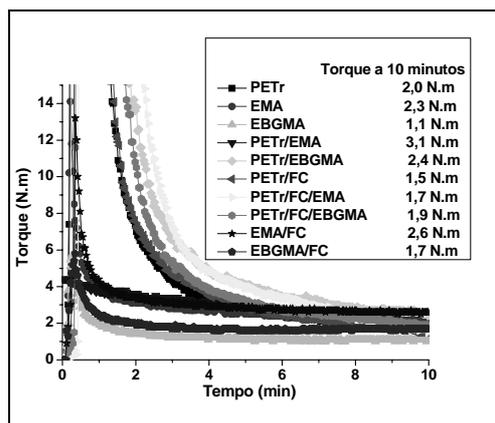


Figura 2. As curvas de torque obtidas em um reômetro de torque Haake em função do tempo de mistura a 230°C e 50rpm.

Na Tabela 2, verificou-se que os valores de módulo de elasticidade dos compósitos não foram influenciados pela adição de FC, assim como também pela adição dos agentes de compatibilização.

A resistência máxima a tração e a elongação diminuem quando comparadas com o PET_r puro, o que pode ser justificado pela baixa resistência mecânica das fibras de bagaço de cana.

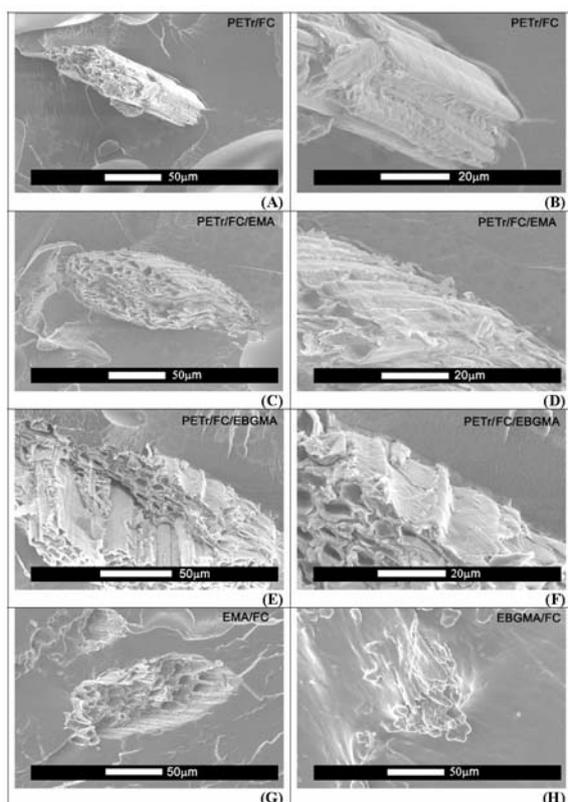


Figura 3 – Fotomicrografia de MEV dos compósitos: (A) e (B) PET_r/FC; (C) e (D) PET_r/FC/EMA; (E) e (F) PET_r/FC/ EBGMA; (G) EMA; (H) EBGMA/FC.

Tabela 2. Resultados dos ensaios de tração.

Materiais	Resistência a tração (MPa)	Módulo de elasticidade (GPa)	Elongação na força máxima (%)
PET _r	42.8 ± 1.5	1.3 ± 0.1	5.0 ± 0.4
PET _r / EMA	38.6 ± 0.4	1.3 ± 0.1	4.7 ± 0.2
PET _r / EBGMA	39.8 ± 0.9	1.3 ± 0.1	4.9 ± 0.1
PET _r / FC	24.8 ± 1.7	1.3 ± 0.1	3.1 ± 0.2
PET _r / FC / EMA	24.9 ± 1.7	1.3 ± 0.1	3.1 ± 0.1
PET _r / FC / EBGMA	24.6 ± 1.1	1.1 ± 0.1	3.5 ± 0.2

A Figura 3 mostra as fotomicrografias dos compósitos com FC obtidos por MEV. Foi possível observar a interface compatibilizada quando utiliza-se o EBGMA na formulação dos compósitos.

Através da Figura 3(G) e (H), verifica-se que o EMA não apresenta uma boa interação, mas para o sistema com EBGMA uma boa adesão parece estar ocorrendo através da boa molhabilidade da matriz sobre a fibra de bagaço de cana.

Conclusões

As análises reológicas e morfológicas mostraram que o EBGMA apresentou um melhor efeito de adesão do que o EMA para compósitos PET_r com fibras de bagaço de cana. O nível de propriedades mecânicas avaliadas nos compósitos apresenta-se ainda em um nível adequado para o uso em diferentes tipos de produtos.

A textura e o aspecto visual dos compósitos em todas as formulações apresentam-se muito satisfatório. PET reciclado com fibras de bagaço de cana podem ser uma boa alternativa para produzir produtos ecologicamente corretos

Agradecimentos

Este trabalho foi amparado pelas agências de fomento: CNPq, FAPESP, FINEP e PRONEX (CNPq/FINEP).

Referências

- SCHEIRS, J. **Polymer Recycling: Science, Technology and Applications**. New York: John Wiley & Sons, 1998.
- TSERKI, V.; MATZINOS, P.; PANAYIOTOU, C. **Composites A**, [S. l.], v. 37, p. 1231, 2006.
- GARCIA-HERNARDES, E.; LICEA-CLAVERÍE, A.; ZIZUMBO, A.; ALVAREZ-CASTILHO, A.; HERRERA-FRANCO, P. **Polym. Compos.**, [S. l.], v. 25, n. 134, 2004.
- RIPOLI, T. C.C.; MOLINA JR., W. F.; RIPOLI, m. L. C. **Scientia Agricola**, [S. l.], v. 57, p. 677, 2000.



TÉCNICAS DE OTIMIZAÇÃO DO PROCESSAMENTO DE NANOCOMPÓSITOS DE POLI(METACRILATO DE METILA) E SÍLICA OBTIDA DE FONTES VEGETAIS

José M. Marconcini^{1*}; Edson N. Ito^{1,2}; Wilson T. L. Silva¹; Caue Ribeiro¹, Washington L. E. Magalhães³, Elias Hage Jr ², Luiz H. C. Mattoso¹

1 Laboratório Nacional de Nanotecnologia aplicada para o Agronegócio – LNNA
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

2 Departamento de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

3 Embrapa Florestas, Colombo, PR.

*marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC 4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Neste trabalho foram preparados nanocompósitos utilizando-se dois termoplásticos comerciais, o poli(metacrilato de metila) (PMMA) e uma blenda de PMMA/elastômero (PMMAel), com nanossílica obtida de cavalinha (*Equisetum arvense L.*). Para o estabelecimento das condições de processamento dos compósitos as propriedades reológicas, térmicas e morfológica destes foram investigadas. A adição de nanopartículas de sílica promoveu um aumento na viscosidade e nas propriedades térmicas do PMMA. A incorporação de nanossílica em matrizes termoplásticas a partir de processamento no estado fundido mostra-se uma abordagem viável e promissora na obtenção de nanocompósitos.

Palavras-chave: acrílico, Poli(metacrilato de metila), sílica, nanocompósitos, *Equisetum arvense L.*

Introdução

Recentemente, nanocompósitos têm atraído a atenção de pesquisadores da academia, dos governos e da indústria devido a suas novas propriedades ^{1,2}. O poli(metacrilato de metila) (PMMA) é um importante termoplástico amorfo, transparente, com boa resistência química e à radiações ultravioleta. Uma das estratégias que pode se empregada na modificação de polímeros é a adição de nanopartículas à matriz polimérica, tais como argilas modificadas, partículas de sílica, nanotubos de carbono, nanofibras de carbono e negro de carbono ³⁻⁶. Para aumentar a estabilidade térmica e propriedades mecânicas do PMMA, nanopartículas de sílica sintetizadas ⁴ têm sido utilizadas em compósitos híbridos ^{7,8} e também em sistemas de PMMA adsorvida em sílica ⁹.

Estudos com agentes de acoplagem para o sistema PMMA/sílica também vem sendo avaliados ¹⁰. A utilização e o estudo de novas fontes de sílica provenientes de vegetais são importantes para o conhecimento e o desenvolvimento tecnológico. *Equisetum arvense L.* (nome popular: “Cavalinha”) é uma planta rica em sílica, membro da família Equisetophyta ¹¹. O objetivo deste trabalho é a preparação e o estudo por meio das propriedades reológicas, térmicas e morfológicas na otimização do processamento de nanocompósitos de PMMA com nanossílica obtida de *Equisetum arvense L.*

Materiais e métodos

Materiais

Dois diferentes tipos de Poli(metacrilato de metila) foram utilizados, denominados PMMA 01DHAF (PMMA) e blenda de PMMA/elastômero (PMMAel) gentilmente cedidos pela Resarbras da Bahia. As nanopartículas de sílica foram obtidas a partir da queima controlada de caule de *Equisetum arvense L.*, usando condições similares as descritas em Sousa *et. al*¹². O copolímero MMA-GMA foi sintetizado de acordo com Ito¹³ e usado como compatibilizante interfacial.

Métodos

Grânulos de PMMA e PMMAel foram pulverizados em moinho criogênico. Todos os materiais foram previamente secos 12h a 70°C sob vácuo antes do processamento. Partículas de sílica diluídas em água foram dispersas em ultrassom por 5 minutos antes da caracterização morfológica usando um microscópio eletrônico de transmissão (TEM; Philips CM200, operando a 200kV). A caracterização reológica dos polímeros e compósitos foram realizadas em um misturador Rheomix 600 conectado a um reômetro de torque HAAKE a 22°C a 50rpm por 10min. Os compósitos foram extrudados usando uma extrusora dupla rosca co-rotacional (d=19mm and L/D=25) da B&P Process Equipment and Systems modelo MP19-TC, com perfil de temperatura de 200°C na zona de alimentação e 220°C nas outras zonas. Os corpos de prova foram injetados em injetora Arburg Allrounder modelo 270V, com perfil de temperatura de 210°C na zona de alimentação e 240°C nas zonas subseqüentes e temperatura de molde de 50°C. Termogravimetria dos materiais foi realizada em um equipamento TGAQ500 (TA Instruments), sob atmosfera de nitrogênio, porta-amostra de platina, massa de amostras em torno de 10 mg, a 10°Cmin⁻¹ de temperatura ambiente a 800°C. Para análise morfológica dos compósitos, os corpos de prova moldados foram ultramicrotomados em filmes filmes de 30nm de espessura a -60°C em um ultramicrotomo e as morfologias observadas em um microscópio eletrônico de transmissão (MET) PHILIPS CM120, operando a 120kV.

Resultados e discussão

Na figura 1a mostra a morfologia das partículas de sílica obtidas da Cavalinha, sob a forma de aglomerados rígidos. O tamanho de partícula observado apresentou grande dispersão na faixa de 20 a 100nm, o que provavelmente ocorreu

devido a pré-sinterização das partículas durante a sua obtenção.

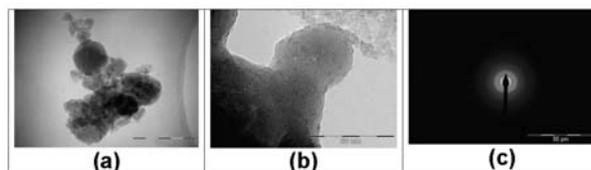


Figura 1: Fotomicrografias (MET) do pó de sílica de Cavalinha.

A figura 1b (ampliação da figura 1a) mostra partículas de 20 a 30nm coalescentes, indicando que processos de transferência de massa entre as partículas, um fenômeno característico de processo de sinterização de partículas. Na figura 1c pode se observar o padrão de difração de raios X das nanopartículas com uma halo central amorfo muito difuso, característico de sílica amorfa.

Tabela 1: Temperatura de início de degradação (T_{deg}) dos nanocompósitos estudados.

Composição (%massa)	T_{deg} (°C)
PMMA	334,3
PMMA/SiO ₂ (98/2)	341,6
PMMA/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	341,6
PMMAel	364,5
PMMAel/SiO ₂ (98/2)	348,1
PMMAel/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	353,6

Na tabela 1 observa-se que a adição de nanossílica no PMMA aumentou em 7°C a estabilidade térmica dos nanocompósitos. Este resultado é altamente desejável pois uma das limitações deste material puro é a sua temperatura de início de degradação. Também é um resultado que está de acordo com a literatura, onde se observou comportamento similar para materiais híbridos de PMMA/sílica⁷. Para o PMMAel observou-se um efeito de redução na temperatura de início de degradação nos compósitos. Este efeito pode ter ocorrido devido a uma possível catálise da degradação da fase elastomérica ocasionado pelas nanopartículas de sílica, já que no PMMA sem elastômero este fenômeno não é observado. Na figura 2 são apresentados os resultados de reometria de torque. Estes resultados mostram que a adição de nanopartículas de sílica aumentou o torque a 10 minutos de mistura, o que é um indicativo de aumento de viscosidade do compósito ao se comparar com o polímero puro. Este aumento observado demonstra interação entre os constituintes do sistema.

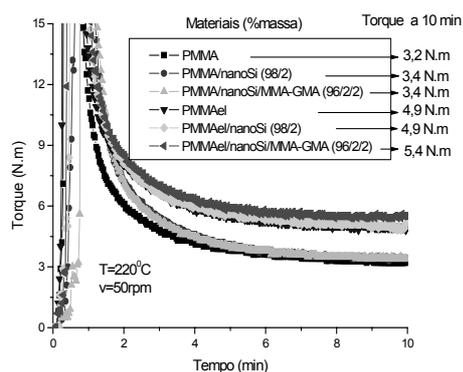


Figura 2: Reometria de torque dos nanocompósitos estudados.

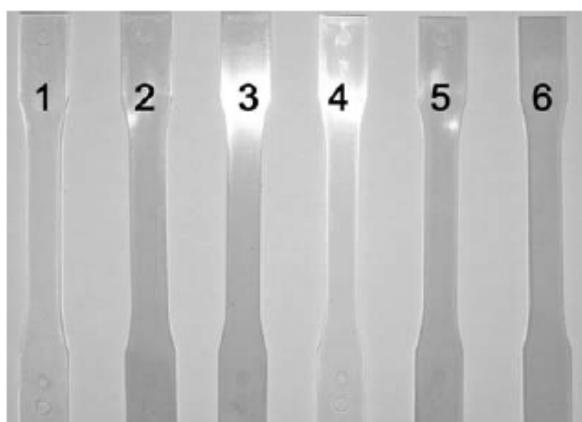


Figura 3: Corpos de prova moldados por injeção (1) PMMA; (2) PMMA/nanoSi; (3) PMMA/nanoSi/MMA-GMA; (4) PMMAel; (5) PMMAel/nanoSi; (6) PMMAel/nanoSi/MMA-GMA.

Na Figura 3 apresentam-se os corpos de prova moldados por injeção, o que demonstra a processabilidade destes materiais em equipamentos convencionais de processamento de polímeros. A coloração dos nanocompósitos demonstra a potencialidade da utilização da nanossílica obtida de Cavalinha com agente fosqueante, em substituição a sílicas amorfas comerciais (sílica pirolítica e sílica precipitada).

Na Figura 4, os resultados de MET mostram a presença de aglomerados após o processamento, semelhantes em morfologia aos agregados da Figura 1. Este tipo de morfologia pode contribuir negativamente na performance de propriedades mecânicas dos compósitos.

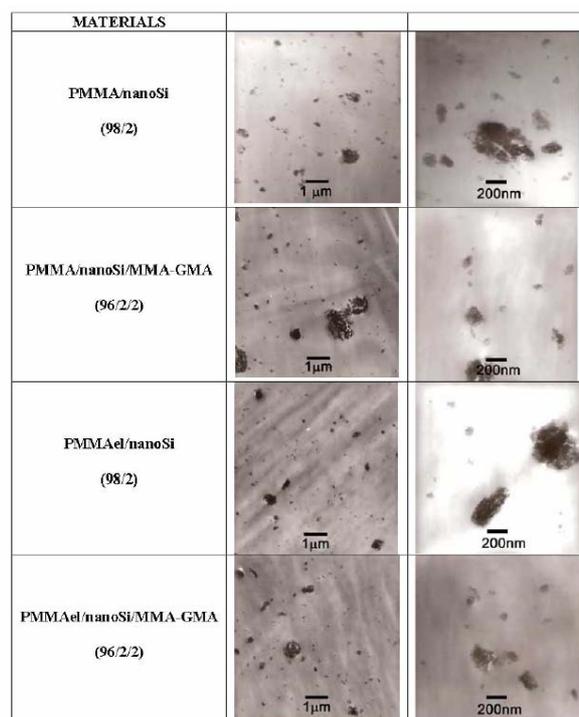


Figura 4: Fotomicrografias (MET) dos nanocompósitos estudados.

Conclusões

A adição de nanopartículas de sílica promoveu um aumento na viscosidade e nas propriedades térmicas do PMMA. A incorporação de nanossílica em matrizes termoplásticas a partir de processamento sob fusão mostra-se uma abordagem viável e promissora na obtenção de nanocompósitos com matriz termoplástica.

Referências

- LAACHACHI, M.; COCHEZ, E.; LEROY, M.; FERRIOL, J. M.; LOPEZ-CUESTA. **Polymer Degradation and Stability**, [S. l.], v 92, p. 61, 2007.
- ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. **Materials Sci. & Eng.** [S. l.], v. 28, n. 1, 2000.
- ETIENE, S.; BECKER, C.; RUCH, D.; GRIGNARD, B.; CARTIGNY, G.; DETREMBLEUR, G.; CALBERG, C.; JEROME, R. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 87, p. 101, 2007.
- YANG, H.; HUANG, C-Y.; XANTHO, M. [S. l.]: ANTEC, 2006 526 p.
- KASHIWAGI, T.; MORGAN, A. B.; ANTONUCCI, J. M.; VANLANDINGHAM, M. R.; HARRIS JR., R. H.; AWAD, W. H.; SHIELDS, J. R. **J. Appl. Polym. Sci.** [S. l.], v. 89, p. 2072, 2003.

6 KASHIWAGI, T.; DU, F.; DOUGLAS, J. F.; WINEY, K. I.; RICHARD, H.; HARRIS JR, J.R. SHIELDS. **Nature Materials**, [S. l.], v. 4, p. 928, 2005.

7 SUGIMOTO, H.; DAIMATSU, K.; NAKANISHI, E.; OGASAWARA, Y.; YASUMURA, T.; INOMATA, K. **Polymer**, [S. l.], v. 47, p. 3754, 2006.

8 GROSS, S.; CAMOZZO, D.; NOTO, V. D.; ARMELAO, L.; TONDELLO, E. **European Polymer Journal**, [S. l.], v. 43, p. 673, 2007.

9 BLUM, F. D.; YOUNG, E. N.; SMITH, G.; SITTON, O. C. **Langmuir**, [S. l.], v. 22, p. 4741, 2006.

10. HUANG, Z. H.; QIU, K. Y. **Polymer**, [S. l.], v. 38, p. 521, 1997.

11 MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. HENSE, H. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 28., 2002. [Anais...]. [S. l.: s. n.], 2002. p. 3577. v.1.

12 SOUZA, M. F.; MAGALHÃES, W. L. E.; PERSEGIL, M. C. **Materials Research**, [S. l.], v. 5, p. 467, 2002.

13 ITO, E. N. 2006. (PhD Thesis) - Federal University of Sao Carlos, São Carlos.



CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA E TÉRMICA DE NANOCOMPÓSITOS DE POLI(METACRILATO DE METILA) (PMMA) E SÍLICA OBTIDA DE FONTES VEGETAIS

José M. Marconcini^{1*}; Edson N. Ito^{1,2}; Washington L. E. Magalhães³, Elias Hage Jr², Luiz H. C. Mattoso¹

1 Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio - LNNA
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

2 Departamento de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

3 Embrapa Florestas, Colombo, PR.

*marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC 4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Neste trabalho foram caracterizados nanocompósitos constituídos de matriz de poli(metacrilato de metila) (PMMA) e de uma outra matriz de blenda de PMMA/elastômero, tendo como fase dispersa a nanossílica obtida de “Cavalinha” (*Equisetum arvense L.*). As propriedades mecânicas, termomecânicas e a flamabilidade destes compósitos foram avaliadas, comparando-se com as propriedades dos materiais puros. As propriedades mecânicas dos compósitos apresentaram pequenas variações quando comparadas aos polímeros puros e estes resultados podem ser compreendidas por meio da análise das propriedades morfológicas.

Palavras-chave: acrílico, Poli(metacrilato de metila), sílica, nanocompósitos, *Equisetum arvense L.*

Introdução

Nanocompósitos poliméricos são considerados uma nova classe de compósitos, constituídos por uma matriz polimérica e partículas inorgânicas com dimensões típicas de 1 a 10³ nm. Uma série de micro ou nanocargas mostraram-se como eficientes aditivos em estabilidade térmica e retardância de chama de polímeros^{1,2,3}. Os acrílicos são uma importante classe de polímeros transparentes, com boa resistência a radiações UV e a produtos químicos. Porém, limitações como a resistência térmica deste material, podem restringir seu uso em temperaturas mais elevadas. Para melhorar as propriedades de termoplásticos, o uso de nanotecnologia tem sido realizado, como a adição de nanopartículas à matriz polimérica, tendo como exemplo, nanotubos de carbono,

argilas modificadas, partículas de sílica, nanofibras de carbono e negro de carbono³⁻⁶. As estratégias para aumentar a estabilidade térmica e propriedades mecânicas do poli(metacrilato de metila) (PMMA) que tem surgido na literatura são a adição de nanopartículas de sílica sintetizadas⁴ síntese de compósitos híbridos^{7,8}, adsorção de PMMA em sílica⁹ e adição de agentes compatibilizantes no sistema PMMA/sílica¹⁰. Sílicas provenientes de vegetais vem sendo estudadas, como por exemplo, o uso de casca de arroz como fonte de obtenção de sílica¹¹. A “Cavalinha” (*Equisetum arvense L.*) uma planta utilizada como diurético em fitoterapia. é rica em sílica, membro da família Equisetophyta¹². Neste trabalho o objetivo foi à caracterização das propriedades mecânicas, térmicas e de flamabilidade de nanocompósitos de PMMA com nanossílica obtida de *Equisetum arvense L.*

Materiais e métodos

Materiais

Dois diferentes tipos de Poli(metacrilato de metila) foram utilizados, denominados PMMA 01DHAF (PMMA) e blenda de PMMA/elastômero (PMMAel) gentilmente cedidos pela Resarbras da Bahia. As nanopartículas de sílica foram obtidas a partir da queima controlada de caule de *Equisetum arvense L.*, usando condições similares às descritas em Sousa et. al.¹¹. O copolímero MMA-GMA foi sintetizado de acordo com Ito¹³ e usado como compatibilizante interfacial.

Métodos

Grânulos de PMMA e PMMAel foram pulverizado em moinho criogênico. Todos os materiais foram previamente secos 12h a 70°C sob vácuo antes do processamento. Os compósitos foram extrudados usando uma extrusora dupla rosca co-rotacional (d=19mm and L/D=25) da B&P Process Equipment and Systems modelo MP19-TC, com perfil de temperatura de 200°C na zona de alimentação e 220°C nas outras zonas. Os corpos de prova foram injetados em injetora Arburg Allrounder modelo 270V, com perfil de temperatura de 210°C na zona de alimentação e 240°C nas zonas subseqüentes e temperatura de molde de 50°C. Para cada composição pelo menos 5 corpos de prova de ensaio de tração (ASTM D638 tipo I) foram ensaiados em uma máquina INSTRON modelo 5569, a 5mm min⁻¹. Os ensaios de impacto Izod foram realizados em pelo menos 10 corpos de prova, de acordo com a norma ASTM D256 em uma máquina CEAST modelo Resil25. As medidas de temperatura de distorção térmica, HDT, (ASTM D648-01) foram conduzidas usando-se um equipamento HDT/Vicat da CEAST modelo HDT6Vicac.

Medidas de dureza Rockwell M hardness (ASTM D785 – 98) foram realizadas em um durômetro SÛSSEN-WOLPERT tipo Testor HT1. A taxa de queima na posição horizontal foi realizada de acordo com a norma ASTM D625-98.

Resultados e discussão

Na tabela 1 apresentam-se os resultados dos ensaios de tração dos polímeros e compósitos estudados.

As propriedades mecânicas dos compósitos apresentaram pequenas variações, observando-se uma sutil redução na resistência à tração, na deformação na ruptura e nenhuma variação significativa no módulo de elasticidade.

Tabela 1. Resultados dos ensaios de tração para o PMMA, PMMAel e seus nanocompósitos com sílica obtida de *Equisetum arvense L.*

Composição (% massa)	Resistência à tração (MPa)	Módulo de elasticidade (GPa)	Elongação na Ruptura (%)
PMMA (100)	58,1 ± 1,6	3,0 ± 0,3	3,3 ± 0,7
PMMA/SiO ₂ (98/2)	56,2 ± 2,7	3,0 ± 0,2	2,7 ± 0,3
PMMA/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	53,6 ± 3,4	3,1 ± 0,2	2,4 ± 0,3
PMMAel (100)	49,2 ± 0,8	2,4 ± 0,2	22,6 ± 3,2
PMMAel/SiO ₂ (98/2)	49,0 ± 0,3	2,5 ± 0,2	22,7 ± 3,2
PMMAel/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	48,8 ± 0,5	2,5 ± 0,2	24,4 ± 4,9

Na tabela 2 apresentam-se os resultados de ensaios de impacto Izod e de dureza superficial Rockwell. Pode-se observar uma redução na resistência ao impacto Izod dos nanocompósitos em relação ao PMMA (ou PMMAel) puro. Este fato indica uma mudança de comportamento de fratura da matriz polimérica, o que pode estar relacionada com a presença da fase inorgânica não totalmente dispersa, com a presença de aglomerados¹⁴. Com relação à dureza superficial, as nanopartículas de sílica foram efetivas no aumento desta propriedade para o PMMA, enquanto para o PMMAel não apresentou variação de propriedade. Em aplicações com necessidade de aumento de dureza superficial encontra-se uma potencialidade de aplicação da nanossílica adicionada ao PMMA.

Tabela 2. Resultados dos ensaios de impacto Izod e dureza Rockwell para o PMMA, PMMAel e seus nanocompósitos com sílica obtida de *Equisetum arvense L.*

Composição (% massa)	Resistência ao impacto Izod (J/m)	Dureza Rockwell (HR)
PMMA (100)	31,1 ± 1,7	50 ± 2
PMMA/SiO ₂ (98/2)	25,0 ± 1,2	57 ± 4
PMMA/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	24,5 ± 1,0	57 ± 4
PMMAel (100)	41,8 ± 4,0	123 ± 3
PMMAel/SiO ₂ (98/2)	35,2 ± 1,1	123 ± 4
PMMAel/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	36,6 ± 1,0	123 ± 3

Na tabela 3, os resultados de HDT são apresentados, mostrando um sutil aumento desta propriedade dos nanocompósitos. Isto é um indicativo que a propriedade de distorção térmica é sensível à presença de sílica, o que pode ser intensificado em maiores concentrações do aditivo.

Tabela 3. Propriedades termo-mecânica (HDT) e de flamabilidade (taxa de queima) do PMMA, PMMAel e seus nanocompósitos com sílica obtida de *Equisetum arvense* L.

Composição (% massa)	HDT (°C)	Taxa de queima (mm/min)
PMMA (100)	66,1 ± 0,4	23,8 ± 1,1
PMMA/SiO ₂ (98/2)	66,7 ± 0,6	26,1 ± 1,0
PMMA/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	66,8 ± 0,8	27,3 ± 0,6
PMMAel (100)	65,0 ± 0,2	26,6 ± 0,7
PMMAel/SiO ₂ (98/2)	66,2 ± 0,6	26,1 ± 0,5
PMMAel/SiO ₂ /MMA-GMA (96/2/2)	66,1 ± 0,8	27,5 ± 1,0

Com relação aos testes de flamabilidade (tabela 3) nenhuma melhoria foi observada, provavelmente devido à pequena concentração de sílica (2%). Comparando-se com o trabalho de Kashiwagi et al.⁵ foram investigadas composições com nanocompósitos PMMA/nanossílica com 13% de sílica para se obter um resultado efetivo com relação à retardância de chama.

O copolímero metacrilato de metila – metacrilato de glicidila (MMA-GMA), um compatibilizante interfacial, foi adicionado nos compósitos devido a presença do grupo reativo epóxi do GMA, com possibilidades de aumento de interação entre o PMMA (ou PMMAel) e as partículas de sílica. Porém os resultados deste trabalho demonstram que para a quantidade de sílica adicionada ao sistema, o compatibilizante não apresentou efetividade de interação, sugerindo-se a sua não utilização para baixas concentrações de sílica.

No balanço de propriedades mecânicas, a adição de 2% de nanossílica de Cavalinha mantém as propriedades mecânicas médias dos nanocompósitos, podendo-se utilizar este material como aditivo sem efeitos deletérios nas propriedades da matriz polimérica.

Conclusões

As caracterizações realizadas mostraram um balanço de propriedades mecânicas e termo-mecânicas que foram mantidas com pequenas variações com a adição de 2% de nanossílica de Cavalinha.

Estudos de trabalhos futuros devem ser direcionados para a forma de síntese das nanopartículas e sua utilização como aditivo nestes compósitos para fornecer um melhor desempenho para o sistema em análise.

Agradecimentos

Este trabalho foi amparado pelos órgãos de fomento: Embrapa, CNPq, FAPESP, FINEP e PRONEX (CNPq/FINEP).

Referências

- 1 LAACHACHI, M.; COCHEZ, E.; LEROY, M.; FERRIOL, J. M.; LOPEZ-CUESTA. **Polymer Degradation and Stability**, [S. l.], v. 92, p. 61, 2007.
- 2 ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. **Materials Sci. & Eng.**, [S. l.], v. 28, p. 1, 2000.
- 3 ETIENE, S.; BECKER, C.; RUCH, D.; GRIGNARD, B.; CARTIGNY, G.; DETREMBLEUR, C.; CALBERG, C.; JEROME, R. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, [S. l.], v. 87, p. 101, 2007.
- 4 YANG, H.; HUANG, C-Y.; XANTHOS, M. [S. l.]: ANTEC 2006. 526 p.
- 5 KASHIWAGI, T.; MORGAN, A. B.; ANTONUCCI, J. M.; VANLANDINGHAM, M. R.; HARRIS JR., R. H.; AWAD, W. H.; SHIELDS, J. R. **J. Appl. Polym. Sci.**, [S. l.], v. 89, p. 2072, 2003.
- 6 KASHIWAGI, T.; DU, F.; DOUGLAS, J.F.; WINEY, K.I.; RICHARD, H.; HARRIS JR.; SHIELDS, J.R. **Nature Materials**, [S. l.], v 4, p 928, 2005.
- 7 SUGIMOTO, H.; DAIMATSU, K.; NAKANISHI, E.; OGASAWARA, Y.; YASUMURA, T.; INOMATA, K. **Polymer**, [S. l.], v. 47, p. 3754, 2006.
8. GROSS, S.; CAMOZZO, D.; NOTO, V. D.; ARMELAO, L.; TONDELLO, E. **European Polymer Journal**, [S. l.], v. 43, p. 673, 2007.
- 9 BLUM, F.D.; YOUNG, E.N.; SMITH, G.; SITTON, O. C. **Langmuir**, [S. l.], v. 22, p. 4741, 2006.
- 10 HUANG, Z.H.; QIU, K.Y. **Polymer**, [S. l.], v.38, p. 521, 1997.
- 11 SOUZA, M.F.; MAGALHÃES, W.L.E.; PERSEGIL, M.C. **Materials Research**, [S. l.], v. 5, p. 467, 2002.
- 12 MICHIELIN, E.M.Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S.R.S.; HENSE, H. **Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 1, p. 3577, 2002.
- 13 ITO, E.N. **PhD Thesis, Federal University of Sao Carlos**, 2006.
- 14 ITO, E. N.; SILVA, W. T. L.; MARCONCINI, J. M.; RIBEIRO, C.; MAGALHÃES, W. L. E.; HAGE, E.; MATTOSO, L. H. C. **The Polymer Processing Society 23rd Annual Meeting**, PPS-23, P03-062, 2007.



CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS DE POLIPROPILENO (PP) COM MICROFIBRA DE CELULOSE

José M. Marconcini*¹, Edson N. Ito^{1,2}, Elias Hage Jr.², Luiz H.C. Mattoso¹

1 Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio - LNNA
Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

2 Departamento de Engenharia de Materiais - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

* marconcini@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Dois tipos de polipropileno (PP), homopolímero e copolímero, foram utilizados na preparação de compósitos de polipropileno com microfibras de celulose sem e com a adição de um polipropileno enxertado com anidrido maleico (PP-MAH), que foi utilizado como agente de compatibilização. As caracterizações dos compósitos foram realizadas utilizando-se reômetria de torque, ensaios de tração e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Verificou-se que a adição de microfibras de celulose e PP-MAH conduziu a um melhor desempenho em determinadas propriedades dos compósitos.

Palavras-chave: Compósitos, microfibra de celulose, polipropileno

Introdução

Polipropileno, um dos mais versáteis polímeros termoplásticos, possui muitas vantagens tais como um baixo custo, reciclabilidade e alta estabilidade térmica, permitindo a produção de muitos tipos de compósitos¹. A combinação de propriedades do polipropileno e da celulose tem sido estudada por uma série de autores com diferentes tipos de celulose, como, por exemplo, a celulose altamente cristalina¹, nanofibrilas de celulose² e compósitos de PP híbridos³.

A adição de celulose em compósitos PP/celulose reduz a resistência máxima quando um agente de compatibilização é utilizado. Esta propriedade pode ser aumentada quando 10% em massa de PP-MAH é adicionado ao compósito¹.

O objetivo principal deste trabalho foi comparar diferentes composições de polipropileno homopolímero (PP_h) e de polipropileno copolímero (PP_c) com a adição de microfibras de

celulose compreendendo-se a correlação das propriedades reológicas, mecânicas e morfológicas deste materiais.

Materiais e métodos

Materiais

O polipropileno homopolímero (PP_h), grade 6100 (MFI de 3,15g/10min, 230°C/2,16Kg) da Polibrasil e um polipropileno copolímero randômico (PP_c), grade RP347 (MFI de 10g/10min, 230°C/2,16Kg) da Braskem, foram utilizados como matrizes dos compósitos. Um polipropileno enxertado com anidrido maleico (PP-MAH) (Orevac[®]) fornecido pela Arkema foi utilizado como compatibilizante interfacial. As microfibras de celulose, CF11, 50-350µm de comprimento, com cerca de 20µm de diâmetro, com cristalinidade em torno de 93%(celulose tipo I) foram fornecidas pela Whatman Ind.Ltda.

Métodos

As formulações apresentadas na Tabela 1 foram obtidas em reômetro de torque HAAKE, com misturador Rheomix 600, a 200°C e 50rpm durante 10 minutos. Todos os materiais foram previamente secos durante 15h a 60°C em estufa a vácuo antes do processamento das formulações. Filmes com dimensões de 80x80x0,4mm foram obtidas através da moldagem por compressão à quente. A etapa de moldagem foi realizada segundo as etapas: adição do material entre as placas da prensa a 200°C por 5 minutos sem aplicar pressão, em seguida aplicação 2 toneladas de pressão por 0,5 minutos, seguido de resfriamento em água. As amostras para ensaio de tração uniaxial foram previamente condicionadas segundo a norma ASTM D882 e utilizou-se uma máquina universal de teste, EMIC modelo DL3000 utilizando uma célula de carga de 50kgf com velocidade do travessão de 5mm/min. A caracterização morfológica para avaliar a adesão interfacial foi realizada utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV), Philips SXL-30 FEG.

Tabela 1 – Composições misturadas no reômetro

#	Amostras	%em massa
1	PPh	100
2	PPh/Celulose	98/2
3	PPh/Celulose/PP-MAH	96/2/2
4	PPh/PP-MAH	98/2
5	PPc	100
6	PPc/Celulose	98/2
7	PPc/Celulose/PP-MAH	96/2/2
8	PPc/PP-MAH	98/2
9	PP-MAH	100

Resultados e discussão

O PP-MAH foi utilizado neste sistema como agente de compatibilização devido à presença do anidrido maleico do PP-MAH o qual pode reagir com os grupos hidroxila da celulose.

As análises de reometria de torque foram utilizadas para estimar a viscosidade média do fundido dos materiais utilizados⁴. Os resultados (Figura 1) mostraram que o torque estabiliza-se após 5 minutos de mistura. Os valores de torque a 10 minutos de ensaio mostram indícios do processo de interação que está ocorrendo durante a etapa de mistura.

O alto valor de torque observado durante o carregamento dos componentes sólidos dentro da câmara de mistura depende da taxa de adição dos

componentes, assim como, da forma e do tamanho dessas partículas e como, se observa nos resultados, há diferenças no valor de torque máximo em função de qualquer uma dessas variáveis. A Figura 1 mostra os resultados de reometria de torque para os compósitos formados com PP homopolímero. A curva mostra que a incorporação de microfibras de celulose conduz a uma redução na do torque a 10 minutos, quando comparado com o PP_h.

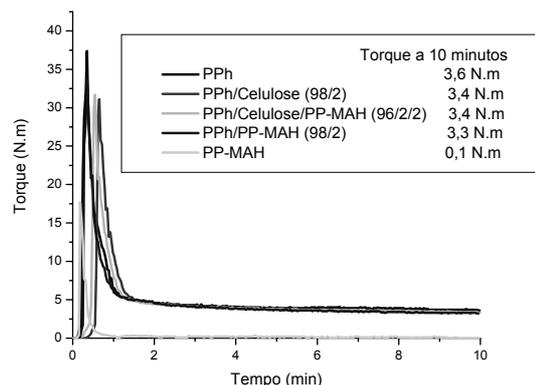


Figura 1 – Curvas de torque em função do tempo de mistura para os compósitos de PP homopolímero/ celulose obtidos no Haake a 200°C e 50rpm.

O torque observado para os compósitos de PP copolímero com microfibras de celulose também foi reduzido, como pode ser observado na Figura 2. Entretanto, diferentemente do PPhomopolímero, a adição de PP-MAH não reduziu a viscosidade do compósito.

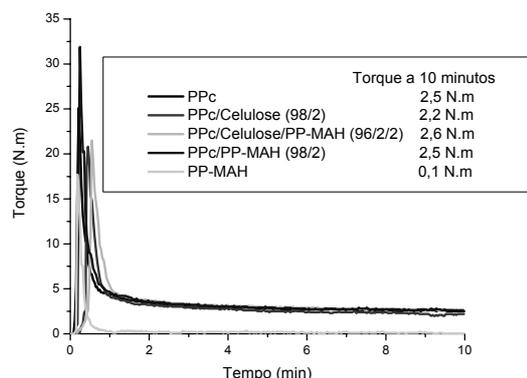


Figura 2 – Curvas de torque em função do tempo de mistura para os compósitos de PP copolímero/ celulose obtidos no Haake a 200°C e 50rpm.

Na Tabela 2 observa-se que a adição de microfibras de celulose conduz a um ligeiro

aumento na resistência máxima e no módulo de elasticidade para os compósitos de PP copolímero, diferentemente dos compósitos com PP homopolímero, em que uma redução é observada. Essa redução de propriedade para o sistema formada pelo PP homopolímero pode ser minimizada com a utilização do PP-MAH.

A elongação diminuiu significativamente em todas as composições, embora tenha sido mais significativa para os sistemas com PP copolímero.

O comportamento mecânico distinto deve ser devido a diferenças na estrutura macromolecular entre o PP homopolímero e o PP copolímero randômico. Na Figura 3 pode ser observado a eficiência da adesão interfacial proporcionada pelo PP-MAH, utilizado como agente de compatibilização interfacial.

Tabela 2 – Resultados dos ensaios de tração

Amostras	Resistência Máxima(MPa)	Módulo de elasticidade (GPa)	Elongação (%)
PPh	20.9 ± 1.4	0.66 ± 0.06	568
PPh/Celulose	18.6 ± 0.9	0.54 ± 0.04	380
PPh/Celulose/PP-MAH	20.6 ± 1.1	0.68 ± 0.06	200
PPh/PP-MAH	20.8 ± 1.5	0.62 ± 0.04	474
PPc	21.5 ± 0.7	0.62 ± 0.05	985
PPc/Celulose	21.8 ± 1.4	0.67 ± 0.06	30
PPc/Celulose/PP-MAH	19.5 ± 0.9	0.62 ± 0.04	139
PPc/PP-MAH	21.1 ± 1.2	0.65 ± 0.06	530
PP-MAH	16.3 ± 1.0	0.70 ± 0.03	4

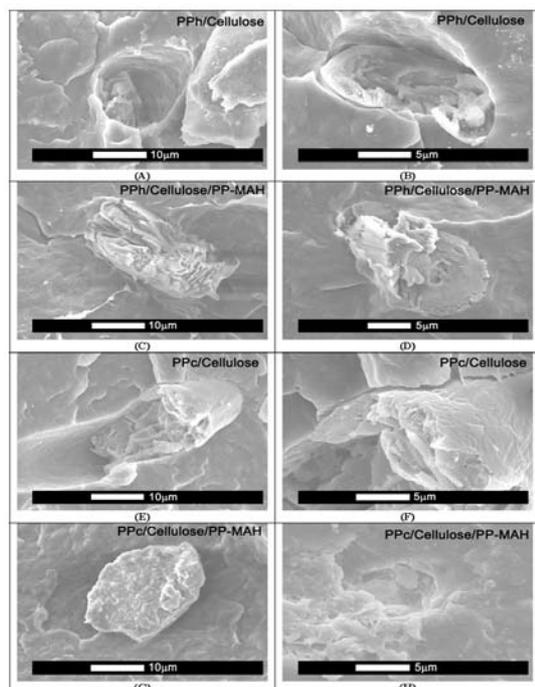


Figura 3 – Fotomicrografia de MEV dos compósitos: (A) e (B) PPh/Celulose; (C) e (D) PPh/Celulose/PP-MAH; (E) e (F) PPc/Celulose; (G) e (H) PPc/Celulose/PP-MAH.

Conclusões

O PP-MAH mostrou-se extremamente efetivo na compatibilização de compósitos de polipropileno com microfibras de celulose.

A utilização de microfibras de celulose foi utilizada neste trabalho como resultado preliminar para desafios maiores utilizando nanofibras de celulose como fase dispersa em matrizes poliméricas.

Agradecimentos

Este trabalho foi amparado pelas agências de fomento: CNPq, FAPESP, FINEP e PRONEX (CNPq/FINEP).

Referências

- 1 QIU, W.; ENDO, T.; HIROTSU, T. **Eur. Polym. J.**, [S. l.], v. 42, p. 1059, 2006.
- 2 ORTS, W. J.; SHEY, J.; IMAM, S. H.; GLENN, G. M.; GUTTMAN, M. E.; REVOL, J. F. **J. Appl. Polym. Environ.**, [S. l.], v. 13(4), p. 301, 2005.
- 3 BENEVOLENSKI, O.I.; KARGER KOC SIS, J.; MIECK, K. P.; REUSSMANN, T.; THERMOPLAST, J. **Compos. Mater.**, [S. l.], v. 13, p. 481, 2000.
- 4 BRETAS, R.E.S.; DÁVILA, M.A. **Reologia de Polímeros Fundidos**. Editora UFSCar, São Carlos, 2005.



OBTENÇÃO DE CERÂMICAS NANOESTRUTURADAS A PARTIR DA CAVALINHA

Cleber Zavarize; Carlos Renato Rambo; Dachamir Hotza; Washington Luiz Esteves Magalhães*

Embrapa Florestas, Colombo, PR.

* wmagalha@cnpf.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 Plano de Ação: 01.05.1.01.04.02

Resumo

O trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes processos de tratamento na espécie *Equisetum giganteum*, populamente conhecida como cavalinha ou rabo de cavalo, na obtenção de pós cerâmicos com alta superfície específica. O material foi submetido a tratamentos ácidos e básicos e então pirolizado para a obtenção dos pós cerâmicos caracterizados via BET para determinação de sua superfície específica.

Palavras-chave: nanopartículas, sílica, cerâmicas, vegetais, cavalinha.

Introdução

Algumas plantas, por natureza, são acumuladoras de materiais inorgânicos como Si, Al, Mg¹, porém a forma em que se encontram e a função que exercem ainda não foram bem esclarecidas na literatura. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) da espécie *Equisetum telmateia* e da casca de arroz ²⁻³, mostram a presença de partículas ou clusters de Si em dimensões nanométricas. Outros estudos mostram a obtenção de xerogéis de sílica a partir da casca de arroz ⁴. Partículas com dimensões desta ordem de grandeza vêm sendo utilizadas nas mais diversas áreas, principalmente em materiais compósitos, como, por exemplo, na produção de reforços para materiais poliméricos, atribuindo ainda resistência ao risco e proteção UV ^{5,8}. Porém, as formas utilizadas para obtenção destas nano partículas, muitas vezes dependem de processos químicos complexos e altamente agressivos ao meio ambiente ou de alto custo. Com isso a busca de fontes alternativas e baratas para obtenção destes materiais torna-se de importância cada vez maior permitindo que esta tecnologia se torne mais acessível ao meio industrial e ao benefício da população como um todo. Neste conceito a exploração de fontes

naturais destes materiais aponta como uma alternativa ecologicamente correta e que merece maiores estudos para seu total esclarecimento.

Alguns estudos ⁶ já mostraram grande potencial da espécie *Equisetum giganteum* para esta aplicação, apresentando teores de cinza acima dos 10 % em massa seca e elevados teores de Si em sua composição. Com isso, realizaram-se investigações no sentido de verificar a superfície específica obtida após alguns tratamentos físicos e químicos desta biomassa.

Materiais e métodos

As amostras de cavalinha foram coletadas no município de Colombo, PR. Após devidamente secas à 100 °C por 24 h, foram moídas e submetidas a tratamento em três meios distintos: solução 2% HCl, solução 2% NaOH e tratamento com apenas água deionizada. Neste processo as amostras foram postas em autoclave durante 2 h à 120 °C e posteriormente lavadas em filtro com água fervente até a neutralização do pH da solução passante. No caso da amostra tratada apenas com água deionizada, a lavagem foi feita até que a água de lavagem atingisse um aspecto incolor. O material restante após as lavagens foi pré queimado ao ar durante 1h à 200 °C e moído em

moinho de bolas durante 24 h. Após a moagem seguiu-se o processo de pirólise à 615 °C durante 1h ao ar.

A determinação da superfície específica dos pós obtidos foi determinada por BET.

Resultados e discussão

O resultado das análises realizadas por BET pode ser visualizados na tabela 1. Conforme pode-se observar, a amostra que não foi submetida a nenhum tratamento químico ou de lavagem, apresentou uma superfície específica inferior às demais amostras.

Tabela 1. Superfície específica dos pós obtidos.

Tratamento	Superfície específica m ² /g
Sem tratamento	34,61
NaOH	106,97
HCl	324,43
H ₂ O deionizada	107,69

As amostras que passaram pelo tratamento com NaOH e água deionizada seguida por lavagem em água fervendo já apresentaram um aumento significativo desta propriedade, que irá se maximizar após tratamento em HCl.

A presença de sais com elementos da família dos alcalinos e alcalinos terrosos como Na e K por exemplo, que são também conhecidos como deformadores de rede, diminuindo o ponto de fusão de materiais cerâmicos, é indicada como maior fator responsável pela menor superfície específica do material in natura. Pesquisas similares realizadas com a casca de arroz⁷ mostraram o mesmo comportamento, ou seja, as espécies vegetais de forma geral apresentam principalmente K em sua estrutura, portanto, as amostras onde o tratamento efetuado agiu de forma menos eficiente na remoção dos alcalinos, ficaram mais susceptíveis a ocorrência de sinterização à baixa temperatura, apresentando menor superfície específica.

Conclusões

Os resultados obtidos mostram claramente que os tratamentos preliminares do material tem forte influência na superfície específica do produto final, indicando que soluções de caráter mais ácido apresentam melhores resultados.

O material tratado com solução de 2% de HCl apresentou valores que colocam a *Equisetum giganteum* como espécie potencial para obtenção de cerâmicas nanoestruturadas.

Referências

- JANSEN, S.; WATANABE, T.; DESSEIN, S.; SMETS, E.; ROBBRECHT, E. **Annals of Botany**, [S. l.], v. 91, p. 657 – 663, 2003.
- PERRY, C.; TUCKER-KEELING, T. **Colloide Polymer Science**, [S. l.], v. 281, p. 652–664, 2003.
- TZONG-HORNG, L. **Materials Science and Engineering**, [S. l.], v. A364, p. 313–323, 2004.
- KALAPATHY, U.; PROCTOR, A.; SHULTZ, J. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 85, p.285–289, 2002.
- TEPPER, F.; LERNER, M.; GINLEY, D. **American Ceramic Society Bulletin**, [S. l.], v. 80, n. 6. p. 57-60, 2001.
- ZAVARIZE, C.; RAMBO, C.R.; GUIOTOKU, M.; HOTZA, D.; MAGALHÃES, W.L.E. **17^o CBECIMAT – Foz do Iguaçu**, [S. l.], trabalho 114-005, 2006.
- DELLA, V. P. ; KÜHN, I.; HOTZA, D. **Materials Science Forum – Suíça**, [S. l.], v. 416, p. 531-536, 2003.
- ITO, E. N.; SILVA, W. T. L.; MARCONCINI, J. M.; RIBEIRO, C.; MAGALHÃES, W. L. E.; HAGE JUNIOR, E.; MATTOSO, L. H. C. In: ANNUAL MEETING [OF] THE POLYMER PROCESSING SOCIETY, 23., 2007, Salvador. **Program and book of abstracts**. São Carlos: Polymer Processing & Reology Center DEMa/UFSCAR, 2007.



CARBONIZAÇÃO HIDROTÉRMICA DE BIOMASSA

Guiotoku, M.^{1,2*}; Magalhães, W. L. E.¹; Rambo, C. R.²; Hotza, D.²

¹Embrapa Florestas, Colombo/PR,

²Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PGMAT), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis/SC.

*marcela@cnpf.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.02

Resumo

Este trabalho teve como objetivo principal, estudar um novo processo de carbonização que utiliza meio aquoso, catalisador ácido e temperatura máxima de reação de 200 °C em resíduo de serragem de *Pinus silvestris*. Foram estudados tempos de reação de 60 e 120 minutos e concentração de catalisador de 1,5 mol.L⁻¹. Resultados preliminares mostraram que cerca de 40% da celulose presente no material foi carbonizada e seu poder calorífico mostrou-se levemente superior ao da madeira de pinus seca.

Palavras-chave: biomassa, carbonização hidrotérmica.

Introdução

Do ponto de vista energético, a biomassa é definida como todo recurso renovável oriundo de matéria orgânica (de origem animal ou vegetal) que pode ser utilizada na produção de energia. No Brasil, a proporção da energia total consumida é cerca de 35% de origem hídrica e 25% de origem em biomassa, significando que os recursos renováveis suprem algo em torno de 2/3 dos requisitos energéticos do país. As conversões térmicas da biomassa são aquelas em que o material sofre alterações na sua estrutura química, causadas por uma elevação acentuada da temperatura. A finalidade é transformar a biomassa em combustível adequado ao consumo, facilitar seu manuseio, armazenamento e transporte. As conversões térmicas abrangem tecnologias que transformam biomassa em calor (energia térmica), gás combustível, derivados químicos e carvão vegetal.

O carvão vegetal é produzido a partir de materiais lenhosos pelo processo de carbonização ou pirólise e é praticado tradicionalmente em fornos de alvenaria com ciclos de aquecimento (temperatura média de 500°C) e resfriamento que duram vários dias.

Neste trabalho, será estudado um novo processo de carbonização, que utiliza meio aquoso e temperatura de reação de 200°C. A matéria prima utilizada será o resíduo de serragem de pinus moído e passado por peneira 32 mesh. Os materiais carbonizados obtidos serão caracterizados quimicamente e estruturalmente.

Materiais e métodos

O procedimento para obtenção dos materiais carbonizados é descrito na Figura 1.

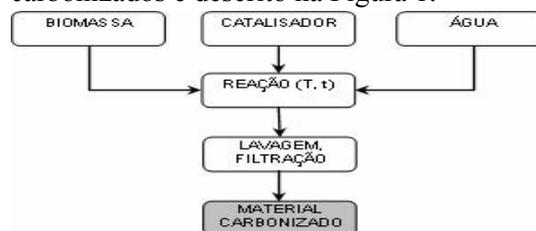


Figura 1 – Fluxograma ilustrativo para o processo de carbonização hidrotérmica.

Os tempos de reação estudados foram de 60 e 120 minutos a 200°C. A quantidade de catalisador para todas as reações foi mantida em 1,5 mol.L⁻¹.

Resultados e discussão

O gráfico de análise termogravimétrica que ilustra a estabilidade térmica das amostras carbonizadas e do resíduo *in natura* em função da temperatura é mostrado na Figura 2 abaixo.

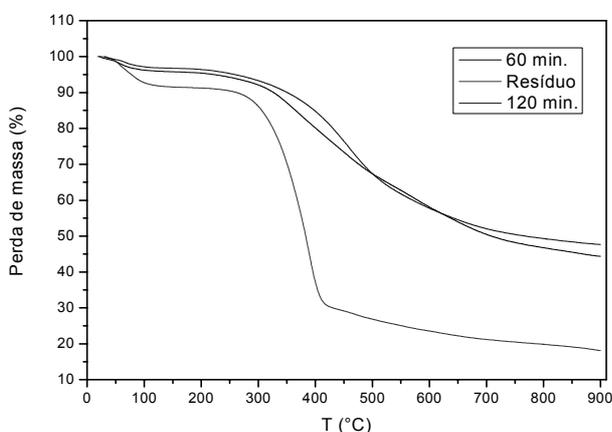


Figura 2 – Análise termogravimétrica dos materiais carbonizados em —60 minutos, —120 minutos e o — resíduo de pinus *in natura*.

É possível observar que a perda de massa que ocorre entre 300 a 400 °C referente à celulose é bem menos pronunciada nos materiais carbonizados em relação ao resíduo de pinus. Isto indica que cerca de 40 % da celulose presente no resíduo está sendo carbonizada. Entre os materiais obtidos após 60 e 120 minutos de reação, as perdas de massa são semelhantes.

Nas medidas do poder calorífico dos materiais carbonizados, observou-se que para a amostra carbonizada por 120 minutos o valor encontrado é levemente superior ao valor para a madeira seca de pinus, como mostra a Tabela 1. O resultado desta análise é expresso como PCS (poder calorífico superior), que é aquele obtido pela bomba calorimétrica a partir do material seco.

Tabela 1 – Valores de poder calorífico da madeira de pinus e material carbonizado hidrotermicamente por 120 minutos.

Biomassa	Poder calorífico (cal/g)
Madeira seca de pinus	4.500 – 5.000
Material carbonizado*	5.294

Também foram realizadas análises por microscopia eletrônica de varredura dos materiais carbonizados, como mostrado na Figura 3.

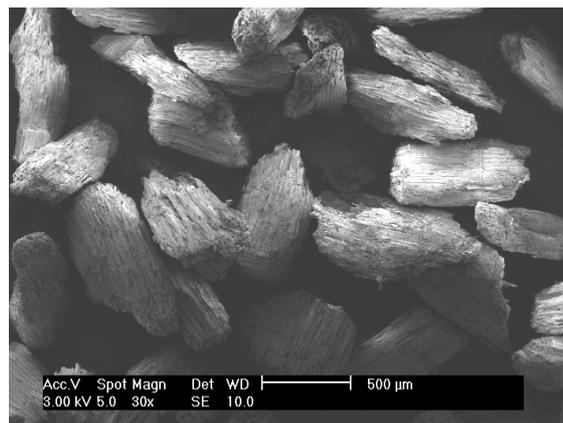


Figura 3 – Micrografia de pinus carbonizado hidrotermicamente por 120 minutos a 200 °C.

Nota-se que após a carbonização, a microestrutura do material de partida foi mantida, sem perda da sua morfologia.

Conclusões

Através da análise termogravimétrica, observou-se que cerca de 40 % da celulose presente no resíduo de pinus está sendo carbonizada hidrotermicamente. O valor encontrado na determinação do poder calorífico do material carbonizado indica que o potencial energético deste material é promissor.

Com base nestes resultados preliminares, mostra-se que através do processo de carbonização hidrotérmica é possível obter combustíveis sólidos utilizando um processo que não produza resíduos, possa ser realizado a temperaturas muito mais baixas que o processo de carbonização convencional, que seja rápido, ecologicamente e economicamente viável.

Serão estudadas de agora em diante, diferentes condições do processo de forma a se obter melhores resultados.

Referências

- BRIDGWATER, A. V. **Chem Eng. J.**, [S. l.], v. 91, p. 87-102, 2003.
- BRITO, J. A.; **Energia**, [S. l.], v. 64, 1990.
- ISHIMARU, K.; HATA, T.; BRONSVELD, P.; MEIER, D.; INAMURA, I. **J. Mater. Sci.**, [S. l.], v. 42, p. 122-129, 2007.
- COUTO, L. C.; COUTO, L.; WATZLAWICK, L. F.; CÂMARA, D. **Biomassa & energia**, [S. l.], v 1(1), p. 71-92, 2004.
- MOCHIDZUKI, K.; SATO, N.; SAKODA, A. **Adsorption**, [S. l.], v. 11, p. 669-673, 2005.



PERFIL ELETROFORÉTICO DE ZEÍNAS EM ACESSOS DA COLEÇÃO NÚCLEO DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE MILHO DA EMBRAPA

Maria Cristina Dias Paes*, Flávia França Teixeira, Renata França Cassimiro Belo

Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.
mcdpaes@cnpmis.embrapa.br

Projeto Componente: PC4

Plano de Ação: 01.05.1.01.04.03

Resumo

Variações na relação entre as frações que compõe as zeínas podem influenciar a funcionalidade das mesmas, a exemplo da hidrofobicidade, sugerindo que o perfil protéico das prolaminas possa ser um indicador de qualidade e determinante para novas aplicações das zeínas. Muito embora os bancos de germoplasma nacionais conservem uma diversidade significativa poucas informações têm sido reportadas no que tange à estrutura dos biopolímeros. O objetivo do experimento foi caracterizar a coleção núcleo do Banco Ativo de Germoplasma de milho da Embrapa para o perfil eletroforético das zeínas. As prolaminas foram isoladas do acessos da coleção nuclear de milho (n=275) e analisadas através de eletroforese realizada em sistema de mini-géis de poliacrilamida (SDS-PAGE), tendo sido identificadas fontes com perfis distintos para as frações zeínas, indicando existir variabilidade para perfil eletroforético dessas proteínas no Banco Ativo de Germoplasma de Milho da Embrapa.

Palavras-chave: (Palavras-chave em Times New Roman, fonte 11, tamanho máximo: 2 linhas)

Introdução

Zeínas constituem a principal fração protéica de reserva do milho, representando cerca de 60% do total de proteínas do grão e 70% das proteínas no endosperma desse cereal¹. Análise eletroforética (SDS_PAGE) revela que zeínas são uma mistura de polipeptídeos, os mais predominantes com peso molecular de M_r 50kD, 27kD, 22kD, 9kD, 18kD, 16kD, 14kD and 10kD, que com base na composição aminoacídica e estrutura espacial são classificadas em quatro frações distintas: α (19 e 22 kD), β (14kD), γ (50,27 e 16 kD) e δ (18 e 10 kD)². Alfa-zeína é rica em aminoácidos hidrofóbicos, enquanto beta-zeína é rica em aminoácidos sulfurados. Gama-zeína é

constituída de vários resíduos de prolina, diferindo de delta-zeína que possui em sua estrutura aminoácidos sulfurados além de prolina e leucina. Nas células do endosperma de milhos normais essas proteínas são contidas em corpos protéicos, sendo a α -zeína a fração presente em maior abundância, entretanto, variações na composição das zeínas tem sido reportadas para milhos especiais, a exemplo dos milhos de alta qualidade protéica (QPM), nos quais a fração γ -zeína apresenta-se em quantidades aumentadas, enquanto os teores de α -zeína apresentam-se consideravelmente reduzidos³. Variações na relação entre as frações zeínas podem

resultar em diferenças na funcionalidade das mesmas, a exemplo da hidrofobicidade e de agregação mediante processamento térmico⁴, sugerindo que o perfil protéico das zeínas possam ser um indicador de qualidade e determinante para novas aplicações das mesmas. Apesar da importância industrial das zeínas na produção de filmes e revestimentos biodegradáveis⁵⁻⁸, genótipos de milho com perfis eletroforéticos distintos para as frações zeínas não tiveram ainda suas propriedades funcionais exploradas. Os bancos de germoplasma nacionais conservam uma diversidade significativa em termos de origem, anatomia e composição química nos seus acervos, mas poucas informações têm sido reportadas no que tange à estrutura dos biopolímeros. Sendo assim, o objetivo deste experimento foi caracterizar a coleção núcleo do banco ativo de germoplasma de milho da Embrapa para o perfil eletroforético de prolaminas, identificando fontes que apresentem distintos perfis para as frações zeínas.

Materiais e métodos

□ Amostras

Os acessos de milho do banco ativo de germoplasma (n=275), foram produzidos nos campos de Sete Lagoas e Janaúba, MG, em triplicata, sendo os grãos obtidos degerminados e decorticados manualmente após hidratação mínima (5min) em água deionizada para obtenção dos endospermas isolados, que foram acondicionados a temperatura ambiente por 12 horas e moídos em moinho ciclone, através de peneira 0,5mm, constituindo as amostras avaliadas quanto às frações protéicas (Landry *et al.* 2004).

□ Extração de zeínas e eletroforese

As zeínas foram extraídas das amostras moídas em esquema seqüencial de extração e a análise em SDS-PAGE em gel de empilhamento a 4.5% e gel de corrida a 12.5% (Paes, 2002) em sistema Mini-PROTEAN II cell (Bio Rad, Hercules, CA) a 100V por 100min. As extrações foram realizadas em duplicata e as prolaminas isoladas aplicadas em quantidades fixas nos géis para garantia de adequação de perfil. O padrão de peso molecular utilizado foi o BenchMark (Bioagency, Inc).

Resultados e discussão

Os perfis eletroforéticos das prolaminas extraídas dos acessos de milho possibilitaram observar que o padrão eletroforético mais frequente para as zeínas isoladas dos acessos corresponde ao previamente reportado para milhos comuns, com α - e γ -zeínas como frações em maior abundância (Fig.1), entretanto, diferenças de alguns genótipos para as frações α -, β -, γ - e δ -zeínas (Fig 2) foram identificadas.

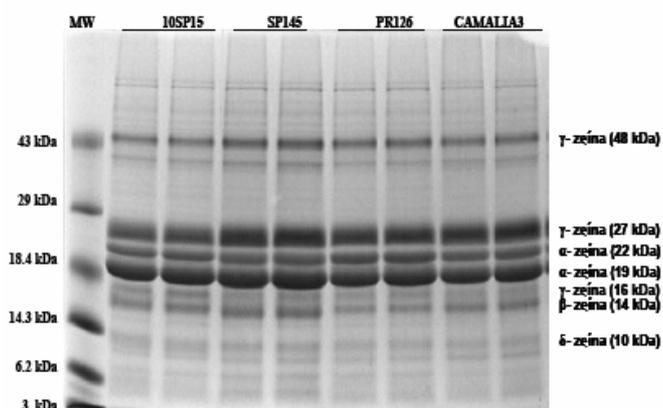


Figura 1. Imagem de gel de poliacrilamida (12.5%) resultante de SDS-PAGE dos extratos de zeínas obtidas de endospermas de acessos de milho. Padrão típico de milhos normais tendo as frações α e γ -zeínas como predominantes. *MW = Prestained protein molecular weight standard low range (Gibco BRL).

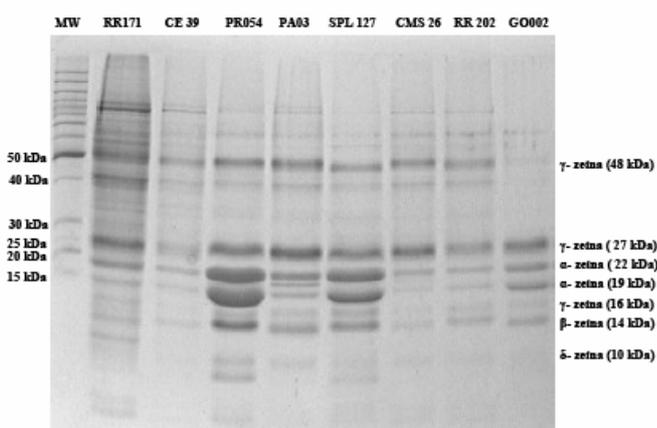


Figura 2. Imagem de gel de poliacrilamida (12.5%) resultante de SDS-PAGE de zeínas extraídas de endospermas de acessos de milho indicando diferenças na composição das frações α -, β -, γ - e δ -zeínas. *MW = Marcador Molecular BenchMark (Bioagency, Inc).

Conclusões

Genótipos de milho da coleção núcleo do banco ativo de germoplasma apresentam variabilidade para o perfil eletroforéticos de zeínas, devendo essa característica ser explorada quanto à influência nas propriedades físico-químicas de embalagens biodegradáveis, filmes e revestimentos comestíveis.

Referências

- 1 HAMAKER, B. R.; MOHAMED, A. A.; HABBEN, J.A.; HUANG, C.P.; LARKINS, B.A. **Cereal Chemistry**. [S. l.], v. 72, p. 583-588, 1995.
- 2 COLEMAN, C. E.; DANNENHOFFER, J. M.; LARKINS, B.A. **Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development**. B.A. Larkins and I.K. Vasil, eds. Kluwer Academic Publishers. p. 257-288, 1999.
- 3 PAES, M. C. D. **Importance of zeins composition in quality protein maize (QPM) to microstructural and chemical modifications of proteins during extrusion and their impact on texture of corn-based extrudates**. 2002. 138p. Tese de Doutorado. Colorado State University, Fort Collins, CO, USA.
- 4 PAES, M.C.D. & ALVES, C.C.O. 2004. Padrão eletroforético de proteínas extraídas de grãos de milho com qualidade tecnológica diferenciada para produção de extrusados. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 25; Cuiabá, MT. Da agricultura familiar ao agronegócio: Tecnologia, competitividade e sustentabilidade: [resumos expandidos]. Sete Lagoas: ABMS/Embrapa Milho e Sorgo/Empaer,.
- 5 FORATO, L. A.; YUSHMANOV V.; COLNAGO, L. A. **Biochemistry**, [S. l.], v.43, p. 7121-7126, 2004.
- 6 LAI, H-M, PADUA, G. W. **Cereal Chemistry**, [S. l.], v. 74, p.771-775, 1997.
- 7 RAKOTONIRAINY A. M., WANG, Q.; PADUA, G. W. **Journal of Food Science**, [S. l.], v.66, p.1108-1111, 2001.
- 8 LAWTON, J.W. **Cereal Chemistry**. [S. l.], v.79, p. 1-18, 2002.



CRISTALINIDADE EM COMPÓSITOS AMIDO DE MILHO EXTRUSADO/ ARGILA SÓDICA

Natália F. Magalhães¹, Cristina T. Andrade¹

¹Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros. Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano. CT, Bloco J. UFRJ. Cidade Universitária – Ilha do Fundão.
Email: natalia@ima.ufrj.br, ctandrade@ima.ufrj.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

Resumo

O objetivo do presente estudo foi desenvolver nanocompósitos biodegradáveis amido de milho/argila. Nesse estudo, um delineamento central composto foi usado, o que resultou em um total de 12 experimentos. As variáveis independentes foram o teor de argila e o teor de glicerol. O teor de argila variou na faixa 0,34 a 11,65%, enquanto o teor de glicerol variou entre 20,75 e 29,24%. Uma amostra de argila naturalmente sódica foi usada para a preparação dos materiais. Composições amido de milho/argila/glicerol foram submetidas a processamento em extrusora mono-rosca sob temperaturas de 80, 105, 105 e 90°C, e velocidade de rotação de 40 rpm. A técnica de difração de raios-X permitiu investigar a cristalinidade dos filmes obtidos logo após o processamento e após 30 dias sob condicionamento a 28°C e RH de 80%. O modelo matemático superfície de resposta foi aplicado ao estudo do efeito das variáveis independentes sobre o grau de cristalinidade (variável de resposta).

Palavras-chave: Cristalinidade, amido de milho, argila e extrusão.

Introdução

Nos últimos anos, vários países em todo o mundo têm reconhecido a necessidade de reduzir-se a quantidade de materiais plásticos descartados no meio ambiente. Uma solução para o problema consiste no uso de materiais biodegradáveis¹.

A substituição de plásticos convencionais por termoplásticos de amido tem recebido a atenção de grupos acadêmicos e da indústria. Aplicações como em sacos de lixo, filmes para proteger alimentos e em fraldas infantis podem ser citadas. Na agricultura, esses filmes vêm sendo empregados como cobertura do solo e como recipientes temporários para plantas.

Os grânulos de amido apresentam estruturas cristalinas, que proporcionam padrões específicos de difração de raios-X, sendo classificados como dos tipos A, B ou C². A forma polimórfica do tipo C é considerada uma mistura das do tipo A e B.

Os nanocompósitos biodegradáveis, que consistem em polímeros biodegradáveis e silicatos (com modificação orgânica ou não), exibem frequentemente propriedades mecânicas e várias outras propriedades significativamente melhoradas, quando comparadas àquelas dos polímeros sozinhos³.

O presente trabalho visou o estudo da cristalinidade dos filmes biodegradáveis amido de milho/argila com diferentes concentrações de glicerol e argila no tempo zero e após o condicionamento por 30 dias a 28°C e umidade relativa (RH) de 80%.

Materiais e métodos

O amido de milho foi fornecido pela Corn Products do Brazil. O glicerol, fabricado pela Vetec Química Fina Ltda., foi usado como recebido. A argila montmorilonita naturalmente sódica (MMT-Na⁺) foi produzida pela Bentonita

União do Nordeste S.A, sob o nome comercial Volclay.

Processamento em extrusora

Misturas amido de milho/glicerol/argila em diferentes concentrações foram processadas em extrusora mono rosca Rheocord 9000 (Haake, Karlsruhe, Alemanha), acoplada a um reômetro de torque. As condições de extrusão foram matriz laminar de 1 mm; rotação dos parafusos de 40 rpm; e temperaturas das zonas de aquecimento 1, 2, 3 e 4 de, respectivamente, 80°C, 105°C, 105°C e 90°C.

Delineamento Experimental

Para o estudo do efeito do teor de argila (%) e de glicerol (%) na extrusão do amido de milho, bem como da interação entre essas duas variáveis, foi empregado o delineamento experimental central composto (Tabela 1) e o modelo matemático superfície de resposta. Uma equação de segunda ordem foi aplicada para o estudo da variável de resposta cristalinidade relativa.

$$y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 + B_{12}X_1X_2$$

Foram geradas 12 combinações (testes), com 4 repetições do ponto central (0,0). A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para investigar a significância do modelo, tendo sido usado o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). O processamento dos dados foi realizado com o auxílio do programa “STATISTICA 5.0”.

Tabela 1 – Valores das variáveis codificadas (independentes) para o delineamento experimental

Variáveis Independentes	Níveis				
	$-\alpha$	-1	0	1	α
Teor de argila (%), X1	0,34	2	6	10	11,65
Teor de glicerol(%), X2	20,75	22	25	28	29,24

^a $\alpha = 1.414$

Cristalinidade

De modo a investigar a variação da cristalinidade do material *in natura* e do material processado, foram conduzidas análises de difração de raios-X. As amostras dos filmes compósitos amido/argila, bem como as amostras do amido de milho granular e das argilas, foram analisadas em um difratômetro de raios-X Miniflex (Rigaku Corporation, Japan), equipado com uma fonte de radiação gerada a 30 kV e 15 mA, o qual opera no comprimento de onda de 1.542 Å, correspondente à banda CuK_α. Os difratogramas foram obtidos sob velocidade de 1° (2θ) / min com um passo de 0,05.

Resultados e discussão

Os valores da análise de variância (ANOVA) da variável de resposta cristalinidade relativa (%) para filmes de compósitos amido/argilas MMT Na⁺, logo após o processamento, mostraram que o efeito linear da variável teor de argila MMT Na⁺ (%), X₁, e da variável teor de glicerol (%), X₂, são os mais significativos, seguidos da interação entre as variáveis teor de argila MMT Na⁺ e de glicerol, X₁₂, e do efeito quadrático da variável teor de argila MMT Na⁺, X₁₁. O efeito quadrático da variável teor de glicerol, X₂₂, não foi significativo. Para a cristalinidade, após o condicionamento por 30 dias, a 28°C e RH de 80%, a ANOVA mostrou que o efeito quadrático da variável teor de glicerol, X₂₂, foi o mais significativo, seguido do efeito linear da variável teor de argila MMT Na⁺, X₁, e do efeito linear da variável teor de glicerol, X₂. O efeito quadrático da variável teor de argila, X₁₁, e a interação entre as variáveis teor de argila e de glicerol, X₁₂, não foram significativos.

A Tabela 2 apresenta os coeficientes de regressão e de determinação (R²) para as variáveis de resposta, cristalinidade no tempo zero e após o condicionamento por 30 dias a 28°C e RH de 80%. Esses dados podem ser melhor observados e analisados por meio de gráficos de superfície de resposta (Figuras 1 e 2).

Os resultados obtidos mostraram que, logo após a gelatinização ou fusão, o material termoplástico apresentou-se quase completamente amorfo. No entanto, após o condicionamento por 30 dias sob condições de umidade relativa alta, os filmes de compósitos amido/argila tenderam a desenvolver cristalinidade. Como os materiais predominantemente amorfos não se encontram em equilíbrio termodinâmico, o sistema tende a aproximar-se do equilíbrio com o tempo. O processo envolve o rearranjo molecular do amido e a sua cristalização². A cristalinidade do tipo B foi observada no amido termoplástico sozinho e nos compósitos amido/argila.

A Figura 3 mostra os difratogramas obtidos para o amido de milho *in natura*, amido de milho sem carga e para os compósitos de amido/argila MMT Na⁺. À medida que a carga foi adicionada, os picos do amido começaram a decrescer em intensidade. Os resultados parecem indicar que a presença da argila desfavorece a retrogradação do amido. As condições de processo muito provavelmente levaram à intercalação e/ou à esfoliação da argila, pois o pico característico da argila a 6,94° (2θ) foi observado a 4,79° (2θ) no

compósito de amido/argila 95/5 após o condicionamento por 30 dias a 28°C e 80% RH.

Tabela 2 – Coeficientes de regressão* (Equação 1) e de determinação (R^2) para a cristalinidade no tempo zero e após o condicionamento por 30 dias a 28°C e RH de 80%.

Coeficientes	Cristalinidade	
	Tempo zero	30 dias
B ₀	-80,2126	147,3112
B ₁	5,9668	0,6889
B ₁₁	-0,0527	-0,0497
B ₂	4,3237	-11,6908
B ₂₂	-0,0437	0,2422
B ₁₂	-0,1771	0,0131
R ₂	0,9107	0,85558

* referentes aos valores originais das variáveis

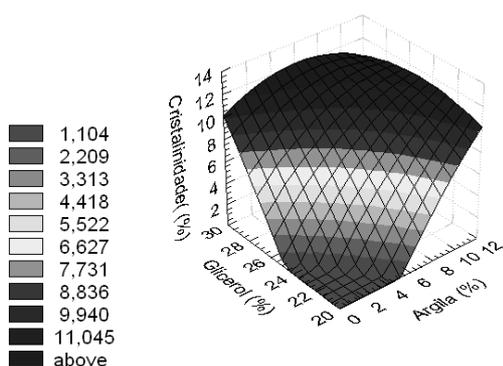


Figura 1 – Cristalinidade relativa do tipo B (pico a 17° (2θ)) para filmes de compósitos amido/argila MMT Na⁺ no tempo zero em função do teor de argila MMT Na⁺ e de glicerol.

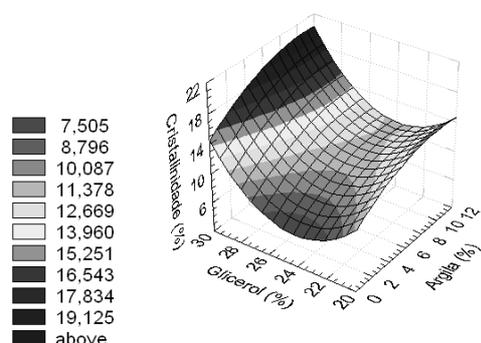


Figura 2 – Cristalinidade relativa do tipo B (pico a 17° (2θ)) para filmes de compósitos amido/argila MMT após o condicionamento por 30 dias a 28°C e 80% RH.

Na⁺, após condicionamento por 30 dias a 28°C e 80% RH em função do teor de argila MMT Na⁺ e de glicerol.

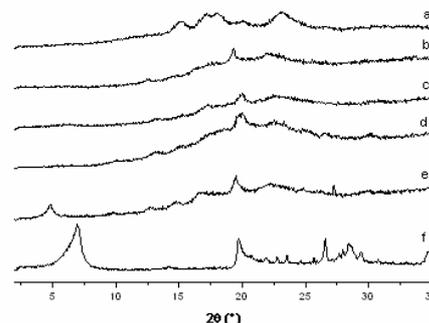


Figura 3: Difratomogramas de raios-X para amido granular (a), termoplásticos de amido sozinho no tempo zero (b) e após condicionamento por 30 dias a 28°C e 80% RH (c), compósito de amido/argila 95/5 no tempo zero (d), compósito de amido/argila 95/5 após o condicionamento por 30 dias a 28°C e 80% RH (e) e argila MMT Na⁺.

Conclusões

Os teores de argila e de glicerol exerceram influência significativa sobre a cristalinidade do amido de milho extrusado. Quanto maior a concentração de argila e glicerol, maiores foram os valores de cristalinidade relativa no tempo zero e após 30 dias de condicionamento. No entanto, quando comparada à do termoplástico de amido sozinho, a cristalinidade dos compósitos foi menor. Esse resultado evidencia que a presença da carga desfavorece a retrogradação do amido.

Referências

- 1 PARK, H. M.; LEE, W. K; PARK, C. Y.; CHO, W. J.; HA, C. S. **Journal of Materials Science**, [S. l.], v. 38, p. 909-915, 2003.
- 2 SOEST, J. J. G.; HULLEMAN, S. H. D.; WIT, D.; VLIEGENTHART, J. F. G. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 29, p. 225, 1996.
- 3 RAY, S.S.; YAMADA, K.; OKAMOTO, M.; FUJIMOTO, Y.; OGAMI, A.; UEDA, K. **Polymer**, [S. l.], v. 44, p. 6633-6646, 2003.



CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DE BIOFILMES DE AMIDOS DE MILHO E DE TRIGO.

¹Leonardo M. Fernandes; ¹Luis G.V. Souza; ¹Natália N. Lyrio; ¹José L.R. Ascheri, ²Cristina T. Andrade e ¹Carlos W.P. Carvalho*

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

²Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

* cwpiler@ctaa.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar comparativamente as propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis de amidos de milho e de trigo. Os filmes foram produzidos pela técnica *casting* variando-se a concentração de amido (1, 2, 3 e 4% p/v) em presença de glicerol (30% p/p de amido) e água em um analisador rápido de viscosidade sob regime de temperatura e cisalhamento controlados. Os filmes, acondicionados a 53% de umidade relativa, foram analisados quanto à espessura e ensaios mecânicos de tração e penetração. Os filmes de maior concentração foram aqueles que apresentaram maior espessura. Maior espessura não se traduziu em maior tensão na ruptura. Os resultados de força na ruptura indicaram que os filmes de milho apresentaram maior resistência ao rompimento por penetração. Em contraste, os filmes de amido de trigo apresentaram maior extensibilidade.

Palavras-chave: amido de trigo, amido de milho, filmes biodegradáveis, propriedades mecânicas

Introdução

Nos últimos anos tem havido um grande interesse na pesquisa e desenvolvimento de materiais biodegradáveis no sentido de diminuir o acúmulo de resíduos plásticos no meio ambiente. O Brasil produz cerca de 240 mil toneladas de lixo por dia, número inferior ao produzido nos EUA (607.000 t/dia), porém muito superior a países como Alemanha (85.000 t/dia) e a Suécia (10.400 t/dia) e, no Brasil, a maior parte destes resíduos vai para lixões a céu aberto ¹. Considerável número de trabalhos técnicos científicos relatam a caracterização das propriedades funcionais de filmes à base de amido. A principal justificativa

do uso de amido é devido à sua abundância, disponibilidade e baixo custo de obtenção relativa ². Atualmente o amido é usado pelas indústrias de alimentos, de cosméticos, farmacêutica, de papel e têxtil, de petróleo e ainda vem sendo utilizado como material termoplástico em aplicações como embalagens.

Apesar do amido apresentar características interessantes citadas, os filmes confeccionados exclusivamente com amido são pouco flexíveis e quebradiços, a introdução de aditivos às matrizes poliméricas é necessária ³.

Neste trabalho dois tipos de amido de cereais, milho e trigo, foram usados para a produção de

filmes por *casting* em presença de glicerol. A caracterização dos filmes produzidos foi feita relacionando suas propriedades mecânicas em função da concentração de amido.

Materiais e métodos

Amido de trigo extraído em laboratório de farinha de trigo comercial comum e amido de milho comercial adquirido localmente (Yoki Alimentos, Paranavaí, Paraná) foram processados em várias concentrações (1, 2, 3 e 4% p/v) em água destilada (30 mL) e glicerol (30% p/p de amido) em um analisador rápido de viscosidade (Rapid Analyser Viscosity - Newport Scientific, Warriewood, Austrália). A concentração de plastificante escolhida foi resultado de ensaios prévios, que indicaram ser esta a que apresentou melhores propriedades mecânicas para ambos amidos. O cisalhamento na mistura no RVA foi mantido contante mantendo-se a rotação a 160 rpm e a temperatura seguiu a metodologia STD1 (standard 1) do manual do equipamento descrita a seguir: a suspensão foi mantida 50°C por 2 min e aquecida na taxa de 14°C/min até 95°C, permanecendo por 2 min e então a suspensão foi resfriada na mesma taxa até 50°C, quando foi mantida por mais 2 min totalizando 13 min de análise. 25 g da solução filmogênica foi vertida em placas de metacrilato e levadas para uma estufa nivelada equipada com circulação de ar a 30°C por 24 horas. Os filmes, em triplicata, originados foram destacados manualmente e acondicionados em dessecador com umidade relativa de 54% até o equilíbrio (variação de peso constante). A espessura dos filmes foi determinada por meio de micrômetro digital (Fowler IP54, USA). A espessura final foi a média aritmética de cinco posições, sendo quatro realizadas nas bordas e uma no centro de cada filme. A determinação da penetração dos filmes com 20 mm de comprimento e 15 mm de largura foi realizada por meio de analisador de textura TA.TX2 Stable Micro Systems (Surrey, Inglaterra) equipado com uma geometria cilíndrica de 2 mm de diâmetro. A força para penetração e ruptura foi denominada força na ruptura (N) e a distância na qual ocorreu a ruptura foi denominada ruptura (mm). Estes testes foram realizados em duplicata.

Resultados e discussão

A tensão na ruptura reduziu com o aumento da concentração de amido. No entanto, esta redução não foi expressiva para os filmes de milho. Em contraste, os filmes de trigo ocorreu grande redução da ruptura de 1 a 2% de concentração, 10 a 2 MPas, respectivamente, sendo que para a concentração de 4% houve ligeiro aumento da tensão da ruptura. O grande desvio padrão observado na concentração de 1% em milho pode ser atribuído ao grande murchamento (imagem não apresentada neste trabalho) destes filmes, o que dificultou a preparação das amostras para os ensaios de tensão na ruptura, bem como na força de ruptura (Figura 2). Como esperado, o aumento da concentração de sólidos aumentou a espessura dos filmes de amido e de trigo linearmente. Mesmo com o aumento da espessura, a tensão na ruptura não aumentou e ao contrário foi reduzida. É interessante notar a necessidade do cuidado que se deve tomar durante a secagem, não só para evitar fissuras na superfície mas também o desnivelamento dos filmes, o que podem levar a medidas imprecisas da espessura. Não se tem uma explicação plausível sobre a diferença de espessura entre os tipos de amidos, porém visualmente observou-se que os filmes de trigo apresentaram maior tendência à contração mesmo em concentração mais alta do que 1%. Esta tendência poderia estar associada a suas característica de material de mais fácil conversão, quando submetido ao cisalhamento e variado regime de temperatura ocorrido no processo de elaboração dos filmes.

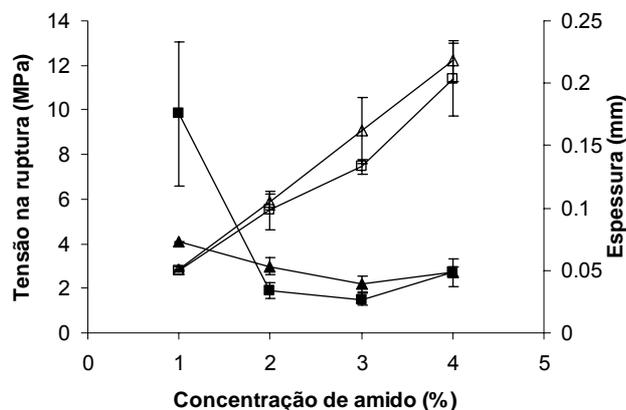


Figura 1. Efeito do tipo e concentração de amido sobre a tensão na ruptura de filmes de milho (▲) e de trigo (■) e na espessura de milho (Δ) e de trigo (□).

A força de ruptura e a distância na ruptura dos filmes de amido de milho e trigo são representados na Figura 2. A força de ruptura obtida pelo ensaio de penetração aumentou com a concentração de amido, sendo similar aos resultados encontrados por Mali et al.⁵, os quais estudaram as propriedades mecânicas de filmes de inhame. O aumento da concentração de amido também contribuiu para o aumento da distância na ruptura. A força de ruptura dos filmes de amido de milho para todos os níveis de concentração foi maior do que os filmes de trigo, particularmente quando a concentração excedeu a 2%.

Apesar de ocorrer diferença na distância de ruptura entre os amidos, esta não foi tão substancial quanto na força de ruptura, entretanto o amido de trigo apresentou maior extensibilidade do que amido de milho em praticamente todas as concentrações. A expressiva tensão de ruptura do filme de trigo a 1%

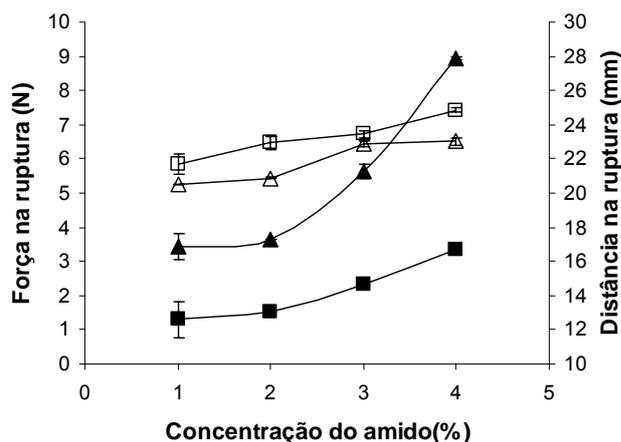


Figura 2. Efeito do tipo e concentração de amido sobre a força de ruptura de filmes de milho (▲) e de trigo (■) e na distância na ruptura de milho (△) e de trigo (□).

Conclusões

Apesar de não ser o escopo deste trabalho, o uso do analisador rápido de viscosidade (RVA)

garantiu a uniformidade dos filmes, os quais foram produzidos em condições controladas de temperatura e cisalhamento. Com este critério a comparação dos filmes produzidos pode ser melhor estabelecida.

O filme de amido de trigo na concentração de 1% apresentou alta variação indicado por altos valores do desvio padrão, sendo atribuído ao considerável murchamento dos filmes ao atingirem o equilíbrio de umidade. A investigação ao nível de microestrutura (microscopia eletrônica de varredura e imagem topográfica por microscopia de força atômica) poderia contribuir para explicar a contração/murchamento destes filmes de amido de trigo.

Os filmes de amido de milho foram mais resistentes à penetração indicado pela alta força na ruptura quando comparada à dos filmes de trigo.

Os filmes de trigo apresentaram maior extensibilidade indicado pela maior distância na ruptura que os filmes de milho.

Referências

- VILPOUX, O.; AVEROUS, L. In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. (Coord). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Cargill, 2003, v.3, p.500-530.
- SILVA, M. C.; THIRÉ, R. M. S. M.; PITA, V. J. R. R.; CARVALHO, C. W. P.; ANDRADE, C. T. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 24(2), p. 303-310, 2004.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. **Journal of Food Science**, [S. l.], v. 58(1), p. 206-211, 1993.
- CARVALHO, C. W. P.; MITCHELL, J. R. **Cereal Chemistry**, [S. l.], v. 78(3), p. 342-348, 2001.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINNO, M. N.; ZARITZKY, N. E. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 19(1), p. 157-164, 2005.



USO DE GRITS DE MILHO NA ELABORAÇÃO DE MATERIAL EXTRUSADO PARA EMBALAGEM

Leonardo M. Fernandes¹; Luiz G. V. Souza¹; José L. R. Ascheri¹; José M. Marconcini³; Cristina T. Andrade² e Carlos W. P. Carvalho^{1*}

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ; ²Instituto de Macromoléculas Eloisa Mano - UFRJ, Rio de Janeiro, RJ; ³Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.
*cwpiler@ctaaa.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do glicerol na extrusão de grits de milho destinado à produção de material expandido usado no transporte de materiais frágeis. As análises de expansão radial, da densidade aparente foram realizadas nos expandidos e o monitoramento do grau de conversão do amido, principal componente do grits de milho, foi determinado por meio das análises da viscosidade de pasta aparente e dos índices de absorção e solubilidade em água. O aumento do teor de glicerol reduziu a expansão e aumentou a densidade aparente dos extrusados particularmente quando a concentração superou 5%. A conversão do amido também foi afetada pela adição de glicerol e em concentração superior a 5%, o perfil de viscosidade foi modificado afetando consideravelmente a solubilidade em água. Este estudo permite concluir que teores de glicerol acima de 5% comprometem o uso de extrusados expandidos de milho para uso em material anti-impacto para transporte de produtos frágeis.

Palavras-chave: embalagem, biodegradável, milho, glicerol, conversão de amido

Introdução

O crescente interesse em melhorar a qualidade do meio ambiente relacionado a enorme produção de materiais não biodegradáveis, tem incentivado a recente busca por novos materiais poliméricos que possam substituir os materiais sintéticos. Estes materiais degradam-se muito lentamente e o acúmulo descartado gera um grande acúmulo na forma de lixo ocasionando sérios problemas ambientais. Para solucionar esses problemas estão sendo estudadas possibilidades para a substituição total ou parcial dos materiais sintéticos por materiais biodegradáveis. O amido é um dos biopolímeros biodegradáveis mais abundantes e de baixo custo encontrados na biomassa¹, sendo bastante promissor na substituição de resinas de petróleo usadas na fabricação de poliestireno

expandido usado no transporte de materiais frágeis. O amido também possui excelente expansão e alta porosidade sendo características interessantes para redução de impacto. Para que o amido, na forma de grits de milho (~70% de amido), tenha alta expansão é necessário submetê-lo em condições de alta temperatura e cisalhamento, as quais são características do processo de extrusão termoplástica. Para auxiliar na melhoria das características de supressão de impacto empregam-se aditivos. No entanto, o uso de alguns aditivos, tais como plastificantes, pode causar alterações nas propriedades físicas dos extrusados, tais como expansão, densidade aparente e grau de conversão do amido. Neste trabalho, o efeito do glicerol como plastificante sobre algumas das propriedades físicas de extrusados de grits milho foi estudado.

Materiais e métodos

Grits de milho comercial doado pela GEM Alimentos (Acreúna, Goiás) com 12,7% de umidade foi processado com variado teor de glicerol (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7%) em uma extrusora de parafuso único Imbra RX50 (Inbramaq, Ribeirão Preto, SP) de alto cisalhamento equipada com matriz circular de 2,8 mm. A velocidade de rotação do parafuso foi 1700 rpm e a taxa de alimentação $\sim 10 \text{ kg.h}^{-1}$. A expansão radial foi determinada pela razão do diâmetro dos extrusados e a matriz. A densidade aparente dos extrusados foi determinada por dispersão de sementes de acordo com a metodologia descrita por Dogan³. Parte dos extrusados foi moído em moinho de martelo Perten Instruments (Huddinge, Suíça) e a fração granulométrica entre 106 e 212 μm foi usada nas análises para determinação do grau de conversão do amido, o qual foi realizada por meio das análises da viscosidade aparente e dos índices de absorção (IAA) e solubilidade em água (ISA). A viscosidade de pasta aparente foi realizada em um determinador rápido de viscosidade (Rapid Viscosity Analyser, RVA, Newport Scientific Pty. Ltd., Warriewood, Australia)⁴. A determinação de IAA e do ISA foi realizada segundo metodologia descrita por ANDERSON *et al.*⁵ modificada.

Resultados e discussão

A expansão radial dos extrusados foi reduzida com o aumento de glicerol até o nível de 5% (Figura 1). Após este nível de glicerol substancial redução foi observada. A densidade aparente ligeiramente aumento até 5% de glicerol quando drasticamente passou de 0,01 a 0,6 g.cm^{-3} .

Os resultados de índices de absorção (IAA) e solubilidade em água (ISA) estão representados na Figura 2. O IAA parece não ter sido afetado adição de glicerol, uma vez que a variação dos resultados não parecem indicar uma tendência. Ao contrário, o ISA a partir de 5% apresenta grande redução de solúveis passando de 23% para 5% quando 7% de glicerol foi adicionado. A queda acentuada de do ISA é uma indicação de menor modificação do amido ou menor efeito de calor e cisalhamento durante o processo de extrusão⁶.

Na Figura 3 é apresentado o perfil de viscosidade de dois níveis de glicerol dos extrusados de milho. Estes dois teores de glicerol foram selecionados, pois os níveis de glicerol menores que 5% foram

similares entre eles, enquanto que o nível 7% foi semelhante ao 6%. O perfil de viscosidade de 5% corresponde ao perfil de produtos extrusados de alta solubilidade em água fria, demonstrado pela maior viscosidade na temperatura de 25°C e também confirmado pelos resultados do ISA, sendo típico de extrusados amiláceos que sofreram alto grau de cisalhamento⁷. O perfil de viscosidade de pasta a 6% de glicerol não apresentou alta viscosidade à frio. Ao contrário, observou-se aumento de viscosidade quando a temperatura de análise aumentou, o que normalmente ocorre quando há no material processado algum remanescente de amido não completamente convertido que ainda possua parte de sua cristalinidade original preservada⁴.

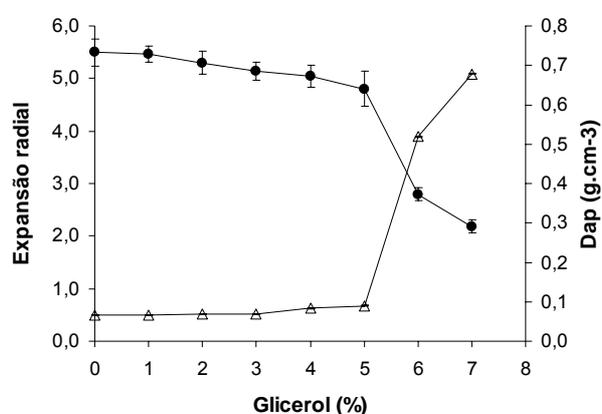


Figura 1. Efeito do glicerol na expansão radial (●) e densidade aparente (Dap, Δ) de extrusados expandidos de grits de milho.

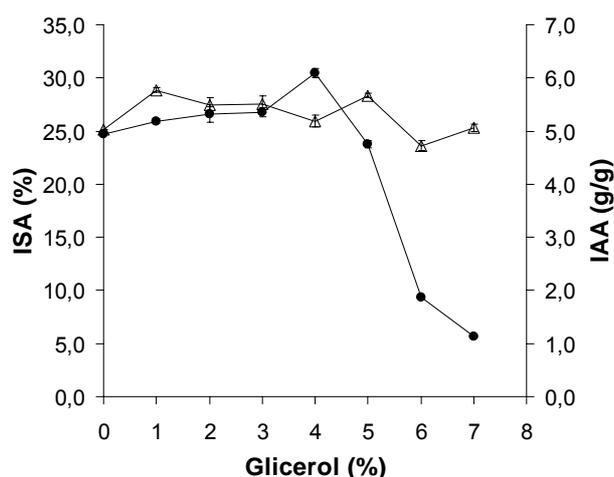


Figura 2. Efeito do glicerol nos índices de solubilidade (ISA, ●) e absorção em água (IAA, Δ) de extrusados expandidos de grits de milho.

O resultado das análises permite visualizar que adição de glicerol na mistura com grits de milho acima de 5% deve atuar como redutor da viscosidade por diluição do amido. Além disso, o glicerol tem peso molecular consideravelmente menor do que o amido. Com a maior diluição do amido a viscosidade é reduzida e assim reduz a conversão do amido. Com a redução da ação do calor e do cisalhamento sobre o amido, a elasticidade do material fundido ao sair da matriz é afetada e, conseqüentemente a formação de bolhas, a qual é responsável pela expansão radial dos extrusados ⁸. Um outro aspecto interessante é a propriedade lubrificante do glicerol, o qual deve atuar no interior da extrusora provocando maior dissipação de calor e redução da taxa de cisalhamento.

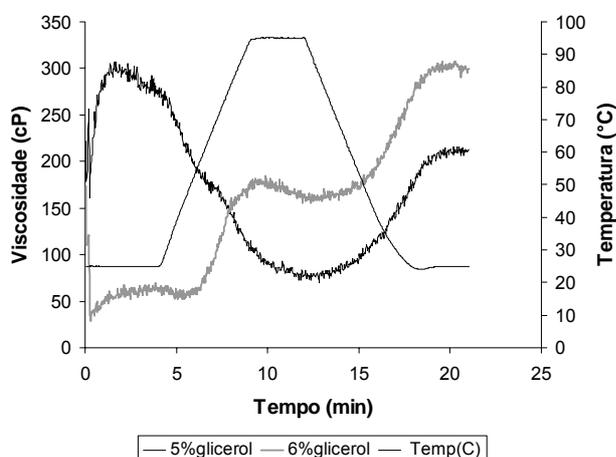


Figura 3. Efeito do glicerol no perfil de viscosidade de pasta de extrusados expandidos de milho com 5 e 6% de glicerol.

Conclusões

Concentração de glicerol acima de 5% comprometeu as características de alta expansão e

baixa densidade de extrusados expandidos de milho.

O grau de conversão do amido devido ao processo de extrusão foi reduzido quando o teor de glicerol foi maior que 5% indicado pela redução do índice que mede a solubilidade do material em água e pela modificação do perfil de viscosidade de pasta.

Para elaboração de material expandido de grits de milho para uso como redutor de impacto em transporte de materiais frágeis de ser limitado a 5% do peso do material amiláceo.

Referências

- 1 AVÉROUS, L. **Journal of Macromolecular Science**, [S.l.], 44, 231-274 (2004).
- 2 DEMIREL, Y.; SHARMA, R.N., AL-ALI, H.H. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, [S.l.], v.43, p. 327-332, 2000.
- 3 DOGAN, H.; KARWE, M. V. **Food Science and Technology International**, [S.l.], v.9, p.101-114, 2003.
- 4 CARVALHO, C.W.P.; MITCHELL, J.R. **Cereal Chemistry**, [S.l.], v.78, p.342-348, 2001.
- 5 ANDERSON, R.A.; CONWAY, H.F.; PFEIFER, V.F.; GRIFFIN, E.L. **Cereal Science Today**, [S.l.], v.14, p.4-12, 1969.
- 6 SRIBURI, P.; HILL, S.E. **International Journal of Food Science and Technology**, [S.l.], v.35, p.141-154, 2000.
- 7 OZCAN, S.; JACKSON, D. S. **Cereal Chemistry**, [S.l.], v.82, p.223-227, 2005.
- 8 FAN, J.T.; MITCHELL, J.R.; BLANSHARD, J. M.V. **International Journal of Food Science and Technology**, [S.l.], v.31, p.55-65, 1996.



FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE MANDIOCA PRODUZIDOS EM ANALISADOR RÁPIDO DE VISCOSIDADE.

Luiz G.V. Souza¹; Leonardo M. Fernandes¹; José L.R. Ascheri¹, Cristina T. Andrade²
e ¹Carlos W.P. Carvalho^{1,*}

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

²Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ

*cwpiler@ctaa.embrapa.br

Projeto Componente: PC04 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.03

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da concentração de glicerol nas propriedades físicas espessura e resistência à perfuração/penetração de filmes finos. Misturas de amido de mandioca (4% p/v), glicerol (10, 20, 30 e 40% p/p de amido) e água foram processadas em analisador rápido de viscosidade sob temperatura e cisalhamento controlados. Os filmes apresentaram baixa opacidade, boa uniformidade com inexistência de formação de bolhas de ar e alto brilho. A espessura dos filmes variou linearmente de 0,197 a 0,298 de acordo com o aumento teor de glicerol na mistura. Níveis de glicerol acima de 20% do peso de amido reduziram a força na ruptura, porém aumentaram a distância que ocorreu a ruptura quando perfurados.

Palavras-chave: amido de mandioca, glicerol, propriedades mecânicas.

Introdução

Nos últimos anos tem havido um grande interesse na pesquisa e desenvolvimento de materiais de embalagem biodegradáveis no sentido de diminuir o acúmulo de resíduos plásticos no meio ambiente ¹. O amido de mandioca, também conhecido como fécula, polvilho doce ou goma, é um pó fino, branco, inodoro, insípido e produz ligeira crepitação quando comprimido entre os dedos. É um polissacarídeo natural, constituído de cadeias lineares (amilose) e cadeias ramificadas (amilopectina) e obtido através de raízes de mandioca. É extremamente versátil e alcança uma eficiência incomparável em todas as suas aplicações, entre elas os filmes biodegradáveis ². A aplicação do amido na confecção de biofilmes se baseia-se em suas propriedades químicas, físicas e funcionais das moléculas de amido

(amilose e amilopectina) capazes de formar uma rede tridimensional em filmes ². Em particular, as moléculas de amilose em solução tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se por força das ligações de hidrogênio entre as hidroxilas de polímeros adjacentes. Os filmes confeccionados exclusivamente por amido são pouco flexíveis e quebradiços, apresentando baixa maleabilidade. A introdução de aditivos às matrizes poliméricas é necessária. A questão da rigidez pode ser resolvida através da adição de plastificantes, que melhoram as propriedades mecânicas dos filmes ³. Os plastificantes devem ser compatíveis com o biopolímero e, os mais estudados em combinação com os filmes de amido são os polióis, como o glicerol, material que interage com as cadeias de amido, aumentando a mobilidade molecular e consequentemente a flexibilidade dos seus filmes ³.

Neste trabalho foi estudado o efeito do glicerol em algumas características físicas de filmes finos de mandioca produzidos pela técnica de *casting* em um analisador rápido de viscosidade.

Materiais e métodos

Amido de mandioca comercial da marca Yoki (Paranavaí, Paraná) na concentração de 4% (p/v) foi combinado com vários níveis de glicerol (10, 20, 30 e 40% do peso de amido) em água destilada a técnica do tipo *casting*, utilizando um analisador rápido de viscosidade (Rapid Analyser Viscosity- Newport Scientific, Austrália) com o seguinte regime de temperatura: a suspensão foi misturada a 160 rpm a 50°C por 2 min e aquecida na taxa de 14°C/min até 95°C, mantida por 2 min e então resfriada na mesma taxa até 50°C mantida por mais 2 min totalizando 13 min de análise. 25g da solução filmogênica foi vertida em placas de metacrilato e levadas para estufa com circulação de ar a 30°C por 24 horas. Os filmes, em triplicata, originados foram destacados manualmente e acondicionados em dessecador por 7 dias em umidade relativa de 54% e temperatura ambiente. A espessura dos filmes foi determinada por meio de micrômetro manual (Fowler IP54, USA). A espessura final foi a média aritmética de cinco posições, sendo quatro realizadas nas bordas e uma no centro de cada filme. A determinação da penetração dos filmes com 20 mm de comprimento e 15 mm de largura foi realizada por meio de analisador de textura TA.TX2 Stable Micro Systems (Surrey, Inglaterra) equipado com uma geometria cilíndrica de 2 mm de diâmetro. A força para penetração e ruptura foi denominada força na ruptura (N) e a distância na qual ocorreu a ruptura foi denominada ruptura (mm). Estes testes foram realizados em duplicata.

Resultados e discussão

Os biofilmes de amido de mandioca, em todas as concentrações de glicerol não apresentaram rachaduras e/ou rupturas quando removidos das placas durante e após a secagem. Durante o período de acondicionamento dos filmes foi observado apenas uma leve contração daqueles filmes com 30% de glicerol, sendo observado a inexistência de partículas insolúveis e bolhas de ar na estrutura dos filmes.

A espessura dos filmes de mandioca variou de 0,197 a 0,298 mm linearmente com o aumento do teor de glicerol na mistura, porém indicado

pelas barras de erros, o desvio padrão foi muito elevado (Figura 1). O alto valor do desvio padrão é uma indicação da necessidade de se normalizar a superfície onde os filmes são depositados. O aumento da espessura dos filmes pode estar relacionado com o aumento da capacidade de retenção de água junto ao polímero de amido devido ao aumento de mobilidade das cadeias laterais em presença de glicerol na mistura. No entanto, este resultado é contrastante com o trabalho de Mali et al.⁴. Estes autores encontraram redução da espessura de filmes de inhame associado com o aumento de glicerol. Neste trabalho, a espessura dos filmes foi influenciada pela variação na concentração do plastificante. Os autores também relatam que este parâmetro de acompanhamento é muito importante pois indica um padrão de uniformidade e distribuição do material.

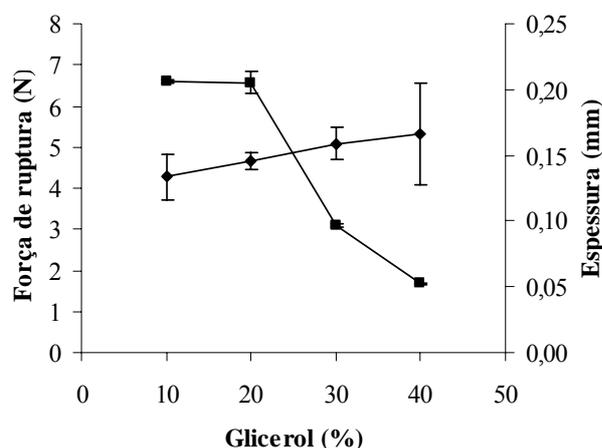


Figura 1. Força de ruptura (■) e espessura (◆) em função do teor de glicerol em filmes finos de mandioca.

A força na ruptura, propriedade mecânica obtida por meio dos testes de perfuração, sofreu diminuição com o incremento da concentração do plastificante, mesmo com a elevação da espessura dos filmes (Figura 1). Os filmes com 10 % de glicerol tiveram valor de força de ruptura de 6,60 N, enquanto os de 40% apresentaram substancial redução para 1,67 N. Uma das explicações da redução da força de ruptura dos filmes de amido seria a diluição do amido pela presença de glicerol, bem como do aumento da mobilidade molecular da rede da matriz de amido gelatinizado. O teor elevado de glicerol nos filmes deve ter potencializado as características de elasticidade da matriz-amido-glicerol no momento da perfuração.

A distância de ruptura variou de 21,3 a 23,9 mm com o aumento de glicerol na mistura (Figura 2). Apesar do aumento ser aparentemente reduzido (2,6 mm), a contribuição na distância de ruptura contribuiu para diferenciar os filmes quanto ao teor de plastificante. Com o aumento do teor de plastificante na mistura, a distância de ruptura na qual o filme foi perfurado aumentou. A relação desses dois parâmetros mostrou-se linear como pode ser observado no gráfico. Esse comportamento de aumento da resistência à ruptura com o aumento do glicerol pode ser atribuído também ao aumento da mobilidade molecular do polímero como observado no trabalho de Peressini et al.⁵. Estes autores observaram considerável recuperação das propriedades viscoelásticas das misturas, quando estas eram submetidas à alta deformação típico de matriz polimérica com cadeias laterais capazes de formarem ligações cruzadas.

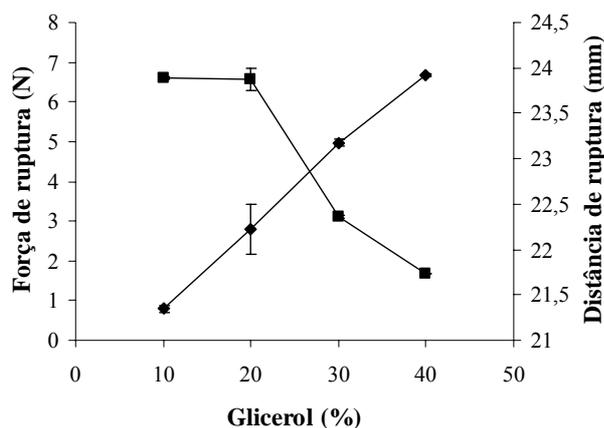


Figura 2- Efeito do glicerol na força na ruptura (■) e distância de ruptura (◆) de filmes finos de amido de mandioca.

Conclusões

A espessura verificada aumentou de forma linear com a elevação da concentração do glicerol, bem como a distância de ruptura uando perfurados.

A força na ruptura do material estudado reduziu a medida que o teor de plastificante aumentou na composição dos filmes, mesmo com a elevação da espessura.

Os filmes finos de mandioca mostraram-se interessantes em aplicações de embalagens de alimentos, com potencial aplicação como cobertura de frutas e hortaliças por apresentarem boa plasticidade, baixa opacidade e alto brilho,. Particularmente aqueles filmes com concentração de glicerol entre 20 e 30% de glicerol, poderiam ser indicados para este fim.

Referências

- 1 AVÉROUS, L. **Journal of Macromolecular Science**, [S.l.], v.44, p.231-274, 2004.
- 2 L. FAMÁ, S.K. FLORES, L. GERSCHENSON, S. GOYANES. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v.66, p.8-15, 2006.
- 3 M. POUPLIN, A. REDL, N. GONTARD, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, [S.l.], v.47, p.538-543, 1999.
- 4 S. MALI, M.V.E. GROSSMANN, M.A. GARCIA, M.N. MARTINNO, N. E. ZARITZKY, **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v.19, p.157-164 2005.
- 5 D. PERESSINI, B. BRAVIN, R. LAPASIN, C. RIZZOTTU, A. SENSIDONI. **Journal of Food Engineering**, [S.l.], v.59, p.25-52, 2003.



HIDROGÉIS SUPERABSORVENTES CONSTITUÍDOS DE GOMA ARÁBICA MODIFICADA COPOLIMERIZADA COM ACRILATO DE POTÁSSIO E ACRILAMIDA PARA APLICAÇÃO NO SOLO

Ana Paula G. Peres, Adriano V. Reis, Altair Bertonha^a, Adley F. Rubira, Edvani C. Muniz*

Grupo de Materiais Poliméricos e Compósitos – GMPC – Departamento de Química

^a Centro Técnico de Irrigação – CTI – Departamento de Agronomia

Universidade Estadual de Maringá – UEM - ecmuniz@uem.br – FAX 044 3261 3664

Projeto Componente: PC04 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

Resumo

O objetivo desse trabalho foi estudar as propriedades de absorção de água por hidrogéis a base de polissacarídeos copolimerizado com acrilatos, com aplicações voltadas para agricultura. Hidrogéis a base de polissacarídeos surgiram como alternativa ecológica porque muitos polissacarídeos são biodegradáveis. Os hidrogéis podem atuar como condicionadores de solos no plantio de diversos cultivares para produção de grãos e outros alimentos, florestais ou em paisagismo. A capacidade de armazenagem de água de solos arenosos a arenoso-argilosos, bem como a disponibilidade de água para as plantas melhoram significativamente ao se incorporar os hidrogéis.

Palavras-chave: Goma arábica modificada, hidrogéis superabsorventes, aplicação de hidrogéis como condicionadores de solos.

Introdução

Os hidrogéis superabsorventes podem ajudar na conservação da água em várias aplicações na agricultura, p. exemplo na retenção de umidade do solo. Os hidrogéis superabsorventes apresentam excelente desempenho para reter a umidade do solo, apesar do fato de que alguns sais diminuem a habilidade de retenção de água pelos hidrogéis. Os hidrogéis são misturados ao substrato orgânico a uma concentração aproximada de 0,1%, em massa. Poucos benefícios são alcançados em concentrações inferiores e o solo pode tornar-se esponjoso se forem usadas maiores quantidades de géis, tornando-o completamente saturado de água. Os solos que recebem poucas chuvas, ou que são muito porosos para reter a umidade na região da raiz da planta, podem ser melhorados

apreciavelmente pela adição de hidrogéis. A mistura de hidrogéis ao solo prolonga a umidade do local e favorece o desenvolvimento da planta¹. Em solos argilosos (usando partículas inferiores a 5 µm de diâmetro), o hidrogel auxilia no conteúdo de ar do solo, pois a partícula de gel expande e contrai durante os ciclos de absorção e evaporação de umidade, pelo menos quando as condições não são extremamente úmidas. Quando o solo é extremamente úmido ou encharcado, o seu conteúdo de oxigênio é muito reduzido prejudicando o crescimento da planta. Neste caso, os hidrogéis poderiam prolongar essa condição desfavorável e seu uso é desaconselhável¹⁻⁴. É importante enfatizar que os resultados são positivos quando os hidrogéis são utilizados em solo de regiões mais secas. Isto porque o gel absorve eficientemente a água e controla a sua liberação para o solo quando as condições tornam-se mais secas. Nos últimos anos, a síntese de

hidrogéis superabsorventes à base de polissacarídeos, com aplicações voltadas para agricultura, surgiu como alternativa ecológica porque muitos polissacarídeos são atóxicos e/ou biodegradáveis e alguns deles são comumente encontrados na natureza ⁵. O desenvolvimento de hidrogéis superabsorventes à base de polissacarídeos, para aplicações em solo, é uma alternativa química, toxicológica e ecologicamente vantajosa ⁶.

A Goma Arábica (GA) é o exsudato gomoso dessecado dos troncos e dos ramos da *Acacia Senegal* ou de outras espécies africanas da *Acacia*. A GA na forma natural não possui propriedades para reticulação e superabsorção de água. Mas é altamente solúvel em água. A associação da goma arábica modificada com acrilatos (Ac) e/ou acrilamida (AAM) para formar hidrogel superabsorvente é um fato novo.

Neste trabalho foram desenvolvidos hidrogéis superabsorventes baseados em goma arábica (GA) quimicamente modificada e copolimerizada com acrilato de potássio (KAAc) e acrilamida (AAM).

Materiais e Métodos

A reação de modificação química consiste em acoplar grupos vinílicos do metacrilato de glicidila (GMA) à estrutura da GA. Após a modificação, a goma arábica modificada (GAMA) foi copolimerizada com monômeros acrílicos (AAM e KAAc) em diferentes formulações obtendo-se hidrogéis quimicamente reticulados, segundo metodologia desenvolvida em nosso laboratório ⁷. As diferentes formulações são caracterizadas pela notação (A-B-C) que representam os percentuais em massa de GAMA (A), AAM (B) e KAAc (C) no hidrogel. Os hidrogéis foram caracterizados por espectroscopia de FTIR e RMN.

Resultados e discussão

Na Figura 1 é apresentada a curva de grau de intumescimento em função do tempo para o hidrogel com formulação 20-40-40. A quantidade de água absorvida por esse hidrogel é 300 vezes o seu peso seco, caracterizando esse material como superabsorvente. Comparado aos hidrogéis comerciais, que absorvem cerca de 160-200 vezes seu peso seco, o hidrogel (20-40-40) apresentou

maior grau de intumescimento. Tal propriedade, juntamente com a sua possível biodegradabilidade e baixo custo possibilitam que o hidrogel (20-40-40) seja utilizado como condicionador de solos. Posteriormente os hidrogéis sintetizados neste trabalho serão aplicados em solos de diferentes cultivares, onde será avaliado o efeito da concentração do hidrogel no crescimento e produtividade das plantas.

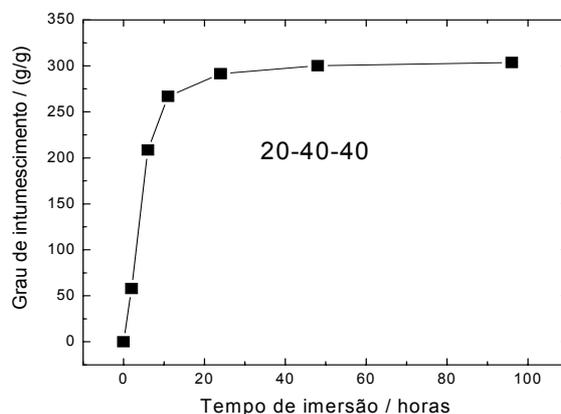


Figura 1 - Curva de grau de intumescimento em função do tempo de imersão.

Na Figura 2 é apresentada a curva de fração de hidratação em função do tempo de exposição ao ar a temperatura ambiente. O hidrogel perde totalmente sua umidade após 5 dias de exposição. Hidrogéis comerciais perdem sua umidade em cerca de 3 dias. A capacidade de retenção de água é uma propriedade importante em condicionadores de solos.

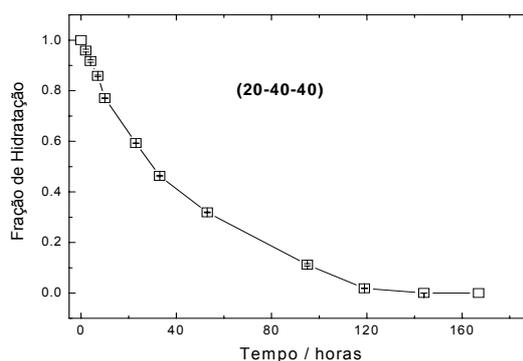


Figura 2 - Curva de fração de hidratação em função do tempo de exposição ao ar a temp. ambiente.

Conclusões

Hidrogéis de goma arábica copolimerizada com acrilamida e acrilato de potássio apresentaram alta capacidade de absorção de água. Possuem também capacidade de retenção de água maior que os hidrogéis superabsorventes comerciais. Os materiais superabsorventes sintetizados e caracterizados neste trabalho possuem potencial para aplicação como condicionadores de solos.

Referências

- 1 AZEVEDO, T.L.F.; BERTONHA, A.; FREITAS, P. S.L.; GONÇALVES, A.C.A.; REZENDE, R.; DALLACORT, R.; BERTONHA, L.C. **Acta Scientiarum**, [S.l.], v.28, p. 287-290, 2006.
- 2 HUSSAIN, G.; ALGOSAIBI, A.M.; BADAWI, M.H. **Arid Soil Research and Rehabilitation**, [S.l.], v.6, p.83-89, 1992.
- 3 BUCHHOLZ, F.L., GRAHAM, T. **Modern superabsorbent polymer technology**, New York: Wiley-VCH, 1998.
- 4 OMIDIAN, H.; ROCCA, J.G.; PARK, K. **Journal of controlled Release**, [S.l.], v.102, p.199-206, 2005.
- 5 SINHÁ, V.R.; KUMRIA, R. **Polysaccharides in colon-specific drug delivery**. [S.l.], v. 224, p.19-38, 2001.
- 6 GUILHERME, M.R. **Desenvolvimento de hidrogéis superabsorventes para uso eficiente de água**. 2006. 125p. Tese de Doutorado.Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- 7 REIS, A.V.; CAVALCANTI, O.A.; RUBIRA, A.F.; MUNIZ, E.C. **Intern. J. Pharm.**, [S.l.], v.267, p.13-25, 2003.



CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E HIDROFÍLICA DE HIDROGÉIS PARA APLICAÇÃO EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE INSUMOS AGRÍCOLAS

Fauze A. Aouada^{1,3}, Márcia R. de Moura^{1,3}, Edvani C. Muniz² e Luiz H. C. Mattoso^{3*}

¹ Departamento de Química da UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP; ² Departamento de Química da UEM, 87020-900, Maringá/PR; ³ Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP - * mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

Resumo

Neste trabalho, hidrogéis constituídos de poliacrilamida e polissacarídeo biodegradável metilcelulose foram estudados por microscopia eletrônica de varredura e grau de intumescimento. Os resultados demonstraram que a presença de metilcelulose deixa os hidrogéis mais hidrofílicos e aumenta o tamanho médio de poros o que conduz a maiores graus de intumescimento. Além disso, a combinação da razão acrilamida/metilcelulose possibilita obter materiais com propriedades para aplicações específicas, por exemplo, liberação controlada e/ou prolongada de insumos agrícolas.

Palavras-chave: hidrogéis, poliacrilamida, metilcelulose, propriedades morfológicas, propriedades hidrofílicas, liberação controlada.

Introdução

Hidrogéis constituem uma seleta classe de materiais poliméricos capaz de absorver enorme quantidade de água¹. Hidrogéis são materiais constituídos por polímeros hidrofílicos formando redes tridimensionais². Polissacarídeos são macromoléculas naturais formadas por unidades monossacarídicas. Por ser biodegradáveis, os polissacarídeos são muito utilizados em sínteses de hidrogéis³.

Nos últimos anos, os hidrogéis baseados em polissacarídeos vem recebendo grande atenção no setor da agricultura. Dentre os diferentes campos de pesquisas voltadas para esse setor, uma vertente emergente é a liberação controlada de insumos agrícolas a partir de hidrogéis^{4,5}. O principal benefício desses sistemas é aumentar a eficiência funcional do insumo⁶. Além disso, a redução no número de aplicações do pesticida

reduz os riscos de toxidez para o homem, diminui as concentrações elevadas na lavoura e, portanto, a contaminação ambiental.

O objetivo de sistemas baseados em liberação controlada/prolongada é manter a concentração do substrato (por exemplo, pesticida) em uma faixa considerada ótima, onde acima da qual ela poderia ser tóxica (super dosagem) e abaixo poderia ser ineficaz, por um tempo prolongado, utilizando-se de uma única aplicação no solo⁶.

Neste trabalho foram sintetizados hidrogéis potencialmente viáveis para aplicação na liberação controlada de espécies agroquímicas, baseados nos polímeros poliacrilamida e metilcelulose e sua morfologia foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As propriedades hidrofílicas dos hidrogéis foram analisadas através de medidas de grau de intumescimento (Q).

Materiais e métodos

Os hidrogéis constituídos por poliacrilamida (PAAm) e polissacarídeo biodegradável metilcelulose (MC) foram obtidos por meio de polimerização química do monômero acrilamida (AAm) em solução aquosa contendo MC, agente de reticulação N^o-N metileno-bisacrilamida

(MBAAm) e catalisador N,N,N',N'- tetrametil- etilenodiamina (TEMED). Depois de preparar a mistura dos reagentes acima, borbulhou-se N₂ na solução durante 25 minutos. Persulfato de sódio foi utilizado como iniciador da reação de polimerização via radical livre.

Os hidrogéis intumescidos (em equilíbrio) foram congelados a -80 °C e posteriormente liofilizados. Após liofilizados, os hidrogéis foram depositados no porta amostra e recobertos com uma fina camada de ouro. A investigação morfológica dos hidrogéis foram realizadas em um microscópio eletrônico Hitachi (S-4700). Todas as imagens foram adquiridas com ampliação de 200 x.

As propriedades hidrofílicas dos hidrogéis foram estudadas por medidas de grau de intumescimento (Q). Os valores de Q foram obtidos por meio da razão da massa dos hidrogéis intumescidos até equilíbrio e a massa dos hidrogéis secos. Todas as medidas foram realizadas em temperatura controlada (25,0 °C).

Os parâmetros cinéticos, mecanismo de difusão (n) e constante de velocidade (K) foram obtidos através de análises das curvas cinéticas Q vs t. Para isso utilizou-se a equação abaixo:

$$(1) \quad \frac{M_t}{M_\infty} = k t^n$$

onde M_t é a massa do hidrogel em um tempo t, M_∞ é a massa do hidrogel no equilíbrio, t é o tempo, k é a constante cinética e n o expoente de intumescimento.

Resultados e discussão

O tamanho médio de poros calculado para o hidrogel constituído somente por cadeias de PAAm reticuladas (Figura 1a) foi 90 (± 20) μm. Observa-se ainda que o hidrogel é extremamente poroso possuindo formas bem definidas, mas com uma distribuição de tamanho de poros. O tamanho médio de poros calculado para hidrogéis de PAAm com 0,5 % de MC (Figura 1b) foi 142 (± 26) μm. Com a inserção de MC nas cadeias de PAAm, observa-se um significativo aumento no tamanho médio de poros e também percebe-se que a distribuição dos mesmos torna-se bastante irregular com formato foliáceo. Hidrogéis sintetizados com maior quantidade de MC (1,0 %), Figura 1c, apresentam estruturas bastante foliáceas heterogeneamente distribuídas. Por essa razão, não foi possível estimar com precisão o tamanho médio dos poros para esse hidrogel utilizando a técnica de MEV. No entanto, é bastante visível o aumento no tamanho médio dos

poros e também a perda do formato e distribuição características do hidrogel de PAAm, mostrado na Figura 1a.

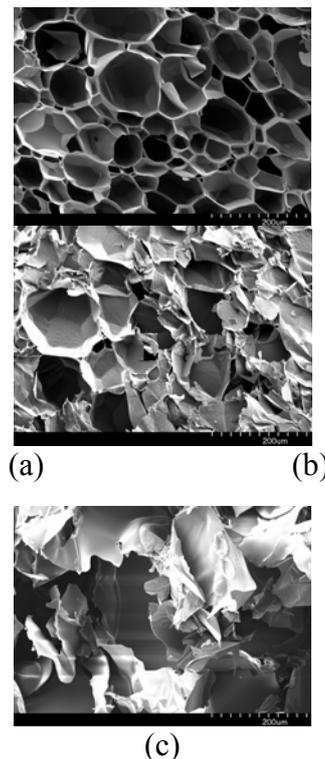


Figura 1: Micrografia, obtidas por MEV, dos hidrogéis sintetizados: (a) PAAm; PAAm com (b) 0,5 % e (c) 1,0 % de MC, liofilizados após intumescimento a 25,0 °C. Todas as micrografias possuem ampliação de 200 x. As barras nas Figuras corresponde a 200 μm.

Os valores de grau de intumescimento para hidrogéis sintetizados em função da concentração de AAm para os diferentes hidrogéis estudados mostrados na Figura 2. Para hidrogéis constituídos apenas de PAAm, os valores de Q obtidos foram de: 35,4; 21,2; 14,7 e 12,2, para as concentrações de AAm iguais a 3,6; 7,2; 14,7 e 21,7 % (m/v), respectivamente. Para hidrogéis de PAAm com 0,5 % (m/v) de MC, os valores de Q obtidos foram de: 64,7; 27,0; 17,1 e 13,1. Os hidrogéis de PAAm com 1,0 % de MC apresentaram valores de Q iguais a 91,6; 37,8; 18,5; 14,3, para as respectivas concentrações de AAm citadas acima. Pode-se observar que Q diminui abruptamente com o aumento da concentração de AAm. A diminuição de Q pode ser explicada pelo aumento na rigidez das cadeias poliméricas e conseqüentemente uma menor capacidade volumétrica de absorção de água. Observa-se ainda, para uma dada concentração de AAm, que Q aumenta com o aumento da concentração de MC. Isso é atribuído ao aumento da

hidrofilicidade do hidrogel ocasionado pela incorporação de grupamentos hidroxila proveniente da MC. Um outro aspecto que também contribui para o aumento do grau de intumescimento é que a presença de MC aumenta o tamanho médio de poros, como observado nas micrografias obtidas por MEV, permitindo a entrada de maiores quantidades de água. Nessas condições as cadeias poliméricas formadoras dos hidrogéis são mais elásticas permitindo que um maior volume de água seja difundido para dentro dos hidrogéis, comportamento que é facilitado pela grande quantidade de grupamentos hidroxilas presentes nas cadeias do polímero MC. A estrutura foliácea observada nas morfologias de hidrogéis com MC é resultante da mobilidade das cadeias de MC no interior do hidrogel que podem se associar formando tal estrutura, possivelmente por interações específicas entre grupos presentes na MC (ligações de hidrogênio e forças de van der Waals).

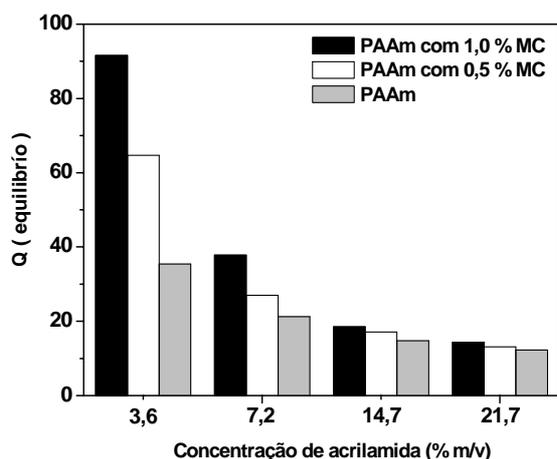


Figura 2: Dependência dos valores de Q (equilíbrio) em função da concentração de acrilamida para hidrogéis de PAAm e hidrogéis com 0,5 e 1,0 % (m/v) em água destilada, com temperatura controlada de 25,0 °C.

Para hidrogéis com formato cilíndrico, o expoente de intumescimento (n) = 0,45-0,50 corresponde à difusão Fickiana, n diferente desses valores indica que a difusão é do tipo não Fickiana. Sendo que para $0,5 < n < 1,0$ ocorre difusão da água por transporte anômalo e $n = 1,0$ ocorre difusão por relaxamento das redes dos hidrogéis. No caso de transporte anômalo, o processo de difusão é governado tanto pela difusão como pela relaxação das cadeias do hidrogel ⁷. Pelas análises dos

parâmetros cinéticos dos hidrogéis pode-se observar que para altas concentrações de AAm, a difusão da água para o interior dos hidrogéis segue o modelo de difusão Fickiana. Isso pode ser explicado pelo baixo grau de intumescimento (elevada densidade de reticulação das cadeias de AAm). Já em baixas concentrações de AAm, o modelo que melhor representa o processo difusional da água é o modelo de transporte anômalo. Pode-se perceber ainda que o aumento da concentração de AAm provoca diminuição significativas nos valores de k , mostrando forte proporcionalidade entre k e concentração de AAm.

Conclusões

Foi possível obter, hidrogéis a partir da polimerização/reticulação de acrilamida em solução contendo o polissacarídeo biodegradável metilcelulose em diferentes combinações.

Os resultados de grau de intumescimento demonstraram que é possível obter hidrogéis com variada faixa de Q .

A presença de metilcelulose deixa a matriz polimérica mais hidrofílica e aumenta o tamanho de poros o que conduz a maiores graus de intumescimento.

A alta hidrofilicidade e o controle dessa propriedade indicam que esses novos hidrogéis são potencialmente viáveis para aplicação em sistemas carreadores para liberação controlada e/ou prolongada de espécies agroquímicas.

Referências

- 1 PEPPAS, N.A. **Hydrogels in medicine and pharmacy, properties and applications**. CRC Press, New York, 1987.
- 2 HOFFMAN, A.S. **Adv. Drug. Deliv. Rev.**, [S.l.], v. 43, p. 3-12, 2002.
- 3 KENAWY, E.R.; SAKRAN, M.A. **Ind. Eng. Chem. Res.**, [S.l.], v.35, p.3726-3729, 1996.
- 4 BAJPAI, A.K., GIRI, A. **React. Funct. Polym.**, [S.l.], v. 53, p. 125-141, 2002.
- 5 ALEMZADEH, I.; VOSSOUGH, M. **Chem. Eng. Process**, [S.l.], v.41, p.707-710, 2002.
- 6 BAJPAI, A.K.; GIRI, A. **Carbohydr. Polym.**, [S.l.], v.53, p.271-279,2003.
- 7 RITGER, P.L.; PEPPAS, N.A. **J. Controlled Release**, [S.l.], v.5, p.37-42, 1987



NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA PARA APLICAÇÃO NA SÍNTESE DE FILMES UTILIZADOS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS.

Márcia Regina de Moura^{1,2}, Fauze Ahmad Aouada^{1,2}, Luiz Henrique Capparelli Mattoso^{2*}

¹Depto. de Química - UFSCar, 13560-905, São Carlos/SP, Brazil

²Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP, Brazil, * mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC4 **Plano de Ação:** 01.05.1.01.04.04

Resumo

Quitosana é bastante estudada recentemente devido a suas aplicações na área alimentícia e farmacêutica. Nanopartículas de quitosana foram preparadas por polimerização do ácido metacrílico em solução de quitosana. As nanopartículas foram estudadas por análises de FT-IR, calorimetria diferencial de varredura, microscopia eletrônica de varredura, além da determinação do tamanho das partículas. Resultados mostraram que ocorreu a formação de partículas, que essas estão distribuídas homogeneamente e que a quantidade de quitosana na síntese influencia na estabilidade das partículas formadas.

Palavras-chave: (nanopartículas, quitosana, alimentos)

Introdução

A nanotecnologia tem sido muito estudada na indústria de embalagens, como veículo no desenvolvimento de novas embalagens para proteção de alimentos¹⁻².

A quitosana é um polímero natural derivado do processo de desacetilação da quitina, considerado o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, atrás apenas da celulose. Na agricultura está sendo bem explorada devido características de ser um material biodegradável e atóxico³. Alguns desafios que enfrentam a indústria de alimentos na produção de embalagens e que devem ser melhorados são: barreira de água (controle da perda de vapor de água) impedindo a deterioração; propriedades mecânicas das películas; e em relação ao aspecto ambiental, a utilização de materiais biodegradáveis na síntese das nanopartículas que serão adicionadas nos filmes de revestimentos, diminuindo o impacto ambiental causado pela lenta decomposição das embalagens convencionais⁴. E são esses problemas, que tentaremos melhorar com o auxílio da nanotecnologia. O início do trabalho é

estudar a síntese e características das nanopartículas de quitosana.

Materiais e métodos

As nanopartículas foram preparadas por polimerização do ácido metacrílico em solução de quitosana, a partir de duas etapas. Na primeira etapa, a quitosana foi solubilizada em solução de ácido metacrílico por 12 horas, sob agitação magnética. A concentração de quitosana utilizada na síntese foi de 0,2, 0,5 e 0,8 (% m/v). Na segunda etapa, adicionou-se sob a solução solubilizada uma solução de $K_2S_2O_8$ com agitação mecânica. O sistema foi fechado e mantido a 70,0 °C por 1 hora. Com o aumento na solução de ácido polimetacrílico, essa muda de clara para uma suspensão opalescente, indicando a formação de nanopartículas QS-PMMA. Finalmente, após a 1 hora de reação, a suspensão foi imersa em banho de gelo.

O tamanho médio das partículas foi analisado em um Fiber Optic Quasi Elastic Light Scattering (FOQELS) (Brookhaven, USA). As medidas foram realizadas em triplicata à 25 °C.

Para análises de FT-IR, as nanopartículas sintetizadas, foram centrifugadas e liofilizadas, para só depois serem misturadas com brometo de potássio (KBr) e prensadas em alta pressão, formando pastilhas. Espectros FTIR foram obtidos registrando 128 varreduras de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} , em um Perkin Elmer Spectrum, modelo Paragon 1000. As análises de FTIR foram realizadas na quitosana pura e nas NPs com diferentes quantidades de QS. As análises de FTIR foram importantes para analisar o mecanismo pelo quais as NPs são formadas.

Análises de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) foram obtidos por um DSC-Q100 (TA Instruments), usando um porta amostra padrão de alumínio selado. As análises foram feitas em atmosfera de Nitrogênio, a um fluxo de 50 ml/min, na faixa de temperatura de 20 a 450 $^{\circ}\text{C}$, com taxa de aquecimento de 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

As partículas foram caracterizadas quanto à morfologia, através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Uma gota da suspensão foi depositada em um porta amostra e deixada evaporar a temperatura ambiente, em seguida recoberta com ouro utilizando um sputter coater (Denton Vacuum Inc. Moorestown, N.J., U.S.A.). As análises foram realizadas no equipamento Hitachi S-4700.

Resultados e discussão

A quitosana é um polímero que apresenta a característica de um polieletrólito positivo quando em solução. Essa característica faz com que a quitosana apresente interação eletrostática com o ácido, o que provoca a formação das nanopartículas, a partir, da polimerização do ácido na solução.

A fim de estudar a interação existente entre o grupamento amina da QS e o grupamento ácido do PMAA, foram realizadas as análises de FTIR. O espectro de FTIR pode ser observado na Fig. 1 e foi realizado nas nanopartículas contendo 0,2, 0,5 e 0,8 % (m/v) de quitosana e na quitosana pura. O espectro da quitosana pura (Fig. 1a) apresenta picos característicos: 3435 cm^{-1} correspondente ao estiramento do NH_2 e grupo OH; 1649 cm^{-1} pico da amina I; 1083 – 1020 cm^{-1} devido ao estiramento do C-O e 620 cm^{-1} devido as vibrações dos anéis piranosídicos. Na Fig.1b, observamos que a banda em 1649 cm^{-1} , que aparece claramente no espectro da quitosana pura desaparece, surgindo duas novas bandas em 1638 cm^{-1} (grupo COO^-) e 1545 cm^{-1}

(grupo NH_3^+), indicando a interação entre PMAA e QS, caracterizando a formação de nanopartículas. As bandas em 1703 e 1264 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$) mostram a presença de PMAA nas nanopartículas. O aumento da quantidade de quitosana nas NPs (2b-d) provoca uma mudança química significativa, pois bandas em 1703 e 1264 cm^{-1} decrescem drasticamente, com aumento concomitante das bandas em 1638 cm^{-1} e 1545 cm^{-1} .

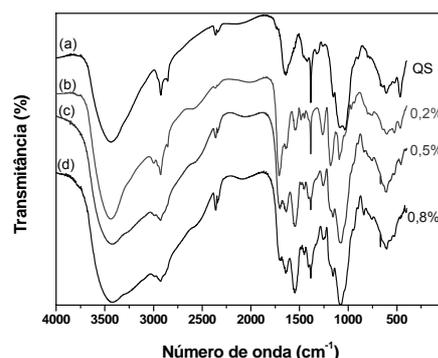


Figura 1: Espectro de FTIR da quitosana (1a) e nanopartículas (1b-d).

Um fator interessante é que o tamanho das NPs sintetizadas vão depender da quantidade de material utilizada na síntese, ou seja, da razão entre a quitosana e o ácido poli(metacrílico). Ou seja, se uma certa aplicação necessitar de nanopartículas com tamanhos maiores é possível a síntese, assim como, se ocorrer a necessidade de NPs com tamanhos menores.

Tabela 1: Valores de tamanho médio para as diferentes NPs de quitosana em pH = 4,0.

Nanopartícula	Tamanho médio (nm)
0,2% m/v de QS	111,3±4,23
0,5% m/v de QS	82,0±2,36
0,8% m/v de QS	59,5±3,68

A estabilidade das nanopartículas foi investigada através de medidas termo-calorimétricas. Na Fig. 2 é apresentada os termogramas de DSC para QS pura e nanopartículas com as diferentes quantidades de QS.

O DSC referente à amostra de quitosana pura apresenta dois picos. O primeiro, endotérmico em 123 $^{\circ}\text{C}$, correspondente ao processo de desidratação, cuja área depende do histórico de secagem da amostra e o segundo, exotérmico em

295 °C, corresponde ao processo de decomposição. Os demais termogramas de DSC são referentes às amostras de nanopartículas. Nesses termogramas percebemos uma variação no valor do pico referente ao processo de desidratação, com o aumento na quantidade de quitosana. As nanopartículas sintetizadas a partir de solução contendo 0,2% (m/v) de QS, apresentaram pico endotérmico de desidratação em 98 °C. A medida que é aumentada a concentração de quitosana é observado um deslocamento nos valores dos picos de desidratação: para 0,5% (m/v) em 107 °C e 0,8% (m/v) em 117 °C. Assim com o aumento de QS na síntese das NPs ocorre um deslocamento dos valores do pico de desidratação em direção aos valores apresentados para QS pura. Na literatura (5) é reportado que picos na região de 180 a 290 °C são atribuídos a quebra da interação entre grupamentos NH_3^+ da QS e COO^- do ácido.

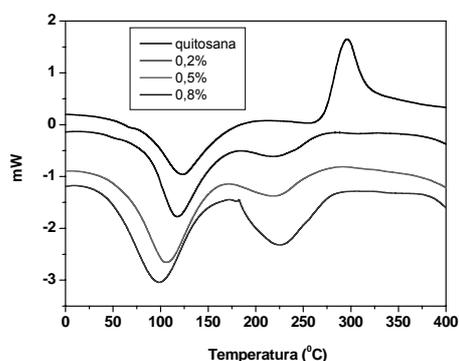


Figura 2: Termogramas referentes a quitosana e nanopartículas.

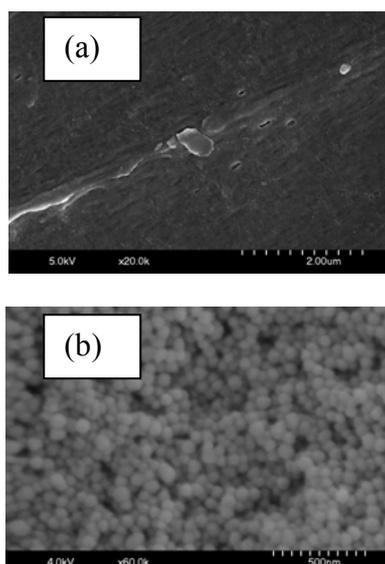


Figura 3: Micrografias de solução de quitosana (a) e de solução de nanopartículas 0,2 % (m/v).

Na Fig. 3 são apresentadas as micrografias eletrônicas de varredura de uma solução de quitosana(a) e das nanopartículas de quitosana sintetizadas com 0,2 % (m/v) (b). As micrografias confirmam o tamanho nanométrico das NPs.

Com as imagens de MEV podemos observar que ocorre com sucesso a formação das nanopartículas. O tamanho é diferente do observado na análises feitas por Fiber Optic Quasi Elastic Light Scattering (FOQELS). Pois, com a evaporação da água presente na nanopartículas, essas contraem e apresentam um tamanho menor do analisado em solução.

Conclusões

Foi possível obter, nanopartículas a partir da solução contendo o polissacarídeo biodegradável quitosana e PMAA.

Análises de espectroscopia FT-IR indicaram a presença de sinais atribuídos a grupos da quitosana e de PMAA o que comprova a síntese. As medidas de tamanho médio mostraram-se bastante significativas, uma vez que concluíram a existência de partículas nanométricas no nosso sistema.

A partir dos resultados de DSC, nas diferentes condições estudadas, obteve-se alguns parâmetros interessantes, da dependência da quantidade de quitosana na síntese com a maior estabilidade das NPs. Maior quantidade de quitosana resulta em NPs com menor estabilidade.

Análises de MEV mostraram que a forma das nanopartículas é bem esférica, que essas estão homoganeamente distribuídas e apresentam tamanho nanométrico.

Referências

- 1 NORDQVIST, D.; IDERMARK, J.; HEDENQVIST, M. S. **Biomacromolecules**, [S.l.], v.8, p.2398, 2007.
- 2 WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, J. **Journal of Food Science**, [S.l.], v.71, p.107, 2006.
- 3 MOLLER, H.; GRELLIER, S.; PARDON, P.; COMA, V. **Journal Agriculture Food Chemistry**, [S.l.], v.21, p.6585, 2004.
- 4 DOGAN, N.; MCHUGH, T. H. **Journal of Food Science**, [S.l.], v.16, p.72, 2007.
- 5 BORGES, O.; BORCHARD, G.; VERHOEF, J. C.; SOUSA, A.; JUNGINGER, H. E. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.l.], v.299, p.155, 2005.